

UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

División Académica de Ciencias de la Salud



“Asociación entre ADN mitocondrial y déficit cognitivo en pacientes tabasqueños con esquizofrenia”

Tesis que para obtener el grado de la:

Maestría en Ciencias Biomédicas

Presenta:

Dulce Dajheanne García de la Cruz

Directoras:

Dra. Isela Esther Juárez Rojop

Dra. Alma Delia Genis Mendoza

Villahermosa, Tabasco

octubre 2020.



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División
Académica
de Ciencias de
la Salud

Jefatura del
Área de Estudios
de Posgrado



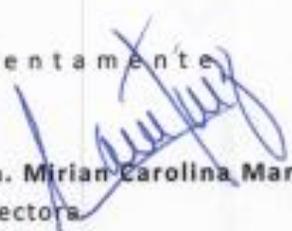
Of. No. 0287/DACS/JAEP
09 de marzo de 2020

ASUNTO: Autorización impresión de tesis

C. Dulce Dajheanne García de la Cruz
Maestría en Ciencias Biomédicas
Presente

Comunico a Usted, que ha sido autorizada por el Comité Sinodal, integrado por los profesores investigadores Dr. Jorge Luis Ble Castillo, M. en C. Thelma Beatriz González Castro, Dr. Carlos Alfonso Tovilla Zárate, Dr. Xavier Miguel Boldo León y la Dra. Isela Esther Juárez Rojop, impresión de la tesis titulada: "Asociación entre ADN mitocondrial y déficit cognitivo en pacientes tabasqueños con esquizofrenia", para sustento de su trabajo recepcional de la Maestría en Ciencias Biomédicas, donde fungen como Directores de Tesis la Dra. Isela Esther Juárez Rojop y la Dra. Alma Delia Genis Mendoza.

Atentamente


Dra. Mirian Carolina Martínez López
Directora



C.c.p.- Dra. Isela Esther Juárez Rojop.- Director de Tesis
C.c.p.- Dra. Alma Delia Genis Mendoza.- Director de Tesis
C.c.p.- Dr. Jorge Luis Ble Castillo.- Sinodal
C.c.p.- M. en C. Thelma Beatriz González Castro.- Sinodal
C.c.p.- Dr. Carlos Alfonso Tovilla Zárate.- Sinodal
C.c.p.- Dr. Xavier Miguel Boldo León.- Sinodal
C.c.p.- Dra. Isela Esther Juárez Rojop.- Sinodal

C.c.p.- Archivo
DC/MCA/MO/MACA/lrd*

Miembro CUMEX Anulo 2010
Comisión de
Universidades
Mexicanas

Av. Cnel. Gregorio Méndez Magaña, No. 338-A,
Col. Tzumúte de las Yacatas,
C.P. 86150, Villahermosa, Centro, Tabasco
Tel.: (993) 3581500 Ext. 6314, e-mail: posgrado.dacs@ujat.mx



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE*



División
Académica
de Ciencias de
la Salud

Jefatura del
Área de Estudios
de Posgrado



ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la ciudad de Villahermosa Tabasco, siendo las 18:00 horas del día 05 del mes de marzo de 2020 se reunieron los miembros del Comité Sinodal (Art. 71 Núm. III Reglamento General de Estudios de Posgrado vigente) de la División Académica de Ciencias de la Salud para examinar la tesis de grado titulada:

"Asociación entre ADN mitocondrial y déficit cognitivo en pacientes tabasqueños con esquizofrenia"

Presentada por el alumno (a):

García de la Cruz Dulce Dajheanne
Apellido Paterno Materno Nombre (s)

Con Matricula

1	8	1	E	5	7	0	0	1
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Aspirante al Grado de:

Maestra en Ciencias Biomédicas

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACIÓN DE LA TESIS** en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

COMITE SINODAL


Dra. Isela Esther Juárez Rojop
Directora de Tesis


Dr. Jorge Luis Ble Castillo


M.en C. Thelma Beatriz González Castro


Dr. Carlos Alfonso Tovilla Zárate


Dr. Xavier Miguel Baldo León


Dra. Isela Esther Juárez Rojop



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE



División
Académica
de Ciencias de
la Salud

Dirección



Carta de Cesión de Derechos

En la ciudad de Villahermosa Tabasco el día 25 del mes de febrero del año 2020, el que suscribe, **C. Dulce Dajheanne García de la Cruz**, alumna del programa de la **Maestría en Ciencias Biomédicas**, con número de matrícula **181E57001** adscrita a la División Académica de Ciencias de la Salud, manifiesta que es autora intelectual del trabajo de tesis titulada: **"Asociación entre ADN mitocondrial y déficit cognitivo en pacientes tabasqueños con esquizofrenia"**, bajo la Dirección de la **Dra. Isela Esther Juárez Rojop** y la **Dra. Alma Delia Genis Mendoza**, conforme al Reglamento del Sistema Bibliotecario Capítulo VI Artículo 31. La alumna cede los derechos del trabajo a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficos o datos del trabajo sin permiso expreso del autor y/o director del trabajo, el que puede ser obtenido a la dirección: g_daian@hotmail.com. Si el permiso se otorga el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Dulce Dajheanne García de la Cruz

Nombre y Firma

DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS DE LA SALUD



JEFATURA DEL ÁREA DE
ESTUDIOS DE POSGRADO

Sello



Dedicatorias

A mi familia, con todo mi amor.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.



Agradecimientos

A Dios

Por bendecirme y sostenerme día a día, trazarme un destino lleno de dicha y permitirme escalar un peldaño más en mi formación profesional con gran satisfacción.

A mi hija

Por regalarme la dicha de ser su madre y mover mi mundo. Por ser mi principal motivación para ser mejor persona cada día.

A Daniel

Por apoyarme incondicionalmente, motivarme y demostrarme su amor y cariño todos los días. Por ayudarme a no perder la calma y ser mi compañero de vida.

A mi madre

Por la huella que ha dejado en mi vida y cuidarme desde el cielo.

A mi abuela

Por criarme, cuidarme y guiarme toda la vida. Por mantener mis pies sobre la tierra y enseñarme a no rendirme y cumplir mis sueños.

A mi hermana

Porque desde muy pequeña ha iluminado nuestro hogar y nos ha motivado a seguir unidos aún en los días más tristes.

A Fausto

Por cuidarme y consentirme como un abuelo, además de vigilar el bienestar de mi abuela y mi hermana todos los días con tanta devoción.



A mis maestros

Dra. Isela, Dra. Alma y Dr. Carlos, por ser dignos ejemplos a seguir y compartir sus conocimientos, no solo en el ámbito profesional sino personal.

Al CONACYT

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.



Abreviaturas y siglas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNmt	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
DAMP	Patrón molecular asociado a daño (por sus siglas en inglés, <i>Damage- Associated Molecular Pattern</i>)
PRR	Receptor de reconocimiento de patrones (por sus siglas en inglés, <i>Pattern Recognition Receptor</i>)
DSM-5	Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales- 5 (por sus siglas en inglés, <i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i>)
MoCA	Escala Cognitiva de Montreal (por sus siglas en inglés, <i>Montreal Cognitive Assessment</i>)
PANSS	Escala de síndromes positivo y negativo (por sus siglas en inglés, <i>Positive and Negative Syndrome Scale</i>)



Glosario

Axogénesis: Proceso biológico en el cual se lleva a cabo la formación de nuevos axones en el sistema nervioso central y periférico.

ADN extracelular: Ácidos nucleicos (ADN y/o ARN) de origen nuclear o mitocondrial presentes en diferentes medios fisiológicos: sangre, linfa, leche, saliva o líquido cefalorraquídeo. Términos como ADN libre o ADN libre de células, son algunos sinónimos.

ADN libre circulante: término reservado para moléculas de ADN extracelular presentes en plasma, suero o linfa.

Citocina: Proteínas que funcionan como mensajeras intercelulares y reguladoras de múltiples funciones celulares. Pueden inducir la activación de receptores específicos de membrana, funciones de proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, crecimiento y modulación de la secreción de inmunoglobulinas.

Estrés oxidativo: desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno y la capacidad del organismo para decodificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante.

Mitocondria: organelo celular encargado de suministrar la mayor parte de la energía necesaria para la actividad celular (respiración celular). Sintetiza ATP a expensas de macromoléculas (glucosa, ácidos grasos y aminoácidos). Se



conforma por una membrana exterior permeable a iones, metabolitos y muchos polipéptidos.

Neurodegeneración: pérdida neuronal progresiva que puede deberse a múltiples causas que culminen en muerte celular o apoptosis.

.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.



Resumen

Antecedentes. La esquizofrenia es un trastorno psiquiátrico y neurodegenerativo, que afecta la conducta, el pensamiento y la cognición. La mitocondria, es vital para procesos como la axogénesis, neurogénesis y neurotransmisión. Sin embargo, la disfunción mitocondrial provoca estrés oxidativo y la consecuente acumulación de mutaciones en el ADN mitocondrial (ADNmt). Se asume que diversos estresores provocan la muerte y lisis celular, permitiendo la salida de ADNmt al medio externo. Tras ser liberado, el ADNmt es capaz de promover respuestas apoptóticas e inmuno-inflamatorias. Existen estudios previos que asocian las alteraciones del ADNmt con enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson). Sin embargo, el rol del ADNmt circulante en plasma de pacientes con esquizofrenia no se ha estudiado en profundidad. Por lo tanto, consideramos que este podría estar asociado a los cambios estructurales y bioquímicos en el SNC causantes de los síntomas cognitivos de los pacientes con esquizofrenia.

Material y métodos. La muestra total se conformó por 95 individuos (56 casos y 39 controles). Los pacientes fueron agrupados de acuerdo a la severidad de los síntomas (PANSS) en intensidad leve, moderada y marcada. Asimismo, los casos fueron reagrupados de acuerdo a lo puntajes de MoCA en déficit leve, moderado y severo. Se realizaron correlaciones de Spearman para evaluar la relación entre la concentración de ADNmt y los puntajes de MoCA. El valor de $p < 0.05$ fue considerado significativo.

Resultados. El ADNmt circulante en plasma fue identificado en 39 pacientes con esquizofrenia y 3 sujetos del grupo control ($P < 0.0001$). En los pacientes, los puntajes de MoCA fueron significativamente menores en comparación con el grupo control (15.5 vs 26; $P < 0.0001$). Sin embargo, no se encontró asociación entre el ADNmt circulante en plasma y el déficit cognitivo.

Conclusiones. Este es el primer estudio en analizar la asociación del ADNmt plasmático con el déficit cognitivo de pacientes con esquizofrenia en población tabasqueña. Nuestros resultados sugieren que el ADNmt no está asociado al déficit cognitivo o alguna otra característica clínica de los pacientes con esquizofrenia incluidos en este estudio. Se requiere de estudios prospectivos con muestras más grandes que permitan explorar otras variables clínicas y su asociación al ADNmt.

Palabras claves: déficit cognitivo, ADN mitocondrial, neurodegeneración.



Abstract

Background. Schizophrenia is a psychiatric disease with a neurodegenerative course. Symptoms affect behavior, perception and cognition. The mitochondrion is vital for processes such as axogenesis, neurogenesis and neurotransmission. Thus, mitochondrial dysfunction leads to oxidative distress, and accumulation of mutations in mitochondrial DNA (mtDNA). It is well known that diverse stressors may cause cell death and lysis, leading to the mtDNA release into the extracellular medium. Here, the mtDNA promote several apoptotic and immunological responses. Growing evidence link mtDNA alterations with neurodegenerative diseases such as Alzheimer and Parkinson disease. However, the role of mtDNA in the pathogenesis of cognitive deficits in schizophrenia has not been completely studied yet. Therefore, we consider that mtDNA could be associated with the CNS biochemical and structural changes causing cognitive impairment in schizophrenia.

Methods. The total sample consisted of 95 individuals (56 cases and 39 controls). Cases were grouped according to the severity of symptoms (PANSS) in mild, moderate and marked intensity. Also, the cases were regrouped according to MoCA scores in mild and severe deficits. Spearman correlations were made in order to assess the relationship between mtDNA concentration and MoCA scores. The significant p value was set at <0.05 .

Results. Circulating cell free mitochondrial DNA was identified in plasma of 39 cases with schizophrenia and 3 health subjects of the control group ($P < 0.0001$). MoCA scores were significantly lower in cases compared to the control group (15.5 vs. 26; $P < 0.0001$). No association was found between mtDNA and cognitive deficit.

Conclusions. This is the first study to analyze the association of plasma mtDNA with cognitive impairment of patients with schizophrenia in Mexican population. Our findings suggest that circulating cell free mtDNA identified in plasma of individuals with schizophrenia is not related to cognitive deficits or any clinical characteristic. Longitudinal studies in larger samples are needed, in order to explore possible changes in mtDNA levels at the different stages of the illness.

Keywords: cognitive deficit, mitochondrial DNA, neurodegeneration.



Índice

1. Introducción	1
1.1. Esquizofrenia.....	1
1.2. Deterioro cognitivo en esquizofrenia	2
1.3. Mitocondria	4
1.4. ADN mitocondrial.....	5
1.5. ADN mitocondrial libre	7
1.6. El ADN mitocondrial y respuestas inmuno-inflamatorias	10
1.7. ADN mitocondrial y los síntomas cognitivos de la esquizofrenia.....	11
2. Planteamiento del problema	14
2.1. Pregunta de investigación.....	14
3. Justificación	15
4. Objetivos	16
4.1. Objetivo General.....	16
4.2. Objetivos particulares	16
5. Material y métodos	17
5.1. Diseño del estudio.....	17
5.2. Muestra	17
5.3. Criterios de inclusión.....	17
5.4. Criterios de exclusión.....	18
5.5. Instrumentos y medidas	18
5.6. Obtención de muestras biológicas.....	19
5.7. Análisis estadístico.....	21
5.8. Declaración ética	22
6. Resultados	23
6.1. Características sociodemográficas de la muestra.....	23
6.2. Características clínicas de la muestra.....	24
6.3. Características clínicas de los casos	24
6.4. Estatus cognitivo de los casos	27
6.5. Diferencias entre concentraciones de ADNmt libre en plasma.....	28
7. Discusión	32



8. Conclusión	39
9. Referencias	40
10. Anexos	47

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.



Índice de tablas

Tabla 1	Características sociodemográficas de la muestra.....	23
Tabla 2	Características clínicas de la muestra.....	25
Tabla 3	Características clínicas de pacientes con déficit cognitivo leve, moderado y severo, de acuerdo a MoCA	28
Tabla 4	Diferencias clínicas de pacientes agrupados acuerdo a la intensidad de los síntomas (PANSS)	29

Índice de figuras

Figura 1.	Rol del ADN mitocondrial en la patogénesis del deterioro cognitivo en esquizofrenia.....	13
Figura 2.	Diferencias de puntajes totales de la escala MoCA (medianas y rangos intercuartílicos).....	26
Figura 3.	Correlaciones de puntajes totales de MoCA y edad.....	27
Figura 4.	Correlaciones de puntajes totales de MoCA y subescalas de PANSS.....	30
Figura 5.	Diferencias cuantitativas y cualitativas de ADNmt en la muestra.....	31



1. Introducción

1.1. Esquizofrenia

La esquizofrenia es una enfermedad psiquiátrica, incapacitante, crónica y altamente heredable que afecta al 1% de la población mundial ([Owen, Sawa, y Mortensen, 2016](#)). Es una enfermedad multifactorial, en la que se involucran tanto factores ambientales como genéticos y biológicos. Entre estos se incluyen la inflamación, el estrés, algunas alteraciones metabólicas, las complicaciones pre y perinatales, edad paterna avanzada, abuso de sustancias y antecedentes de abuso físico o sexual ([Chen, Selvendra, Stewart, y Castle, 2018](#); [Fjukstad et al., 2018](#); [Fountoulakis et al., 2018](#); [Pugliese et al., 2019](#)). Por otro lado, la esquizofrenia se manifiesta con síntomas positivos, negativos y cognitivos. Sin embargo, estos últimos tienen un gran alcance, ya que afectan la funcionalidad social, académica y laboral de los pacientes ([Strassnig et al., 2015](#)).

Los síntomas positivos se definen como un exceso o distorsión de las funciones normales, ejemplos de estos son las ideas delirantes, distorsiones exageradas del pensamiento inferencial, lenguaje desorganizado, alucinaciones de predominio auditivo, así como conducta bizarra. Estos síntomas han definido a la esquizofrenia durante décadas. Sin embargo, esta enfermedad puede presentarse con muchos matices que van desde alteraciones en la conducta, juicio, pensamiento, percepción y estado afectivo, hasta alteraciones cognitivas que en conjunto desestructuran la personalidad del sujeto ([Choo, Chew, Ho, y Ho, 2017](#); [Kaskie, Graziano, y Ferrarelli, 2017](#); [Loch, 2019](#)). Los síntomas negativos son



aquellos que reflejan disminución o pérdida de funciones normales, intensidad de la expresión emocional (aplanamiento afectivo), pérdida de la voluntad (abulia), anhedonia ([Kaskie et al., 2017](#)). Por otro lado, los síntomas cognitivos están presentes en más del 80% de los pacientes e influyen desfavorablemente en diferentes áreas de vida de quien las padece ([Jahshan, Heaton, Golshan, y Cadenhead, 2010](#)).

1.2. Deterioro cognitivo en esquizofrenia

El deterioro cognitivo se define como la pérdida de funciones cognitivas, específicamente memoria, atención y velocidad de procesamiento de la información. Este ha sido descrito desde 1919, cuando Kraepelin se refiere a la esquizofrenia como “*dementia praecox*” ([Seidman y Mirsky, 2017](#)). Sin embargo, es en los últimos años que el estudio de los síntomas cognitivos ha cobrado mayor importancia, esto debido a sus implicaciones negativas sobre el pronóstico de la enfermedad y la funcionalidad social, académica y laboral de los pacientes ([Mantovani, Teixeira, y Salgado, 2015](#)). El alcance de los síntomas cognitivos en la esquizofrenia es muy amplio, observándose alteraciones en áreas como la abstracción, memoria de trabajo, atención, lenguaje, función ejecutiva y motora, percepción, y la inteligencia general ([Albus et al., 2006](#); [Hasson-Ohayon, Goldzweig, Lavi-Rotenberg, Luther, y Lysaker, 2018](#); [Zanello, Curtis, Badan Ba, y Merlo, 2009](#)). Estas alteraciones están asociadas a cambios estructurales y bioquímicos en el sistema nervioso central (SNC). Los procesos cognitivos dependen de la correcta conexión entre diferentes estructuras cerebrales, en relación a esto, algunos estudios de neuroimagen funcional han



demostrado un estado de bajo flujo sanguíneo y bajo requerimiento de glucosa en regiones como la corteza prefrontal, el cíngulo anterior, núcleos subcorticales y cerebelo de pacientes con esquizofrenia, el cual empeora tras ejecutar tareas específicas (memoria de trabajo) ([Caletti et al., 2017](#); [Grassi et al., 2017](#)). Asimismo, se ha reportado deterioro global con cambios en organización y conectividad neuronal con pérdida de volumen a nivel de corteza prefrontal, giro temporal superior, hipocampo y amígdala ([Birur, Kraguljac, Shelton, y Lahti, 2017](#); [Shon et al., 2018](#)). Por otro lado, se ha propuesto que las alteraciones de los neurotransmisores, glutamato y GABA ([Brisch et al., 2014](#)), así como algunos mecanismos inmunológicos y neuroinflamatorios, explican parte de los síntomas cognitivos de la esquizofrenia.

El curso natural de los síntomas cognitivos comienza en la infancia y antecede la aparición primer episodio psicótico ([Jahshan et al., 2010](#); [Morin y Franck, 2017](#); [Strassnig et al., 2015](#)). Se considera que 45% de estos pacientes manifiestan alteraciones cognitivas desde los 7 años de edad, siendo mayor el declive cognitivo en los primeros 3-5 años de la enfermedad. Se estima que una vez que se manifiestan afecciones cognitivas, 20-35% de estos sujetos progresarán a psicosis ([Seidman y Mirsky, 2017](#)). Una revisión sistemática de estudios realizados entre 1921 y 2011 demostró que el promedio de recuperación de pacientes con esquizofrenia es menor del 15% ([Charlson et al., 2018](#)). Aunque se sabe que existen alteraciones cognitivas en otras enfermedades psiquiátricas, los síntomas cognitivos son más marcados en los pacientes con esquizofrenia ([Carbon y Correll, 2014](#)). Así, la manifestación de los síntomas cognitivos en



edades muy tempranas impiden el adecuado desarrollo de las capacidades funcionales y sociales de quien padece esta enfermedad ([Choo et al., 2017](#)).

Por otro lado, a pesar de la información que existe actualmente acerca de los síntomas cognitivos, se desconoce la causa y el tratamiento antipsicótico existente solo reduce los síntomas positivos. Sin embargo, en estudios *post mortem* se han observado alteraciones de la estructura y función mitocondrial de individuos con esquizofrenia, esto sugiere que la disfunción mitocondrial está involucrada en la patogénesis de la esquizofrenia ([Rajasekaran, Venkatasubramanian, Berk, y Debnath, 2015](#)).

1.3. Mitocondria

La mitocondria es un organelo intracelular de doble membrana que se encuentra alojada en el citoplasma de las células eucariotas, excepto en los eritrocitos. Fue descrita por primera vez entre 1800-1880, por el botánico suizo Kölliker ([Petschner et al., 2018](#)). La mitocondria participa en procesos vitales como el ciclo de Krebs y B-oxidación, también se le atribuyen: la generación de energía (ATP) por medio de la cadena de transporte de electrones, homeostasis del calcio, apoptosis, producción y regulación de especies reactivas de oxígeno ([Naoi, Wu, Shamoto-Nagai, y Maruyama, 2019](#); [Petschner et al., 2018](#)). La cantidad y localización de las mitocondrias en cada célula varía en relación a las necesidades energéticas de cada tejido celular.

El sistema nervioso central (SNC) depende en gran medida del correcto funcionamiento mitocondrial para suplir sus altos requerimientos energéticos y llevar a cabo los procesos de neurotransmisión, plasticidad, neurogénesis y



axogénesis ([Andreazza y Nierenberg, 2018](#); [Cuperfain, Zhang, Kennedy, y Goncalves, 2018](#)). Los axones consumen gran cantidad de ATP, especialmente para iniciar la bomba Na/K ATPasa, es por esto que la mayoría de las mitocondrias están ubicadas en axones y dendritas. Se ha observado que la disfunción mitocondrial provoca alteraciones en la neurotransmisión y el cese de la axogénesis; esto torna al SNC susceptible a cualquier daño mitocondrial ([Rajasekaran et al., 2015](#)).

1.4. ADN mitocondrial

La mitocondria se distingue de cualquier otro organelo por contar con su propio genoma, el ADN mitocondrial (ADNmt), una molécula pequeña de doble cadena, conformada 16,569 pares de bases que se encuentra unida a la membrana interna de la mitocondria. En el ADNmt se encuentran codificados 37 genes: 2 ARN ribosomales (12S y 16S), 22 ARN de transferencia y 13 subunidades proteicas que forman parte de los complejos enzimáticos de la cadena respiratoria, de los cuales, 7 corresponden a las subunidades ND1, ND2, ND3, ND4, ND4L, ND5 y ND6 del complejo I (NADH: ubiquinona oxidoreductasa), 1 pertenece a la subunidad Cyt b del complejo III (ubiquinona: citocromo c oxidoreductasa), 3 corresponden a las subunidades COI, COII, COIII del complejo IV (citocromo c oxidasa) y 2 corresponden las subunidades ATP 6 y ATP 8 del complejo V; el resto de subunidades son codificadas por el ADN nuclear ([Cuperfain et al., 2018](#); [Chinnery y Hudson, 2013](#); [Sequeira et al., 2015](#)). Así pues, la actividad enzimática de dichos complejos depende de la integridad



del ADNmt, y cualquier desbalance a este nivel, altera la homeostasis celular ([Bermudez-Guzman y Leal, 2019](#)).

Por otro lado, a diferencia del genoma nuclear, el ADNmt adopta una forma circular, es sintetizado solo por una polimerasa ($\text{pol}\gamma$) y carece de histonas, en su lugar se encuentra empaquetada con el factor de transcripción mitocondrial A (TFAM, por sus siglas en inglés) formando nucleoides ([DeBalsi, Hoff, y Copeland, 2017](#)).

La heteroplasmia es otra característica del ADNmt, es decir, en una misma célula pueden existir copias de ADNmt íntegro y mutante ([Stewart y Chinnery, 2015](#)). Al permanecer en continuo contacto con especies reactivas de oxígeno (ERO), el ADNmt puede acumular mutaciones que varían entre deleciones puntuales, múltiples y/o producción de 8-oxoguanina; se estima que la tasa de mutaciones es 10-20 veces más alta que en el ADN nuclear ([Cuperfain et al., 2018](#); [Kasahara y Kato, 2018](#)), esto se debe a que la mitocondria no cuenta con mecanismos de reparación eficientes, sólo puede reparar el daño escindiendo las bases dañadas, de tal manera que cuando este no se limita a unos pares de bases, el daño persiste ([Bermudez-Guzman y Leal, 2019](#)). Además, el ADNmt carece de intrones y la tasa de replicación es más alta en órganos con mayor demanda energética como el cerebro y músculo ([Ricchetti, 2018](#)). En conjunto, estas características aumentan el riesgo de incorporar nucleótidos incorrectos en las regiones codificantes durante la replicación del ADNmt y con ello la probabilidad de producir proteínas anormales (complejos I-V) ([Cline, 2012](#)).



Las mitocondrias aseguran su buen funcionamiento y preservan la integridad del ADNmt por medio de distintos mecanismos: fusión, fisión y mitofagia; que tienen como fin lograr un equilibrio entre la biogénesis y la degradación mitocondrial ([Picca et al., 2018](#)). Durante la fusión: las mitocondrias se conectan entre sí para evitar la acumulación de ADNmt dañado; en caso de no obtener el efecto deseado, la fisión separa los componentes mitocondriales defectuosos o innecesarios para su posterior eliminación mediante la mitofagia (autofagia mitocondrial) ([Youle y Narendra, 2011](#)). Este último proceso implica la degradación mitocondrial selectiva que impide la acumulación de mitocondrias dañadas, así se mantiene la cantidad de ADNmt mutante al mínimo ([Pickles, Vigie, y Youle, 2018](#)). No obstante, cuando el número de copias de ADNmt mutante rebasa el 70%, la función mitocondrial se ve afectada y dichos procesos se vuelven ineficientes ([Oka et al., 2012](#)). De esta manera, la pérdida de la integridad del ADNmt genera un ciclo que culmina en estrés oxidativo, disfunción mitocondrial y mayor producción de ADNmt dañado ([Tuboly, McLlroy, Briggs, Lott, y Balogh, 2017](#)). En respuesta a esto, las células dañadas son eliminadas mediante apoptosis, este último paso es considerado una de las principales fuentes de liberación de ADNmt al medio extracelular ([Aucamp, Bronkhorst, Badenhorst, y Pretorius, 2018](#)).

1.5. ADN mitocondrial libre

Los términos ADN libre, libre de células o extracelular, incluyen a los ácidos nucleicos (ADN y ARN) de origen mitocondrial y/o nuclear, que son liberados por las células y pueden ser identificados en diferentes medios extracelulares:



sangre, linfa, bilis, leche, orina, saliva, líquido amniótico o líquido cefalorraquídeo. En cambio, se denomina ADN circulante o libre circulante, a las moléculas de ADN presentes en linfa, plasma o suero ([Thierry, El Messaoudi, Gahan, Anker, y Stroun, 2016](#)).

La primera evidencia de ADN circulante en sangre surgió en 1948, por Mandel y Métais ([Mandel y Métais, 1948](#)). Posteriormente, en 1966, Tan *et al*, identificaron ADN libre en sangre de pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) ([Tan, Schur, Carr, y Kunkel, 1966](#)). Asimismo, en 1977, se observó que la concentración de ADN circulante en suero de pacientes con cáncer era mayor que en sujetos sanos ([Leon, Shapiro, Sklaroff, y Yaros, 1977](#)). Finalmente, en el 2000, Zhong *et al*, reportaron por primera vez la presencia de ADNmt circulante en plasma y suero de 25 sujetos sanos y 16 con diabetes tipo 2 ([Zhong, Ng, Lo, Chan, y Johnson, 2000](#)). Desde entonces, se ha confirmado la presencia de ADN mitocondrial circulante en pacientes con otras patologías, entre ellas, cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares, trauma y sepsis ([An et al., 2019](#); [Faust et al., 2020](#); [Silzer et al., 2019](#)).

Hasta ahora, se desconoce el origen exacto del ADNmt libre. Sin embargo, se ha observado que el ADNmt puede ser liberado hacia el citoplasma o al medio extracelular desde células sanas, o bien, durante procesos de degradación celular: apoptosis, necrosis o mitofagia ([Aucamp et al., 2018](#); [Zheng et al., 2018](#)). La apoptosis o muerte celular programada, es un mecanismo fisiológico que mantiene la homeostasis de los tejidos celulares y ocurre en respuesta a diferentes tipos de estresores (estrés oxidativo, hipoxia); este proceso consiste



en la separación de fragmentos de ADN (nuclear y mitocondrial) y destrucción de las proteínas del citoesqueleto y núcleo, para la formación de cuerpos apoptóticos que posteriormente serán fagocitados por los macrófagos, principalmente ([Elmore, 2007](#)). En cambio, durante la necrosis, la célula y sus organelos se hinchan, el ADN se fragmenta y la membrana celular se rompe permitiendo la salida de todos sus componentes al medio extracelular de manera descontrolada, ocasionando inflamación y daño tisular. Este tipo de muerte celular es consecuencia de daños o lesiones externas que se presentan de manera abrupta (calor, radiación, químicos) y a diferencia de la apoptosis, la necrosis es desorganizada y menos específica ([D'Arcy, 2019](#)). Por otro lado, existen condiciones donde las mitocondrias y el ADNmt dañados no pueden ser degradadas de manera eficiente por medio de mitofagia, lo que indirectamente resulta en muerte celular ([Pickles et al., 2018](#)). La ruptura del ADNmt en fragmentos y la fagocitosis son el fin común en cualquiera de estos tres procesos ([Tuboly et al., 2017](#)). De hecho, se requiere de la interacción entre las células fagocíticas y las células en reparación para la salida del ADNmt hacia el medio exterior ([Aucamp et al., 2018](#)).

Por otro lado, el ADNmt también puede ser liberado desde células vivas de manera activa y espontánea por medio de vesículas o formando complejos con proteínas y lípidos. ([Aucamp et al., 2018](#); [Thierry et al., 2016](#)). Se cree que las células depositan en vesículas el ADNmt dañado (oxidado) para asegurar su supervivencia ([Thurairajah, Briggs, y Balogh, 2018](#)). Incluso, se ha observado que la acumulación de ADNmt dañado en el citosol induce la muerte celular



([Zheng et al., 2018](#)). Sin embargo, este tipo de liberación es regulada por su propia concentración, como sucede con algunas hormonas ([Aucamp et al., 2018](#)). Por esto, al ADNmt se le han atribuido diferentes funciones, entre ellas: promover respuestas inflamatorias y proapoptóticas ([Angajala et al., 2018](#)).

1.6. El ADN mitocondrial y respuestas inmuno-inflamatorias

El ADNmt es un importante promotor de diversas vías inflamatorias ([Nakayama y Otsu, 2018](#)), la vía de activación de NLRP3 es una de las más estudiadas. En el citosol, el ADNmt activa al inflamosoma o complejo NLRP3, este es un complejo proteico que activa la caspasa 1, libera IL-1B, IL-18 y promueve la apoptosis ([Rodriguez-Nuevo y Zorzano, 2019](#)). Por otro lado, la doble cadena de forma circular, la carencia de histonas e intrones y la presencia de motivos CpG no metilados son algunas de las características que hacen al ADNmt semejante al ADN bacteriano, esto le confiere la capacidad activar al sistema inmune. Los sitios CpG no metilados del ADNmt actúan como un patrón molecular asociado a daño (DAMP), estos patrones son aquellos rasgos que presentan las moléculas liberadas por las células en respuesta a daño (estrés oxidativo) y activan la inmunidad innata mediante la unión a receptores de reconocimiento de patrones (PRR), entre ellos se encuentran los receptores tipo Toll, que se expresan en la superficie de algunas células del sistema inmune ([Angajala et al., 2018](#); [van Mierlo, Schot, Boks, y de Witte, 2019](#)). Cuando el ADNmt es liberado de las células apoptóticas hacia el medio externo, es reconocido por el receptor TLR9 de las células inmunológicas del SNC (microglia), de esta manera se libera TNE- α , el cual es reconocido por el receptor FAS, para activar las caspasas 8, 3, y Bid, que



en consecuencia promueven la liberación del citocromo C ([Suarez-Mendez, Tovilla-Zarate, Juarez-Rojop, y Bermudez-Ocana, 2018](#); [M. Zhang, Zheng, Nussinov, y Ma, 2017](#)). Finalmente, el citocromo C liberado se une con Apaf-1 para activar las caspasas 9, 7 y 3. Así, la apoptosis se ve reforzada ([M. Zhang et al., 2017](#)).

Estas son algunas de las evidencias que sugieren al ADNmt como potencial indicador de estados inflamatorios. En efecto, se han reportado niveles elevados de ADNmt en plasma asociados a inflamación en diferentes condiciones, entre ellas: envejecimiento, infección y radiación ([Kageyama et al., 2018](#); [Z. Zhang, Zhang, Qin, y Tan, 2018](#)).

1.7. ADN mitocondrial y los síntomas cognitivos de la esquizofrenia

La historia natural de la esquizofrenia y la poca accesibilidad para el estudio del cerebro humano impiden que la patogénesis de los síntomas cognitivos sea conocida en su totalidad. Se han adoptado diferentes teorías, entre ellas, la neuroinflamación como causa de cambios estructurales y bioquímicos en el SNC que se traducen en neurodegeneración ([Olivero et al., 2018](#); [Rose et al., 2017](#)). En ese sentido, la actividad proinflamatoria y proapoptótica del ADNmt podrían tener un rol crucial en la patogénesis del déficit cognitivo de los pacientes con esquizofrenia, ya que algunas enfermedades neurodegenerativas (Huntington, Alzheimer, Parkinson) parecen estar asociadas a alteraciones cuantitativas y cualitativas en el ADN mitocondrial ([Hoekstra, Hipp, Montine, y Kennedy, 2016](#); [Pyle et al., 2015](#)). Asimismo, en los últimos años, se ha identificado ADNmt circulante en plasma y suero en diferentes condiciones psiquiátricas ([Li et al.,](#)



2015; [Lindqvist et al., 2016](#); [Trumpff et al., 2019](#)). Sin embargo, existen muy pocos estudios sobre los niveles de ADNmt en pacientes con esquizofrenia; la mayor parte de estos se enfocan en las anomalías estructurales (mutaciones, deleciones) y en el número de copias de ADNmt intracelular, mas no en las características del ADNmt circulante ([Kumar et al., 2018](#); [Li et al., 2015](#)). Existe un único estudio en el que se analizaron las concentraciones de ADNmt libre en plasma de pacientes con diagnóstico de esquizofrenia, trastorno afectivo bipolar y depresión. Sin embargo, los niveles de ADNmt de los pacientes con esquizofrenia y los sujetos sanos, fueron similares ([Kageyama et al., 2018](#)). Por esto, el presente estudio se enfoca en identificar ADNmt circulante en plasma y analizar la posible asociación entre el ADNmt y el déficit cognitivo, asumiendo que la actividad proinflamatoria del ADNmt es la causa de la neurodegeneración de los pacientes con esquizofrenia (**Figura 1**).

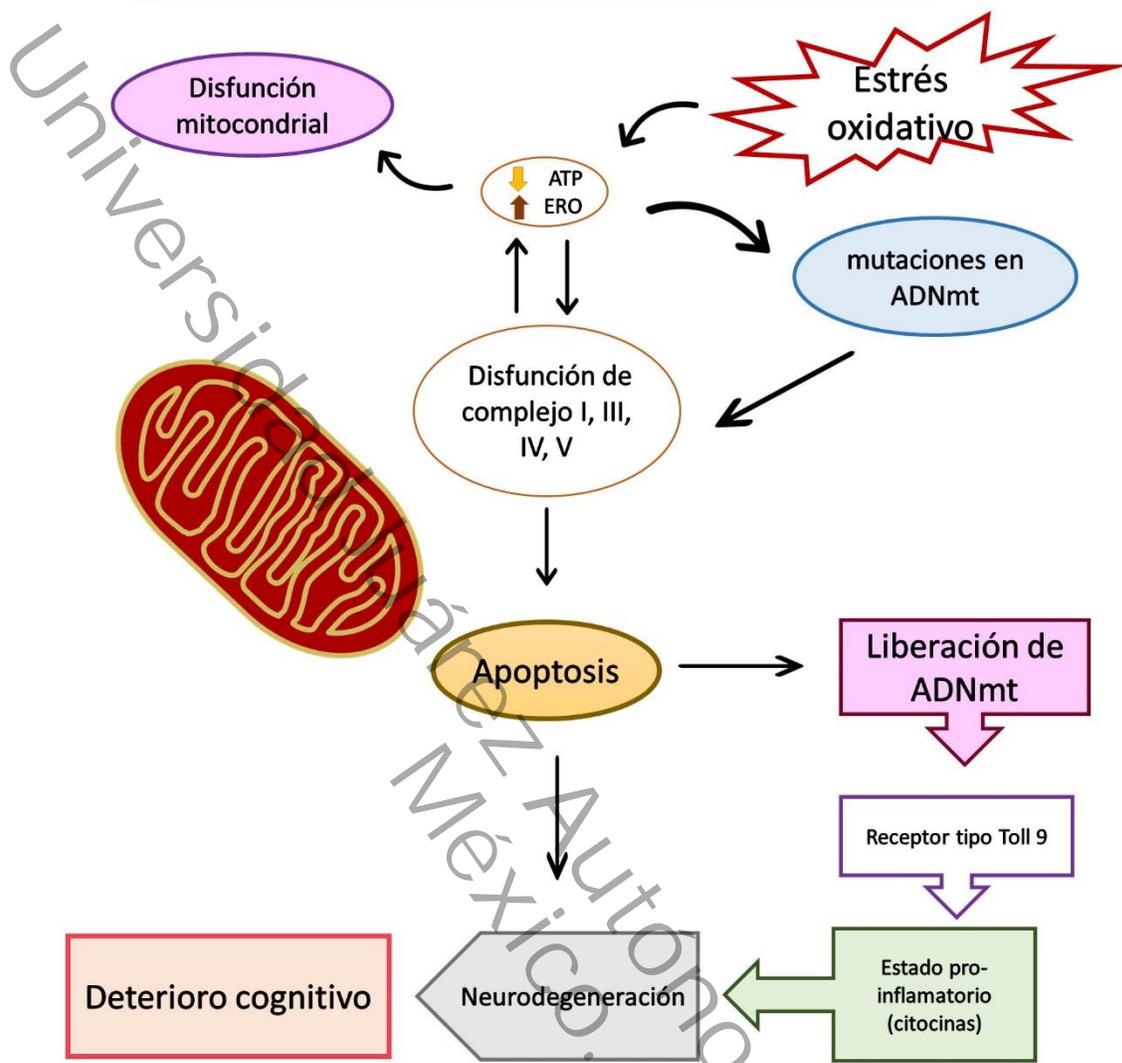


Figura 1. Rol del ADN mitocondrial en la patogénesis del deterioro cognitivo en esquizofrenia.

ATP: Adenosin trifosfato; ERO: Especies reactivas de oxígeno; ADNmt: ADN mitocondrial.



2. Planteamiento del problema

El diagnóstico de esquizofrenia depende básicamente de la intensidad y duración de los síntomas positivos. Generalmente, los pacientes acuden al especialista cuando la conducta, el juicio o la percepción de la realidad se ven alteradas. Sin embargo, se sabe que la pérdida de las funciones cognitivas es progresiva y se manifiestan de manera sutil desde edades tempranas, por lo que suelen pasar desapercibidas. Además, algunos estudios longitudinales han demostrado que 20-30% de los individuos que manifiestan alteraciones cognitivas de inicio temprano, progresan a psicosis en un periodo de un año aproximadamente. Aunque los síntomas positivos pueden remitir con el tratamiento antipsicótico, los síntomas cognitivos se mantienen. Por lo tanto, demostrar la asociación entre el déficit cognitivo y la presencia de ADNmt libre en plasma de pacientes con esquizofrenia apoyaría la teoría del efecto proinflamatorio del ADN mitocondrial causante de neurodegeneración, lo que permitiría un mejor entendimiento de la etiología de la enfermedad.

2.1. Pregunta de investigación

¿El ADN mitocondrial circulante en plasma está asociado al déficit cognitivo de los pacientes con esquizofrenia?



3. Justificación

Los síntomas cognitivos en la esquizofrenia provocan un desajuste social y laboral de los pacientes. Sin embargo, se desconoce la causa de estos síntomas, y actualmente no existe algún tratamiento que logre remitirlos. Por ello, la evaluación del déficit cognitivo en estos pacientes es fundamental para el entendimiento de la patogénesis de la enfermedad y confiere la posibilidad de detectar cambios en etapas tempranas que alerten sobre la progresión de la enfermedad. Además, es poco factible realizar estudios de neuroimagen para evaluar las anomalías estructurales en todos los pacientes. Debido a esto, la finalidad del presente estudio es detectar la presencia de ADN mitocondrial libre en plasma de los pacientes con esquizofrenia del Hospital Regional de Alta Especialidad de Salud Mental "Villahermosa" y estudiar su relación con el deterioro funcional y cognitivo. Además, con los datos obtenidos en esta investigación se explora la posibilidad de que los síntomas cognitivos en asociación con el ADN mitocondrial funjan como un potencial biomarcador que refleje el estado neuroinflamatorio de la esquizofrenia, y puede ser clave para entender la causa del proceso neurodegenerativo precoz observado en estos pacientes.



4. Objetivos

4.1. Objetivo General

Determinar la asociación entre el déficit cognitivo y el ADN mitocondrial circulante en plasma de pacientes con esquizofrenia del Hospital Regional de Alta Especialidad de Salud Mental “Villahermosa”.

4.2. Objetivos particulares

1. Evaluar el grado de déficit cognitivo en pacientes con esquizofrenia en el Hospital Regional de Alta Especialidad de Salud Mental “Villahermosa”.
2. Cuantificar el ADN mitocondrial circulante en plasma de pacientes con esquizofrenia en el Hospital Regional de Alta Especialidad de Salud Mental “Villahermosa”
3. Cuantificar el ADN mitocondrial circulante en plasma de sujetos sanos del Hospital Regional de Comalcalco.
4. Comparar las concentraciones del ADN mitocondrial libre en plasma de pacientes con esquizofrenia y sujetos sanos.



5. Material y métodos

5.1. Diseño del estudio

La presente investigación consistió en un estudio transversal de casos-controles.

5.2. Muestra

Se llevó a cabo un registro de pacientes diagnosticados con esquizofrenia, que ingresaron al Hospital Regional de Alta Especialidad de Salud Mental Villahermosa por primera vez o que llevaban un seguimiento en el mismo, en el periodo junio 2018- febrero 2019. De igual forma para los sujetos sanos que acudieron como donadores al área de banco de sangre del Hospital Regional de Comalcalco.

5.3. Criterios de inclusión

Para el grupo de casos se reclutaron pacientes con diagnóstico de esquizofrenia de acuerdo a los criterios del DSM-5 (Manual de diagnóstico estadístico de los trastornos mentales 5), mayores de 18 años. Los pacientes que fueron seleccionados acudían a citas programadas en el área de consulta externa del Hospital Regional de Alta Especialidad de Salud Mental "Villahermosa". Asimismo, se consideró a la depresión y conducta suicida como criterio de inclusión. Para el grupo de controles, se incluyeron sujetos clínicamente sanos, sin antecedentes de alguna enfermedad psiquiátrica, neurológica o patología clínica (hepática, endocrina, renal, cardiovascular, asma o infecciosas) que acudieron como donadores al banco de sangre del "Hospital Regional de



Comalcalco". En ambos casos se incluyó solo a quienes accedieron a firmar la carta de consentimiento informado.

5.4. Criterios de exclusión

Pacientes en estado psicótico, trastorno psicótico secundario de origen tóxico, con antecedentes de enfermedad cerebrovascular, demencia o trauma craneoencefálico moderado o severo. Sujetos con diabetes o enfermedades vasculares. Personas analfabetas o con alguna discapacidad intelectual o física (sordos). Sujetos que no aceptaron la donación de muestras sanguíneas. Se excluyeron del grupo control, los sujetos que no se consideraron aptos para donar sangre.

5.5. Instrumentos y medidas

Escala de la evaluación cognitiva de Montreal (MoCA) versión 7.2: validada en población mexicana, con un alfa de Cronbach de 0.71 ([Rodríguez-Bores, 2014](#)). Identifica déficits en la función ejecutiva y visoespacial, memoria, atención, lenguaje, abstracción, recuerdo y orientación. Los puntajes ≥ 26 indican funcionamiento cognitivo normal. Se agregó 1 punto a los pacientes con ≤ 12 años de escolaridad ([Yang et al., 2018](#)). Esta escala tiene 87% de especificidad y 90% de sensibilidad.

Escala de ajuste premórbido (PAS): Para obtener mayor información acerca del desempeño escolar y social de los pacientes se aplicó la escala PAS, esta evalúa 5 dominios (sociabilidad y aislamiento, relaciones de amistad, desempeño escolar, adaptación escolar y aspectos socio-sexuales) en 4 periodos distintos de la vida del paciente (infancia, adolescencia temprana, tardía y adultez). Se



evaluaron solo los periodos correspondientes a un año antes de la primera hospitalización o primer cuadro psicótico. El promedio total de PAS varía de 0-1, siendo los puntajes menores los que indiquen mayor funcionalidad en el paciente ([Cannon-Spoor, Potkin, y Wyatt, 1982](#); [Kilian et al., 2017](#)). Esta escala tiene un alfa de Cronbach de 0.76. Fue traducida al castellano y validada por López, M. y cols., en 1996.

Escala de síntomas positivos y negativos (PANSS): de 5 factores (positiva, negativa, cognitiva, ansiedad/depresión y excitabilidad) se aplicó sólo a los pacientes con esquizofrenia, consta de 30 ítems, cada uno evalúa la intensidad de los síntomas con un puntaje posible entre 1-7, siendo 7 el máximo, con un puntaje total de la escala mínimo de 30 y máximo 210 ([Emsley, Rabinowitz, Torreman, y Group, 2003](#)). Esta escala tiene un alfa de Cronbach de 0.80-0.89 y fue validada por Fresán, A. y colaboradores en 2005.

5.6. Obtención de muestras biológicas

Las muestras de sangre del grupo de casos con esquizofrenia y del grupo control fueron obtenidas en el Hospital Regional de Alta Especialidad de Salud Mental “Villahermosa” y el “Hospital Regional de Comalcalco”, respectivamente. La muestra de sangre total, se obtuvo por personal capacitado mediante punción venosa, posteriormente fueron centrifugados y separado el plasma. Mismos que se resguardaron y congelaron a - 80°C.

El ADNmt libre de células se obtuvo a partir de plasma, utilizando el kit comercial Gentra Puregene (Qiagen, USA) mediante las condiciones establecidas por el proveedor. Previo a la extracción del ADN, las muestras de plasma fueron



centrifugadas a 10 000 g durante 10 minutos. La cantidad y pureza del ADNmt se evaluó por medio de espectrofotometría a 260/280 nm (Nanodrop). El ADNmt se cuantificó por medio de PCR en tiempo real (TaqMan multiplex assay) utilizando la tecnología de curva de fusión (melting curve), con el fluoróforo SYBR green como marcador de amplificación. La intensidad de fluorescencia se midió con un equipo de PCR en tiempo real Quanto Studio 7 (Termofisher). Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 95 °C por 10 minutos, posterior a esto, 50 ciclos que consisten en 95 °C durante 10 segundos para desnaturalización, 65 °C durante 10 segundos para alineamiento y 72 °C durante 11 segundos para extensión, con una medición de fluorescencia mediante análisis de melting curve de forma continua de 60 a 97 °C. Los cebadores utilizados para amplificar el gen mitocondrial de la subunidad 2 del complejo I (MT-ND2), se eligieron de acuerdo a lo previamente publicado por Lindqvist *et al* (2018), que se especifican a continuación: Gen: ND2 Forward: CACTCATCACAGCGCTAA, Reverse: GGATTATGGATGCGGTTGCT ([Lindqvist et al., 2016](#)). El producto de esta amplificación fue utilizado en diluciones para crear una curva estándar y calcular las diferentes concentraciones de ADN de cada una de las muestras. El número de copias de ADNmt fue calculado mediante la siguiente fórmula:

$$\text{mtDNA units} = \left(\frac{\frac{\times \text{ gram}}{\mu\text{l}} \text{DNA}}{\text{PCR- frag (bp)} \times 660} \right) \times 6.022 \times 10^{23}$$



La concentración de ADN (g/ μ l) se dividió entre la longitud del fragmento de PCR expresado en pares de bases, el resultado se multiplicó por 660 (g/mol) que corresponde a la masa molar de cada par de base y finalmente el producto se multiplicó por 6.022×10^{23} que corresponde a la constante de Avogadro.

5.7. Análisis estadístico

La normalidad de las variables fue evaluada por medio de la prueba Kolmogorov-Smirnoff, del total de las variables, solo el IMC siguió una distribución normal. Los datos de las variables continuas son representados en medianas y rangos intercuartílicos. Las diferencias entre las características de los grupos de casos y control se analizaron mediante χ^2 para comparar las variables categóricas y se empleó la prueba U-Mann Whitney para las variables continuas. La muestra se reagrupó de acuerdo al puntaje obtenido en la escala MoCA en pacientes con déficit leve (18-25 puntos), moderado (17-10 puntos) y severo (<10 puntos), posterior a esto, se realizó una prueba de Kruskal-Wallis para evaluar las diferencias clínicas entre los 3 grupos. De igual forma, el grupo de casos se clasificó de acuerdo a la intensidad de los síntomas evaluados por la escala PANSS en pacientes con intensidad leve, moderada y marcada, empleándose la misma prueba, Kruskal-Wallis, para la búsqueda de diferencias clínicas entre los grupos. Del mismo modo, se evaluaron las diferencias entre los puntajes de MoCA y los valores de ADNmt de cada uno de los grupos. Mediante correlaciones de Rho de Spearman se evaluó el efecto de las variables clínicas sobre las concentraciones de ADNmt libre de células obtenida en cada sujeto, considerando los puntajes obtenidos en las escalas (MoCA, PANSS y Ajuste



premórbido). Se estableció el valor de $p < 0.05$ como significativo. Los cálculos estadísticos fueron analizados con SPSS (Statistical Package for the Social Sciences for Windows) IBM versión 23.

5.8. Declaración ética

Este estudio se realizó acorde a los principios de la Declaración de Helsinki, fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Hospital Regional de Alta Especialidad de Salud Mental No. HRAESM/DG/RP/1128/2018. Los individuos incluidos en el estudio recibieron información de manera verbal y escrita sobre los objetivos del estudio, los cuales participaron de manera voluntaria y sin recibir alguna clase de remuneración económica. Todos aceptaron participar firmando una carta de consentimiento informado aprobada por el Comité de Ética.



6. Resultados

6.1. Características sociodemográficas de la muestra

Se obtuvieron en total 99 sujetos: 39 y 60 sujetos conformaron el grupo de casos y controles, respectivamente. Se eliminaron 4 pacientes con diabetes tipo 2 e hipertensión arterial. El género masculino predominó en ambos grupos. Se encontraron diferencias significativas en la escolaridad, estado civil, nivel socioeconómico y ocupación. La secundaria resultó ser el nivel máximo de estudios para la mayoría de los pacientes, así como ser soltero (85%), estar desempleado (46.4%) y tener un nivel socioeconómico bajo (64.2%). Mientras que 38.5% de los sujetos sanos estaban casados, con trabajo de tiempo completo y 76.9% mantenían un nivel socioeconómico medio (**tabla 1**).

Tabla 1

Características sociodemográficas de la muestra (n=95)

Características sociodemográficas	Casos (n=56)	Controles (n=39)	Total (n=95)	Estadístico
Edad (años)	45 (19-72)	25 (18-48)	35 (18-72)	U=375.5 P <0.0001
Escolaridad (años)	9 (2-17)	12 (1-18)	9 (1-18)	U= 802 P= 0.026
Índice de masa corporal IMC (kg/m ²)	27.02 (±6.2)	27.18 (±4.88)	27.3 (±5.7)	U=0.131 P=0.896
Estado civil				
Casado/ unión libre	3 (5.3)	15 (38.5)	18 (18.9)	X ² =18.55 P <0.0001
Soltero	48 (85.7)	24 (61.5)	72 (75.7)	
Divorciado	5 (8.9)	0	5 (5.2)	
Género				
Masculino	35 (62.5)	31 (79.5)	66 (69.5)	X ² =3.128 P=0.209
Femenino	21 (37.5)	8 (20.5)	29 (30.5)	
Nivel socioeconómico				
Alto	2 (3.5)	0	2 (2.1)	X ² =18.76 P <0.0001
Medio	18 (32.1)	30 (76.9)	48 (50.5)	
Bajo	36 (64.2)	9 (23.1)	45 (47.3)	
Ocupación				
Desempleado	26 (46.4)	1 (2.6)	27 (28.4)	X ² = 53.73 P <0.0001
Labores del hogar	12 (21.4)	1 (2.6)	13 (13.7)	



Estudiante	1 (1.7)	16 (41)	17 (17.9)
Subempleo	12 (21.4)	6 (15.4)	18 (18.9)
Empleo tiempo completo	4 (7.1)	15 (38.5)	19 (20)

Fuente: Consulta Externa del Hospital Regional de Alta Especialidad de Salud Mental; Banco de Sangre del Hospital Regional de Comalcalco, Tabasco.

6.2. Características clínicas de la muestra

Los puntajes alcanzados por los pacientes con esquizofrenia en la escala MoCA fueron significativamente menores en comparación con el grupo control, con una mediana de 15.5 puntos en el grupo de casos y 26 en el grupo control ($U= 226$; $P <0.0001$) (**tabla 2**). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los puntajes en la escala MoCA y el sexo o la edad de los pacientes y controles (**figura 2 y 3**). Por otro lado, el puntaje general de la escala de ajuste premórbido resultó ser significativamente mayor en los pacientes, lo cual es indicativo de inadecuada adaptación escolar y social en comparación con el grupo control (0.43 vs 0 ; $U= 1$; $P <0.0001$) (**tabla 2**).

6.3. Características clínicas de los casos

El 60.7% de los pacientes inició con síntomas psicóticos después de los 18 años de edad. El promedio de duración de la psicosis no tratada fue aproximadamente de 1 año y 76.7% contaban con antecedente de al menos una hospitalización con duración de 1 semana a 7 meses aproximadamente. La duración mínima de la enfermedad fue de 8 años. Además, al momento del estudio, 13 pacientes se encontraban bajo tratamiento exclusivo con risperidona, 16 con olanzapina, y 7 con zuclopentixol. El resto (16) contaban con más de 1 antipsicótico.



Tabla 2
Características clínicas de la muestra (n= 95)

Características clínicas	Casos mediana(RIQ) n=56	Controles mediana(RIQ) n=39	Total mediana(RIQ) n=95	Estadístico
Puntaje de escala de Ajuste Premórbido	0.43 (0.09-0.9)	0 (0-0.14)	0.29 (0-0.9)	U= 1 P <0.0001
Déficit cognitivo-Si*	54 (96.42)	19 (48.7)	73 (74)	X ² =29.41 P <0.0001
Escala MoCA				
Funcionamiento visuoespacial / 5	2 (1-4)	5 (4-5)	3 (2-5)	U= 350 P <0.0001
Identificación / 3	3 (2-3)	3 (3-3)	3 (2-3)	U= 737 P= 0.006
Atención / 6	3 (1-4)	5 (4-6)	4 (2-5)	U= 352 P <0.0001
Lenguaje / 3	1 (0-2)	2 (1-3)	2 (1-3)	U= 563 P <0.0001
Abstracción / 2	2 (0-2)	2 (2-2)	2 (1-2)	U= 801 P <0.0001
Recuerdo diferido / 5	0 (0)	3 (2-3)	0 (0-3)	U= 291 P <0.0001
Orientación / 6	5 (3-6)	6 (6-6)	6 (5-6)	U= 595 P <0.0001
Puntaje total / 30	15.5 (11-20.75)	26 (22-28)	20 (0-29)	U= 226 P <0.0001
Escala PANSS				
PANSS positiva	13 (10-16)			
PANSS negativa	16.5 (11-24)			
PANSS cognitiva	14(11-21)			
PANSS excitabilidad	4 (4-7)			
PANSS ansiedad/depresión	6 (4-8.75)			
Puntaje total	56 (45-69.5)			
ADN mitocondrial				
ADNmt en plasma-SI	39 (69.6)	3 (7.7)	42 (42.15)	X ² =35.57 P <0.0001
Número de copias ADNmt (µL)	23.92 (0.10-23.95)	0.10 (0.10-0.10)	0.10 (0.10-23.43)	U= 8.198 P <0.0001

Fuente: Consulta Externa del Hospital Regional de Alta Especialidad de Salud Mental; Banco de Sangre del Hospital Regional de Comalcalco, Tabasco.

* Frecuencia (%)

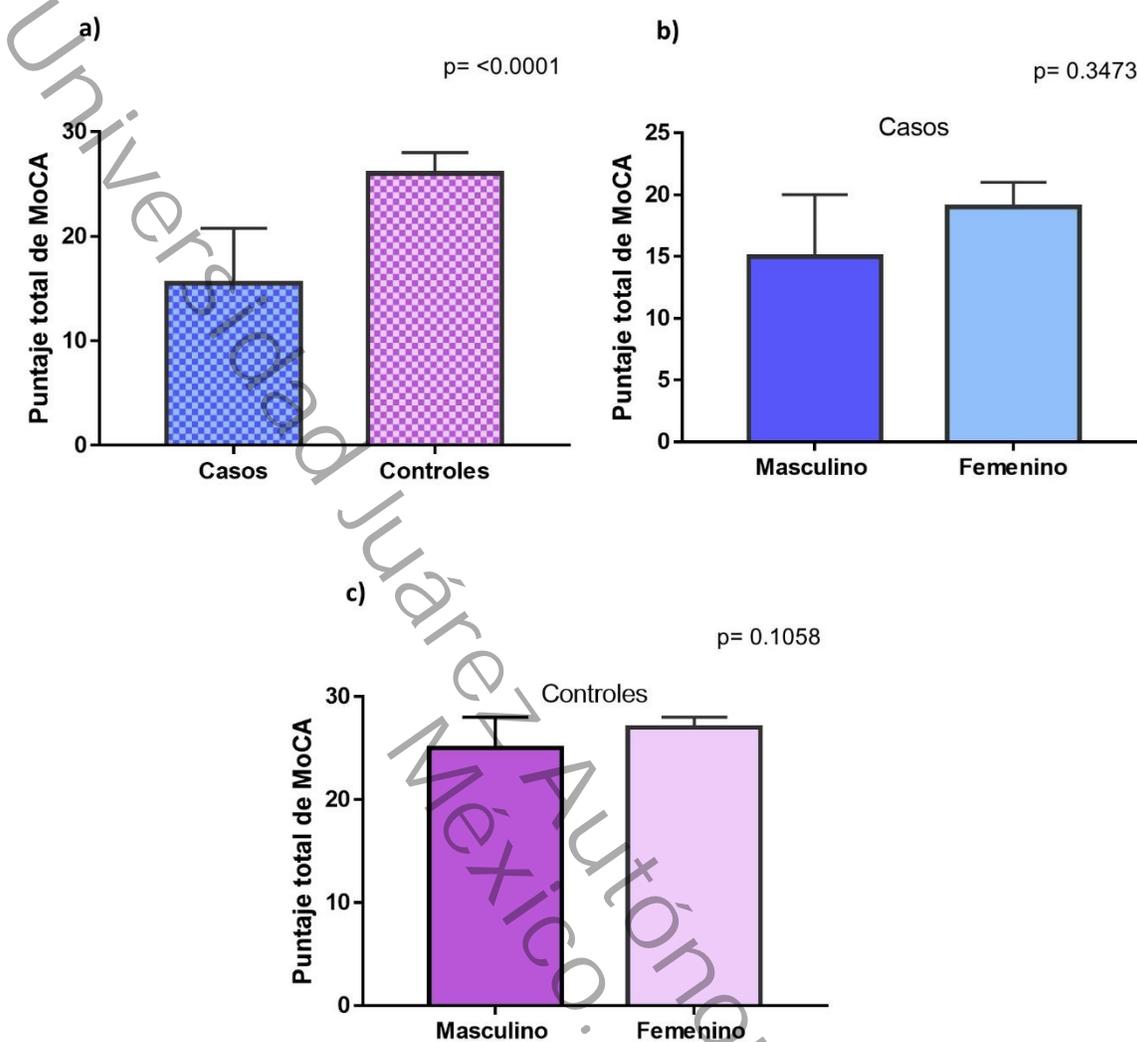


Figura 2. Diferencias de puntajes totales de la escala MoCA (medianas y rangos intercuartílicos).

a) Diferencias de puntajes de MoCA entre casos y controles (n=95). **b)** Puntajes de MoCA en pacientes clasificados de acuerdo al sexo (n=56). **c)** Puntajes de la escala MoCA en el grupo control, de acuerdo al sexo (n=39).

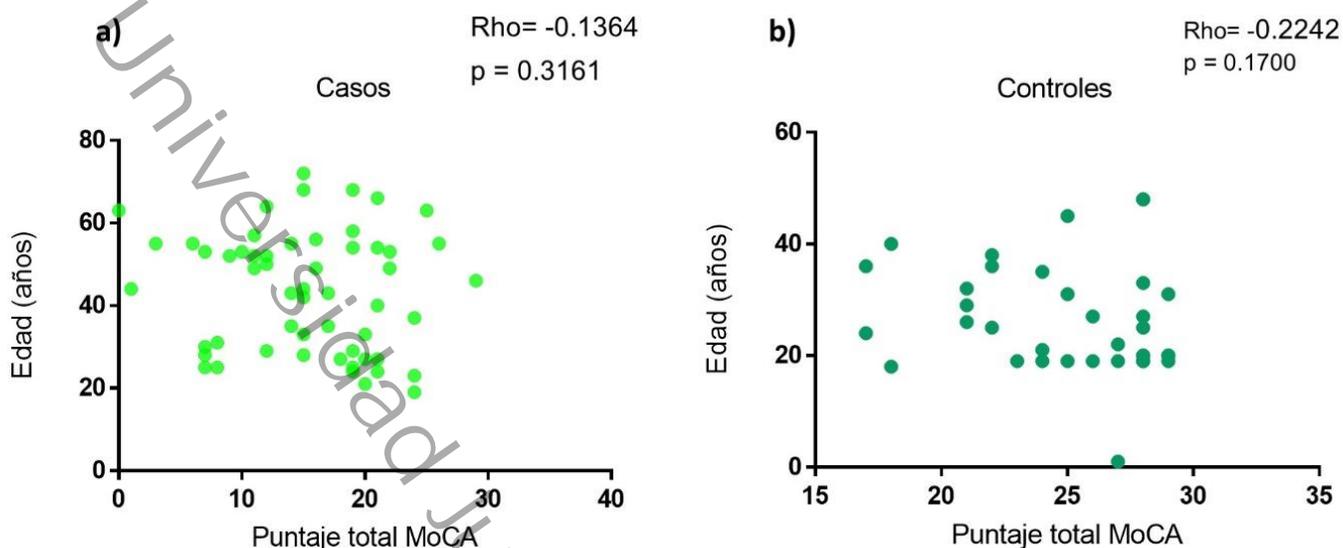


Figura 3. Correlaciones de puntajes totales de MoCA y edad.

a) Puntajes de MoCA y edad de casos (n=56). **b)** Puntajes de MoCA y edad del grupo control (n=39).

6.4. Estatus cognitivo de los casos

El estado cognitivo se encontró afectado (MoCA <26) en 96.4% del grupo de casos con esquizofrenia. Los puntajes alcanzados en la escala MoCA oscilaron entre 11 y 20 puntos, solo 2 pacientes lograron puntajes ≥ 26 en la misma escala (**tabla 2**). Sin embargo, 22 de los pacientes se clasificaron con déficit leve, 20 con déficit moderado y 12 con déficit severo. En este último grupo se observó que los síntomas negativos y cognitivos (PANSS) eran más marcados (**tabla 3**).

De acuerdo a la sintomatología (PANSS) se formaron los grupos con intensidad leve, moderada y marcada. No se encontraron diferencias entre la edad y los años de duración de la enfermedad. Sin embargo, el número y duración de las hospitalizaciones fue menor en el grupo leve. Además de mostrar mejor ajuste premórbido, el grupo leve obtuvo mejores puntajes en el funcionamiento



visuoespacial, la atención y la orientación evaluados por MoCA. Los puntajes de MoCA fueron significativamente menores en el grupo con sintomatología marcada (**Tabla 4**). Además, se identificaron correlaciones negativas entre las distintas subescalas de PANSS y el déficit cognitivo (MoCA) (**Figura 4**).

6.5. Diferencias entre concentraciones de ADNmt libre en plasma

Se identificó ADNmt libre en el plasma de 39 casos (ADNmt+) y 3 sujetos sanos. En los 17 pacientes restantes, el número de copias de ADNmt libre en plasma no fue detectable (ADNmt-). No se encontró asociación significativa entre los posibles efectos del género y la edad sobre el ADNmt. Tampoco se encontró asociación entre el déficit cognitivo y las concentraciones de ADNmt de los casos (**Figura 5**).

Tabla 3

Características clínicas de pacientes con déficit cognitivo leve, moderado y severo, de acuerdo a MoCA (n=56).

	Déficit leve mediana(RIQ) n= 22	Déficit moderado mediana(RIQ) n=20	Déficit severo mediana(RIQ) n=12	Estadístico
Ajuste premórbido total	0.29 (0.15-0.48) ^b	0.41 (0.32-0.62)	0.585 (0.41-0.65)	F= 8.505 P=0.0142
PANSS positiva	10 (8-16)	12 (9-15)	14 (13-23)	F=7.632 P=0.022*
PANSS negativa	12 (9-16)	15 (7-20)	23 (15-31) ^c	F=10.84 P= 0.0044
PANSS cognitiva	9 (7-12)	13 (10-15) ^b	22 (17-27) ^c	F=23.06 P=<0.0001
PANSS excitabilidad	4 (4-5)	4 (4-6)	5 (4-8)	F=2.322 P= 0.3132
PANSS ansiedad/depresión	7 (6-9)	6 (4-9)	5 (4-8)	F=3.482 P=0.1753
PANSS puntaje total	43 (38-56)	50 (43-61)	71 (60-89)	F=17.75 P= 0.0001
Número de copias ADNmt (µL)	23.91 (12-23.94)	23.92 (0.1007-23.94)	23.92 (23.91-23.96)	F=1.999 P=0.3681

Fuente: Consulta Externa del Hospital Regional de Alta Especialidad de Salud Mental, Villahermosa, Tabasco.



Nota: ^a Déficit leve vs Déficit moderado ($P < 0.05$); ^b Déficit leve vs Déficit severo ($P < 0.05$); ^c Déficit moderado vs Déficit severo ($P < 0.05$); * Comparaciones entre los grupos, corrección de Dunn ($P > 0.05$).

Tabla 4

Diferencias clínicas de pacientes agrupados acuerdo a la intensidad de los síntomas (PANSS).

	Leve mediana(RIQ) n=29	Moderada mediana(RIQ) n=20	Marcada mediana(RIQ) n=7	Estadístico
Edad (años)	43(28-54)	52 (31-55)	44 (25-53)	F=2.158 P= 0.339
Escolaridad (años)	11 (9-13) ^a	7 (5-10)	9 (6-12)	F=7.393 P=0.0248
Edad de inicio esquizofrenia	23 (17-29)	18 (15-24)	20 (15-21)	F=3.606 P= 0.1648
Duración de la esquizofrenia (años)	15 (6-27)	28 (9-40)	12 (11-38)	F=3.527 P=0.1715
Número de hospitalizaciones	1 (0-2) ^a	4 (1-5)	2 (0-10)	F=7.346 P=0.0254
Duración de hospitalizaciones (semanas)	4 (0-19) ^a	20 (5-81)	10 (0-83)	F=6.679 P=0.0355
Duración de psicosis no tratada (semanas)	26 (12-104)	44 (24-182)	78 (36-104)	F= 2.615 P= 0.2705
Número de copias ADNmt (µL)	23.92 (0.1007-23.94)	23.92 (23.91-23.95)	23.91 (0.10-23.96)	F=1.47 P=0.4796
Puntaje total MoCA / 30	19 (15.5-21.5) ^{a,b}	12 (7.25-17.5)	8 (1-11)	F=21.62 P=<0.0001
Funcionamiento visuoespacial / 5	3 (2.5-4) ^{a,b}	1 (0-2.7)	1 (0-1)	F=22.93 P=<0.0001
Identificación / 3	3 (2.5 -3)	2 (2-3) ^b	2 (0-3)	F=7.935 P=0.0189
Atención / 6	4 (2-5)	2 (0.25-4) ^b	0 (0-2)	F=13.1 P= 0.0014
Lenguaje / 3	2 (0.5-2.5)	1 (0-1.7)	1 (0-1)	F=6.217 P=0.0447*
Abstracción / 2	2 (2-2) ^{a,b}	0.5 (0-2)	0 (0-2)	F=15.16 P=0.0005
Recuerdo diferido / 5	0	0	0	F=2.057 P=0.3576*
Orientación / 6	6 (5-6)	5 (2-6) ^{b,c}	3 (0-3)	F=16.54 P= 0.0003
Puntaje total de Ajuste Premórbido	0.37 (0.265-0.555) ^a	0.54 (0.412-0.655)	0.61 (0.37-0.75)	F=11.34 P=0.0034

Fuente: Consulta Externa del Hospital Regional de Alta Especialidad de Salud Mental; Banco de Sangre del Hospital Regional de Comalcalco, Tabasco.

Nota: ^a Leve vs moderada ($P < 0.05$); ^b Leve vs marcada ($P < 0.05$); ^c Moderada vs marcada ($P < 0.05$); * Comparaciones entre los grupos, corrección de Dunn ($P > 0.05$).

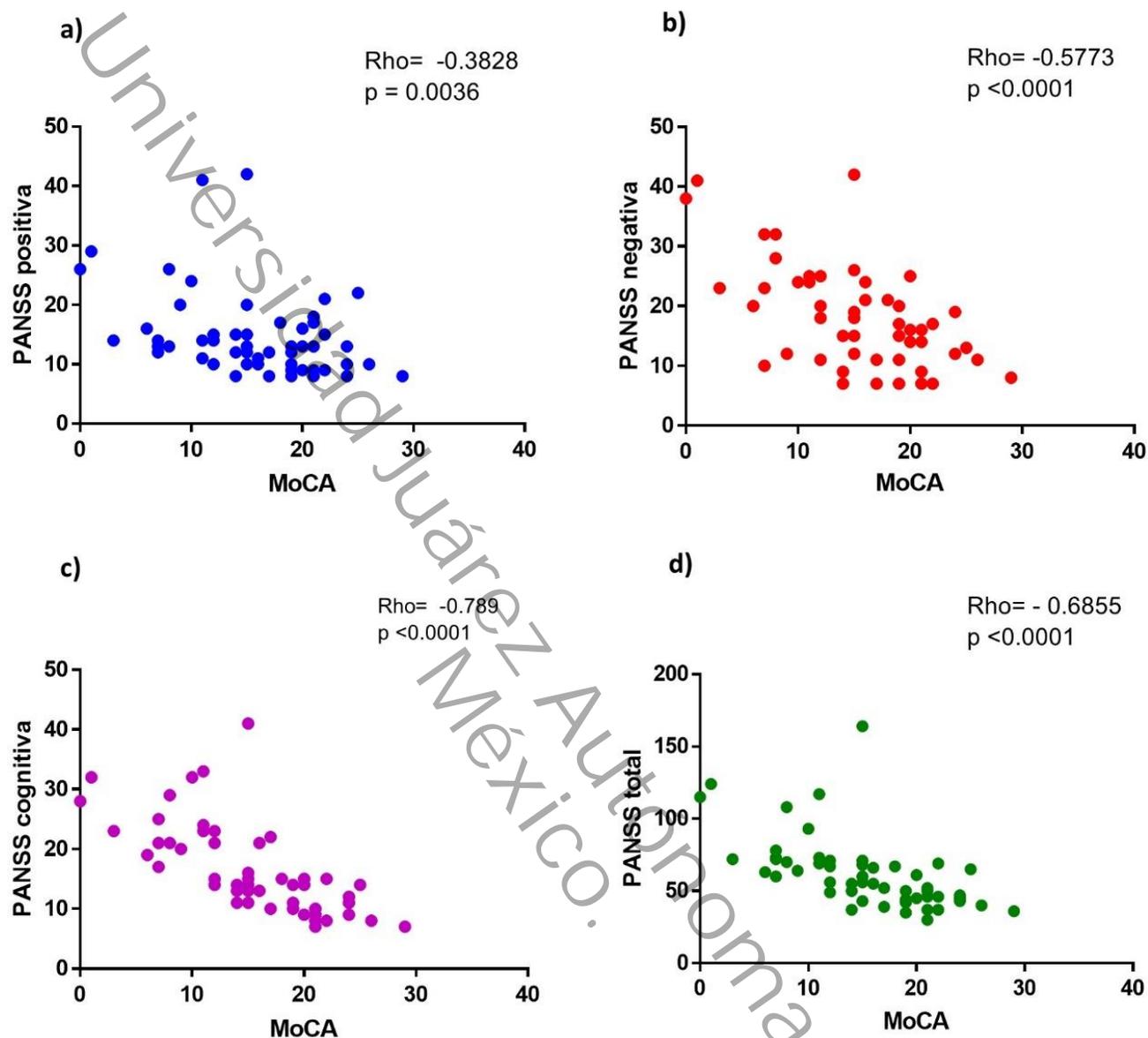


Figura 4. Correlaciones de puntajes totales de MoCA y subescalas de PANSS.

a) Correlación entre MoCA y subescala positiva de PANSS. **b)** Puntaje total de MoCA y subescala negativa de PANSS. **c)** Correlación entre MoCA y subescala cognitiva de PANSS. **d)** Correlación entre MoCA y puntaje total de PANSS.

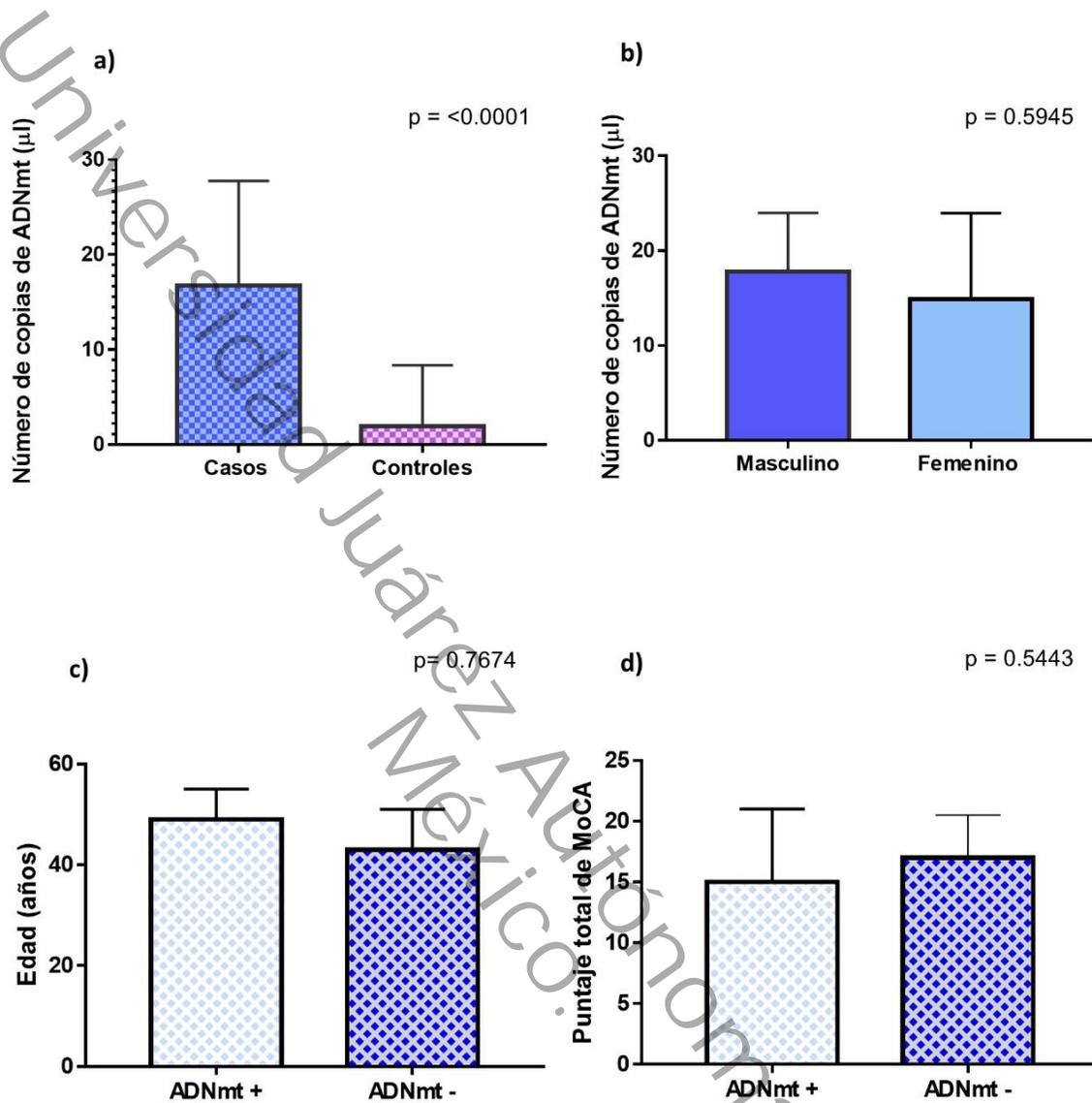


Figura 5. Diferencias cuantitativas y cualitativas de ADNmt en la muestra. **a)** Número de copias de ADNmt por μl de plasma en casos y controles. **b)** Número de copias de ADNmt (μl) en plasma, de acuerdo al género. **c)** Diferencias entre las edades de los grupos ADNmt + y ADNmt -. **d)** Comparación de puntajes de MoCA en los grupos ADNmt + y ADNmt -



7. Discusión

Este estudio confirma que las condiciones generales (estado civil, nivel socioeconómico, ocupación, escolaridad) y la funcionalidad social y comunitaria de los pacientes son significativamente inferiores al resto de la población general, pues la mayoría de los pacientes expresaron que no mantienen ningún tipo de relación de pareja o amistad (85.7%), ni empleo (67.8%), y afirmaron que dependen de sus familiares tanto económicamente como para acudir a sus citas de control o tomar sus medicamentos. Efectivamente, en estudios previos se ha observado que estas mismas características afectan negativamente la calidad de vida y el curso de la enfermedad ([Choo et al., 2017](#)) ([Medici et al., 2016](#); [Pinho, Pereira, y Chaves, 2017](#)).

Por otro lado, el deterioro cognitivo, además de ser una de las características centrales de la esquizofrenia, también provoca la pérdida de la funcionalidad necesaria para vivir de manera independiente y productiva ([Carbon y Correll, 2014](#)). La prevalencia de los síntomas cognitivos varía entre 60-80% ([McCleery y Nuechterlein, 2019](#)). Por esto, uno de los objetivos de esta investigación fue evaluar el estado cognitivo de los pacientes con esquizofrenia, los cuales obtuvieron puntajes notablemente inferiores en la escala MoCA en comparación con el grupo control, revelando deficiencias cognitivas en 96.4% de los pacientes. Es probable que este alto porcentaje se deba a algunas de las características clínicas de los pacientes, entre ellas: la intensidad de los síntomas generales de la enfermedad y las hospitalizaciones previas.



En relación a los síntomas, nuestros resultados indican que el grado del déficit cognitivo se asocia a la intensidad de los síntomas positivos y negativos; a medida que la intensidad de estos aumenta, el desempeño cognitivo de los pacientes disminuye. Esto se ha descrito anteriormente en otros estudios ([Lin et al., 2013](#); [Zanelli et al., 2019](#); [Zhu et al., 2019](#)). Adicionalmente, al evaluar los distintos dominios de la escala MoCA, percibimos que el funcionamiento visuoespacial, la atención y abstracción fueron las áreas cognitivas que mostraron mayor declive conforme los síntomas generales se hacían más graves. En cambio, el lenguaje y el recuerdo diferido se mostraron igualmente afectados, independientemente de la intensidad de los síntomas. Diversos autores han propuesto que no todas las funciones cognitivas son afectadas de la misma manera, algunas funciones como la abstracción o el aprendizaje visual, pueden mantenerse estables después de los primeros 3-5 años de la enfermedad, mientras que otras como el lenguaje y la memoria de trabajo continúan deteriorándose ([Reichenberg et al., 2010](#); [Seidman y Mirsky, 2017](#)).

Respecto a las hospitalizaciones, observamos que los pacientes con síntomas más marcados contaban con características similares: mayor número y duración de hospitalizaciones. Esto podría estar relacionado a la frecuencia de las recaídas (exacerbaciones agudas de los síntomas psicóticos). Se sabe que los síntomas positivos de la esquizofrenia pueden remitir. Sin embargo, el curso natural de este trastorno implica que la mayoría de los pacientes experimenten múltiples recaídas, que conllevan a múltiples hospitalizaciones ([Emsley, Chiliza, Asmal, y Harvey, 2013](#); [Hor y Taylor, 2010](#); [Kane, 2007](#)). Esto es importante,



porque se ha demostrado que, con cada hospitalización, el estado funcional previo al evento no se recupera totalmente, ocasionando el deterioro cognitivo de los pacientes ([Taylor y Jauhar, 2019](#)). Cabe mencionar que la escala empleada para medir los síntomas generales de la esquizofrenia (PANSS) también evalúa la presencia de síntomas cognitivos, y dado que estos son predominantes en la mayoría de los pacientes, es probable que los altos puntajes de PANSS se deban principalmente a los síntomas cognitivos. Además, al momento del estudio ningún paciente estaba hospitalizado, lo que indica que gran parte de los síntomas positivos eran leves o ausentes. Debido a esto, consideramos que las variables mencionadas explican de manera indirecta, el estado cognitivo de nuestros pacientes.

En este contexto, se han enlistado numerosos factores asociados al déficit cognitivo en esquizofrenia y otras enfermedades neurodegenerativas, entre ellos, la inflamación ([Fourrier, Singhal, y Baune, 2019](#); [Muller, Weidinger, Leitner, y Schwarz, 2015](#)). Se sabe que los pacientes con esquizofrenia se encuentran en un estado pro-inflamatorio constante que provoca una pérdida progresiva en el SNC ([Na, Jung, y Kim, 2014](#)). La sobreexpresión de IL-6, IL-1 β y TNF α parece estar involucrada en procesos neurodegenerativos que se manifiestan como deficiencias en la memoria, atención, aprendizaje, entre otros ([Fourrier et al., 2019](#); [McAfoose y Baune, 2009](#)). Al respecto, el ADNmt circulante ha cobrado mayor importancia en los últimos años, pues está comprobada su intervención en respuestas inflamatorias y muerte celular ([Gambardella et al., 2019](#); [Rodríguez-Nuevo y Zorzano, 2019](#)). En este sentido, uno de los hallazgos más



importantes de nuestra investigación fue la presencia de ADNmt en un gran porcentaje de los pacientes (69.6%), mas no en los sujetos sanos (7.6%). Esta diferencia no ha sido reportada en pacientes con esquizofrenia. De hecho, este es el primer estudio en el que se observan elevaciones de ADNmt en plasma; solo existe un estudio previo en donde las concentraciones de ADNmt en plasma de pacientes con esquizofrenia e individuos sanos fueron muy similares; es probable que no se hayan encontrado diferencias debido al tamaño de la muestra (17 pacientes vs 29 controles) ([Kageyama et al., 2018](#)).

A pesar de la creciente información acerca del uso diagnóstico y terapéutico del ADNmt circulante en diversas condiciones clínicas (cáncer, trauma, envejecimiento, ejercicio) ([Faust et al., 2020](#); [Picca et al., 2018](#); [Valiente-Palleja et al., 2020](#); [Yu, 2012](#)), la mayoría de las investigaciones en esquizofrenia abordan principalmente las anomalías estructurales del ADNmt (mutaciones, deleciones) ([Cuperfain et al., 2018](#); [Sequeira et al., 2015](#)), o bien, cambios en el número de copias de ADNmt intracelular ([Bermudez-Guzman y Leal, 2019](#); [Kasahara y Kato, 2018](#); [Kumar et al., 2018](#); [Li et al., 2015](#)), mas no ADNmt circulante. Al respecto, en una cohorte de 89 sujetos que cursaban con el primer episodio psicótico se observaron cambios en el número de copias de ADNmt de origen leucocitario; quienes no respondieron adecuadamente al tratamiento antipsicótico (risperidona) mostraron niveles basales de ADNmt más altos en comparación con los pacientes que respondieron adecuadamente, manteniéndose así al final del tratamiento ([Li et al., 2015](#)). En un estudio similar, se observó que clozapina y risperidona tienen un efecto reductor sobre el ADNmt



leucocitario; el número de copias de ADNmt era menor en quienes manifestaban mayor severidad de síntomas psicóticos ([Kumar et al., 2018](#)). De igual forma, *Chestkov et al* (2018), demostraron que el estrés oxidativo está asociado al incremento de ADNmt leucocitario en pacientes con esquizofrenia sin tratamiento ([Chestkov et al., 2018](#)). En relación a esto, es probable que los niveles bajos de ADNmt intracelular se deban a una mayor liberación de ADNmt hacia el medio externo, como mecanismo de control de calidad. Se ha demostrado las células emplean diferentes mecanismos para evitar la acumulación de copias de ADNmt dañado, ya sea por medio de mitofagia o exocitosis (liberación activa), de esta manera se evita que el ADNmt dañado se acumule en las células, de lo contrario esto podría conducir a la muerte celular ([Thurairajah et al., 2018](#); [Youle y Narendra, 2011](#)). En conjunto, estas evidencias podrían explicar la marcada diferencia de ADNmt circulante entre nuestros pacientes y controles. No obstante, la cuantificación simultánea del ADNmt intracelular no formó parte de nuestros objetivos, por lo tanto, se requieren estudios que consideren ambos tipos de ADNmt para corroborar lo antes planteado. Por ejemplo, *Silzer et al* (2019), observaron que el número de copias de ADNmt era menor en pacientes con diabetes tipo 2 y déficit cognitivo, mientras que los niveles de ADNmt circulante aumentaban en pacientes con ambos diagnósticos ([Silzer et al., 2019](#)). Por otro lado, no se observó una asociación entre el ADNmt circulante en plasma y el déficit cognitivo de nuestros pacientes. Actualmente, no existen estudios similares con los cuales comparar este resultado, pues hasta ahora no ha sido explorado el ADNmt circulante y su relación con el déficit cognitivo en



esquizofrenia. Sin embargo, en otras patologías neurodegenerativas se ha confirmado una conexión entre el ADNmt y el deterioro cognitivo. En líquido cefalorraquídeo de pacientes con enfermedad de Parkinson, se han observado niveles aumentados de ADNmt libre, el cual se asocia a un mayor grado de deterioro cognitivo ([Lowes, Pyle, Santibanez-Koref, y Hudson, 2020](#)). Asimismo, Pérez-Santiago *et al* (2016), identificaron una fuerte correlación positiva entre el ADNmt libre en líquido cefalorraquídeo y déficit cognitivo de pacientes infectados con VIH ([Perez-Santiago et al., 2016](#)). Es probable que el ADNmt no esté relacionado al déficit cognitivo de nuestros pacientes debido a diversos factores, entre ellos, la evaluación del déficit cognitivo por medio de un solo instrumento. La escala MoCA empleada en este estudio, también es frecuentemente utilizada por neurólogos y psiquiatras para el tamizaje de deficiencias neurocognitivas, unas de sus ventajas es que su aplicación no requiere de más de 30 minutos y ha demostrado ser más sensible (90%) que otras escalas (Mini Mental State Examination–MMSE) para detectar deficiencias leves ([Lorena Rodríguez-Bores Ramírez, 2014](#)). Sin embargo, MoCA solo nos brinda información del estado cognitivo global del paciente, por lo que es necesario realizar pruebas neuropsicológicas más completas que permitan identificar de manera específica las funciones cognitivas dañadas. Además, posiblemente no se encontraron diferencias significativas en el número de copias entre pacientes debido al método de cuantificación. Ye *et al* (2017), han sugerido que la cuantificación de ADNmt libre en plasma por medio de PCR pierde sensibilidad cuando los niveles de ADNmt son muy bajos ([Ye et al., 2017](#)). En el futuro, debería considerarse la



cuantificación del ADNmt intra y extracelular. Además, cabe señalar que dependiendo el mecanismo de liberación del ADNmt, los fragmentos varían en tamaño. Justamente, se ha reportado que el tamaño de los fragmentos de ADNmt varía desde 40-170 pares de bases; esto los hace considerablemente más pequeños que los fragmentos de ADN nuclear libre ([Aucamp et al., 2018](#); [Meddeb et al., 2019](#)).

Finalmente, entre las limitaciones de estudio se encuentran: a) diseño transversal: solo tuvimos acceso a los niveles de ADNmt circulante al momento del estudio. Se requiere de más estudios longitudinales que permitan evaluar los posibles cambios de ADNmt a través del tiempo; b) uso de una sola escala (MoCA) para determinar el grado de déficit cognitivo: al no corroborarse el déficit con baterías neuropsicológicas podríamos estar considerando falsos positivos, o bien, se requiere de un análisis más profundo que determine no solo el grado de déficit basándose en un puntaje si no una clasificación más global, contemplando las diferentes áreas que pueden estar afectadas; c) cuantificación de ADNmt intracelular, estado inflamatorio y tratamiento antipsicótico: no formaron parte de los objetivos del estudio. No obstante, deberían ser consideradas variables de interés en futuras investigaciones.



8. Conclusión

Este es el primer estudio en analizar la asociación entre el ADNmt libre en plasma y el déficit cognitivo de pacientes con esquizofrenia en población mexicana. Sin embargo, son necesarios más estudios que evalúen y comparen las concentraciones de ADNmt en diferentes etapas de la enfermedad, así como ADNmt intracelular y plasmático con el objetivo de buscar otras posibles asociaciones.

El desempeño cognitivo en estos pacientes está influenciado por la intensidad de los síntomas mas no por la presencia de ADNmt circulante en plasma. La aplicación de la escala MoCA es útil para el tamizaje de déficit cognitivo en pacientes con esquizofrenia, sus características permiten identificar déficits en cada una de las áreas cognitivas que evalúa. Por lo tanto, el uso de esta escala de manera rutinaria aportará un mejor conocimiento de la evolución de los síntomas cognitivos a lo largo de la enfermedad, ya que estos influyen en la calidad de vida y el pronóstico de la enfermedad.



9. Referencias

- Albus, M., Hubmann, W., Mohr, F., Hecht, S., Hinterberger-Weber, P., Seitz, N. N., & Kuchenhoff, H. (2006). Neurocognitive functioning in patients with first-episode schizophrenia : results of a prospective 5-year follow-up study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 256(7), 442-451. doi:10.1007/s00406-006-0667-1
- An, Q., Hu, Y., Li, Q., Chen, X., Huang, J., Pellegrini, M., . . . Fan, G. (2019). The size of cell-free mitochondrial DNA in blood is inversely correlated with tumor burden in cancer patients. *Precis Clin Med*, 2(3), 131-139. doi:10.1093/pcmedi/pbz014
- Andreazza, A. C., & Nierenberg, A. A. (2018). Mitochondrial Dysfunction: At the Core of Psychiatric Disorders? *Biol Psychiatry*, 83(9), 718-719. doi:10.1016/j.biopsych.2018.03.004
- Angajala, A., Lim, S., Phillips, J. B., Kim, J. H., Yates, C., You, Z., & Tan, M. (2018). Diverse Roles of Mitochondria in Immune Responses: Novel Insights Into Immuno-Metabolism. *Front Immunol*, 9, 1605. doi:10.3389/fimmu.2018.01605
- Aucamp, J., Bronkhorst, A. J., Badenhorst, C. P. S., & Pretorius, P. J. (2018). The diverse origins of circulating cell-free DNA in the human body: a critical re-evaluation of the literature. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 93(3), 1649-1683. doi:10.1111/brv.12413
- Bermudez-Guzman, L., & Leal, A. (2019). DNA repair deficiency in neuropathogenesis: when all roads lead to mitochondria. *Transl Neurodegener*, 8, 14. doi:10.1186/s40035-019-0156-x
- Birur, B., Kraguljac, N. V., Shelton, R. C., & Lahti, A. C. (2017). Brain structure, function, and neurochemistry in schizophrenia and bipolar disorder-a systematic review of the magnetic resonance neuroimaging literature. *NPJ Schizophr*, 3, 15. doi:10.1038/s41537-017-0013-9
- Brisch, R., Saniotis, A., Wolf, R., Biela, H., Bernstein, H. G., Steiner, J., . . . Gos, T. (2014). The role of dopamine in schizophrenia from a neurobiological and evolutionary perspective: old fashioned, but still in vogue. *Front Psychiatry*, 5, 47. doi:10.3389/fpsy.2014.00047
- Caletti, E., Marotta, G., Del Vecchio, G., Paoli, R. A., Cigliobianco, M., Prunas, C., . . . Altamura, A. C. (2017). The metabolic basis of cognitive insight in psychosis: A positron emission tomography study. *PLoS One*, 12(4), e0175803. doi:10.1371/journal.pone.0175803
- Cannon-Spoor, H. E., Potkin, S. G., & Wyatt, R. J. (1982). Measurement of premorbid adjustment in chronic schizophrenia. *Schizophr Bull*, 8(3), 470-484.
- Carbon, M., & Correll, C. U. (2014). Thinking and acting beyond the positive: the role of the cognitive and negative symptoms in schizophrenia. *CNS Spectr*, 19 Suppl 1, 38-52; quiz 35-37, 53. doi:10.1017/S1092852914000601
- Cline, S. D. (2012). Mitochondrial DNA damage and its consequences for mitochondrial gene expression. *Biochim Biophys Acta*, 1819(9-10), 979-991. doi:10.1016/j.bbagr.2012.06.002
- Cuperfain, A. B., Zhang, Z. L., Kennedy, J. L., & Goncalves, V. F. (2018). The Complex Interaction of Mitochondrial Genetics and Mitochondrial Pathways in Psychiatric Disease. *Mol Neuropsychiatry*, 4(1), 52-69. doi:10.1159/000488031
- Charlson, F. J., Ferrari, A. J., Santomauro, D. F., Diminic, S., Stockings, E., Scott, J. G., . . . Whiteford, H. A. (2018). Global Epidemiology and Burden of Schizophrenia: Findings From the Global Burden of Disease Study 2016. *Schizophr Bull*. doi:10.1093/schbul/sby058
- Chen, L., Selvendra, A., Stewart, A., & Castle, D. (2018). Risk factors in early and late onset schizophrenia. *Compr Psychiatry*, 80, 155-162. doi:10.1016/j.comppsy.2017.09.009
- Chestkov, I. V., Jestkova, E. M., Ershova, E. S., Golimbet, V. G., Lezheiko, T. V., Kolesina, N. Y., . . . Kostyuk, S. V. (2018). ROS-Induced DNA Damage Associates with Abundance of



- Mitochondrial DNA in White Blood Cells of the Untreated Schizophrenic Patients. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 8587475. doi:10.1155/2018/8587475
- Chinnery, P. F., & Hudson, G. (2013). Mitochondrial genetics. *Br Med Bull*, 106, 135-159. doi:10.1093/bmb/ldt017
- Choo, C. C., Chew, P. K. H., Ho, C. S., & Ho, R. C. (2017). Prediction of Quality of Life in Asian Patients with Schizophrenia: A Cross-sectional Pilot Study. *Front Psychiatry*, 8, 198. doi:10.3389/fpsyt.2017.00198
- D'Arcy, M. S. (2019). Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int*, 43(6), 582-592. doi:10.1002/cbin.11137
- DeBalsi, K. L., Hoff, K. E., & Copeland, W. C. (2017). Role of the mitochondrial DNA replication machinery in mitochondrial DNA mutagenesis, aging and age-related diseases. *Ageing Res Rev*, 33, 89-104. doi:10.1016/j.arr.2016.04.006
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*, 35(4), 495-516. doi:10.1080/01926230701320337
- Emsley, R., Chiliza, B., Asmal, L., & Harvey, B. H. (2013). The nature of relapse in schizophrenia. *BMC Psychiatry*, 13, 50. doi:10.1186/1471-244X-13-50
- Emsley, R., Rabinowitz, J., Torreman, M., & Group, R.-I.-E. P. G. W. (2003). The factor structure for the Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) in recent-onset psychosis. *Schizophr Res*, 61(1), 47-57.
- Faust, H. E., Reilly, J. P., Anderson, B. J., Ittner, C. A. G., Foraker, C. M., Zhang, P., . . . Shashaty, M. G. S. (2020). Plasma Mitochondrial DNA Levels Are Associated With ARDS in Trauma and Sepsis Patients. *Chest*, 157(1), 67-76. doi:10.1016/j.chest.2019.09.028
- Fjukstad, K. K., Engum, A., Lydersen, S., Dieset, I., Steen, N. E., Andreassen, O. A., & Spigset, O. (2018). Metabolic risk factors in schizophrenia and bipolar disorder: The effect of comedication with selective serotonin reuptake inhibitors and antipsychotics. *Eur Psychiatry*, 48, 71-78. doi:10.1016/j.eurpsy.2017.04.001
- Fountoulakis, K. N., Gonda, X., Siamouli, M., Panagiotidis, P., Moutou, K., Nimatoudis, I., & Kasper, S. (2018). Paternal and maternal age as risk factors for schizophrenia: a case-control study. *Int J Psychiatry Clin Pract*, 22(3), 170-176. doi:10.1080/13651501.2017.1391292
- Fourrier, C., Singhal, G., & Baune, B. T. (2019). Neuroinflammation and cognition across psychiatric conditions. *CNS Spectr*, 24(1), 4-15. doi:10.1017/S1092852918001499
- Gambardella, S., Limanaqi, F., Ferese, R., Biagioni, F., Campopiano, R., Centonze, D., & Fornai, F. (2019). ccf-mtDNA as a Potential Link Between the Brain and Immune System in Neuro-Immunological Disorders. *Front Immunol*, 10, 1064. doi:10.3389/fimmu.2019.01064
- Grassi, S., Orsenigo, G., Serati, M., Caletti, E., Altamura, A. C., & Buoli, M. (2017). Cognitive correlates of neuroimaging abnormalities in the onset of schizophrenia: A case report. *World J Psychiatry*, 7(2), 128-132. doi:10.5498/wjp.v7.i2.128
- Hasson-Ohayon, I., Goldzweig, G., Lavi-Rotenberg, A., Luther, L., & Lysaker, P. H. (2018). The centrality of cognitive symptoms and metacognition within the interacting network of symptoms, neurocognition, social cognition and metacognition in schizophrenia. *Schizophr Res*. doi:10.1016/j.schres.2018.07.007
- Hoekstra, J. G., Hipp, M. J., Montine, T. J., & Kennedy, S. R. (2016). Mitochondrial DNA mutations increase in early stage Alzheimer disease and are inconsistent with oxidative damage. *Ann Neurol*, 80(2), 301-306. doi:10.1002/ana.24709
- Hor, K., & Taylor, M. (2010). Suicide and schizophrenia: a systematic review of rates and risk factors. *J Psychopharmacol*, 24(4 Suppl), 81-90. doi:10.1177/1359786810385490



- Jahshan, C., Heaton, R. K., Golshan, S., & Cadenhead, K. S. (2010). Course of neurocognitive deficits in the prodrome and first episode of schizophrenia. *Neuropsychology, 24*(1), 109-120. doi:10.1037/a0016791
- Kageyama, Y., Kasahara, T., Kato, M., Sakai, S., Deguchi, Y., Tani, M., . . . Kato, T. (2018). The relationship between circulating mitochondrial DNA and inflammatory cytokines in patients with major depression. *J Affect Disord, 233*, 15-20. doi:10.1016/j.jad.2017.06.001
- Kane, J. M. (2007). Treatment strategies to prevent relapse and encourage remission. *J Clin Psychiatry, 68 Suppl 14*, 27-30.
- Kasahara, T., & Kato, T. (2018). What Can Mitochondrial DNA Analysis Tell Us About Mood Disorders? *Biol Psychiatry, 83*(9), 731-738. doi:10.1016/j.biopsych.2017.09.010
- Kaskie, R. E., Graziano, B., & Ferrarelli, F. (2017). Schizophrenia and sleep disorders: links, risks, and management challenges. *Nat Sci Sleep, 9*, 227-239. doi:10.2147/NSS.S121076
- Kilian, S., Burns, J. K., Seedat, S., Asmal, L., Chiliza, B., Du Plessis, S., . . . Emsley, R. (2017). Factors Moderating the Relationship Between Childhood Trauma and Premorbid Adjustment in First-Episode Schizophrenia. *PLoS One, 12*(1), e0170178. doi:10.1371/journal.pone.0170178
- Kumar, P., Efstathopoulos, P., Millischer, V., Olsson, E., Wei, Y. B., Brustle, O., . . . Lavebratt, C. (2018). Mitochondrial DNA copy number is associated with psychosis severity and anti-psychotic treatment. *Sci Rep, 8*(1), 12743. doi:10.1038/s41598-018-31122-0
- Leon, S. A., Shapiro, B., Sklaroff, D. M., & Yaros, M. J. (1977). Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res, 37*(3), 646-650.
- Li, Z., Hu, M., Zong, X., He, Y., Wang, D., Dai, L., . . . Tang, J. (2015). Association of telomere length and mitochondrial DNA copy number with risperidone treatment response in first-episode antipsychotic-naïve schizophrenia. *Sci Rep, 5*, 18553. doi:10.1038/srep18553
- Lin, C. H., Huang, C. L., Chang, Y. C., Chen, P. W., Lin, C. Y., Tsai, G. E., & Lane, H. Y. (2013). Clinical symptoms, mainly negative symptoms, mediate the influence of neurocognition and social cognition on functional outcome of schizophrenia. *Schizophr Res, 146*(1-3), 231-237. doi:10.1016/j.schres.2013.02.009
- Lindqvist, D., Fernstrom, J., Grudet, C., Ljunggren, L., Traskman-Bendz, L., Ohlsson, L., & Westrin, A. (2016). Increased plasma levels of circulating cell-free mitochondrial DNA in suicide attempters: associations with HPA-axis hyperactivity. *Transl Psychiatry, 6*(12), e971. doi:10.1038/tp.2016.236
- Loch, A. A. (2019). Schizophrenia, Not a Psychotic Disorder: Bleuler Revisited. *Front Psychiatry, 10*, 328. doi:10.3389/fpsy.2019.00328
- Lorena Rodríguez-Bores Ramírez, R. S.-Á., Raúl Escamilla-Orozco, Ana Fresán Orellana. (2014). Validez de la Escala de Evaluación Cognitiva de Montreal (MoCA) para determinar deterioro cognitivo en pacientes con esquizofrenia. *Salud Mental, 517-522*.
- Lowes, H., Pyle, A., Santibanez-Koref, M., & Hudson, G. (2020). Circulating cell-free mitochondrial DNA levels in Parkinson's disease are influenced by treatment. *Mol Neurodegener, 15*(1), 10. doi:10.1186/s13024-020-00362-y
- Mandel, P., & Metais, P. (1948). Les acides nucléiques du plasma sanguin chez l'homme. *C R Seances Soc Biol Fil, 142*(3-4), 241-243.
- Mantovani, L. M., Teixeira, A. L., & Salgado, J. V. (2015). Functional capacity: a new framework for the assessment of everyday functioning in schizophrenia. *Braz J Psychiatry, 37*(3), 249-255. doi:10.1590/1516-4446-2014-1551
- McAfoose, J., & Baune, B. T. (2009). Evidence for a cytokine model of cognitive function. *Neurosci Biobehav Rev, 33*(3), 355-366. doi:10.1016/j.neubiorev.2008.10.005



- McCleery, A., & Nuechterlein, K. H. (2019). Cognitive impairment in psychotic illness: prevalence, profile of impairment, developmental course, and treatment considerations. *Dialogues Clin Neurosci*, 21(3), 239-248. doi:10.31887/DCNS.2019.21.3/amccleery
- Meddeb, R., Dache, Z. A. A., Thezenas, S., Otandault, A., Tanos, R., Pastor, B., . . . Thierry, A. R. (2019). Quantifying circulating cell-free DNA in humans. *Sci Rep*, 9(1), 5220. doi:10.1038/s41598-019-41593-4
- Medici, C. R., Vestergaard, C. H., Hjorth, P., Hansen, M. V., Shanmuganathan, J. W., Viuff, A. G., & Munk-Jorgensen, P. (2016). Quality of life and clinical characteristics in a nonselected sample of patients with schizophrenia. *Int J Soc Psychiatry*, 62(1), 12-20. doi:10.1177/0020764015585330
- Morin, L., & Franck, N. (2017). Rehabilitation Interventions to Promote Recovery from Schizophrenia: A Systematic Review. *Front Psychiatry*, 8, 100. doi:10.3389/fpsyt.2017.00100
- Muller, N., Weidinger, E., Leitner, B., & Schwarz, M. J. (2015). The role of inflammation in schizophrenia. *Front Neurosci*, 9, 372. doi:10.3389/fnins.2015.00372
- Na, K. S., Jung, H. Y., & Kim, Y. K. (2014). The role of pro-inflammatory cytokines in the neuroinflammation and neurogenesis of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 48, 277-286. doi:10.1016/j.pnpbp.2012.10.022
- Nakayama, H., & Otsu, K. (2018). Mitochondrial DNA as an inflammatory mediator in cardiovascular diseases. *Biochem J*, 475(5), 839-852. doi:10.1042/BCJ20170714
- Naoi, M., Wu, Y., Shamoto-Nagai, M., & Maruyama, W. (2019). Mitochondria in Neuroprotection by Phytochemicals: Bioactive Polyphenols Modulate Mitochondrial Apoptosis System, Function and Structure. *Int J Mol Sci*, 20(10). doi:10.3390/ijms20102451
- Oka, T., Hikoso, S., Yamaguchi, O., Taneike, M., Takeda, T., Tamai, T., . . . Otsu, K. (2012). Mitochondrial DNA that escapes from autophagy causes inflammation and heart failure. *Nature*, 485(7397), 251-255. doi:10.1038/nature10992
- Olivero, P., Lozano, C., Sotomayor-Zarate, R., Meza-Concha, N., Arancibia, M., Cordova, C., . . . Marchant, I. (2018). Proteostasis and Mitochondrial Role on Psychiatric and Neurodegenerative Disorders: Current Perspectives. *Neural Plast*, 2018, 6798712. doi:10.1155/2018/6798712
- Owen, M. J., Sawa, A., & Mortensen, P. B. (2016). Schizophrenia. *Lancet*, 388(10039), 86-97. doi:10.1016/S0140-6736(15)01121-6
- Perez-Santiago, J., Schrier, R. D., de Oliveira, M. F., Gianella, S., Var, S. R., Day, T. R., . . . Mehta, S. R. (2016). Cell-free mitochondrial DNA in CSF is associated with early viral rebound, inflammation, and severity of neurocognitive deficits in HIV infection. *J Neurovirol*, 22(2), 191-200. doi:10.1007/s13365-015-0384-5
- Petschner, P., Gonda, X., Baksa, D., Eszlari, N., Trivaks, M., Juhasz, G., & Bagdy, G. (2018). Genes Linking Mitochondrial Function, Cognitive Impairment and Depression are Associated with Endophenotypes Serving Precision Medicine. *Neuroscience*, 370, 207-217. doi:10.1016/j.neuroscience.2017.09.049
- Picca, A., Lezza, A. M. S., Leeuwenburgh, C., Pesce, V., Calvani, R., Bossola, M., . . . Marzetti, E. (2018). Circulating Mitochondrial DNA at the Crossroads of Mitochondrial Dysfunction and Inflammation During Aging and Muscle Wasting Disorders. *Rejuvenation Res*, 21(4), 350-359. doi:10.1089/rej.2017.1989
- Pickles, S., Vigie, P., & Youle, R. J. (2018). Mitophagy and Quality Control Mechanisms in Mitochondrial Maintenance. *Curr Biol*, 28(4), R170-R185. doi:10.1016/j.cub.2018.01.004



- Pinho, L. G., Pereira, A., & Chaves, C. (2017). Influence of sociodemographic and clinical characteristics on the quality of life of patients with schizophrenia. *Rev Esc Enferm USP*, *51*, e03244. doi:10.1590/S1980-220X2016031903244
- Pugliese, V., Bruni, A., Carbone, E. A., Calabro, G., Cerminara, G., Sampogna, G., . . . De Fazio, P. (2019). Maternal stress, prenatal medical illnesses and obstetric complications: Risk factors for schizophrenia spectrum disorder, bipolar disorder and major depressive disorder. *Psychiatry Res*, *271*, 23-30. doi:10.1016/j.psychres.2018.11.023
- Pyle, A., Brennan, R., Kurzawa-Akanbi, M., Yarnall, A., Thouin, A., Mollenhauer, B., . . . Hudson, G. (2015). Reduced cerebrospinal fluid mitochondrial DNA is a biomarker for early-stage Parkinson's disease. *Ann Neurol*, *78*(6), 1000-1004. doi:10.1002/ana.24515
- Rajasekaran, A., Venkatasubramanian, G., Berk, M., & Debnath, M. (2015). Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: pathways, mechanisms and implications. *Neurosci Biobehav Rev*, *48*, 10-21. doi:10.1016/j.neubiorev.2014.11.005
- Reichenberg, A., Caspi, A., Harrington, H., Houts, R., Keefe, R. S., Murray, R. M., . . . Moffitt, T. E. (2010). Static and dynamic cognitive deficits in childhood preceding adult schizophrenia: a 30-year study. *Am J Psychiatry*, *167*(2), 160-169. doi:10.1176/appi.ajp.2009.09040574
- Ricchetti, M. (2018). Replication stress in mitochondria. *Mutat Res*, *808*, 93-102. doi:10.1016/j.mrfmmm.2018.01.005
- Rodriguez-Nuevo, A., & Zorzano, A. (2019). The sensing of mitochondrial DAMPs by non-immune cells. *Cell Stress*, *3*(6), 195-207. doi:10.15698/cst2019.06.190
- Rose, J., Brian, C., Woods, J., Pappa, A., Panayiotidis, M. I., Powers, R., & Franco, R. (2017). Mitochondrial dysfunction in glial cells: Implications for neuronal homeostasis and survival. *Toxicology*, *391*, 109-115. doi:10.1016/j.tox.2017.06.011
- Seidman, L. J., & Mirsky, A. F. (2017). Evolving Notions of Schizophrenia as a Developmental Neurocognitive Disorder. *J Int Neuropsychol Soc*, *23*(9-10), 881-892. doi:10.1017/S1355617717001114
- Sequeira, A., Rollins, B., Magnan, C., van Oven, M., Baldi, P., Myers, R. M., . . . Vawter, M. P. (2015). Mitochondrial mutations in subjects with psychiatric disorders. *PLoS One*, *10*(5), e0127280. doi:10.1371/journal.pone.0127280
- Shon, S. H., Yoon, W., Kim, H., Joo, S. W., Kim, Y., & Lee, J. (2018). Deterioration in Global Organization of Structural Brain Networks in Schizophrenia: A Diffusion MRI Tractography Study. *Front Psychiatry*, *9*, 272. doi:10.3389/fpsy.2018.00272
- Silzer, T., Barber, R., Sun, J., Pathak, G., Johnson, L., O'Bryant, S., & Phillips, N. (2019). Circulating mitochondrial DNA: New indices of type 2 diabetes-related cognitive impairment in Mexican Americans. *PLoS One*, *14*(3), e0213527. doi:10.1371/journal.pone.0213527
- Stewart, J. B., & Chinnery, P. F. (2015). The dynamics of mitochondrial DNA heteroplasmy: implications for human health and disease. *Nat Rev Genet*, *16*(9), 530-542. doi:10.1038/nrg3966
- Strassnig, M. T., Raykov, T., O'Gorman, C., Bowie, C. R., Sabbag, S., Durand, D., . . . Harvey, P. D. (2015). Determinants of different aspects of everyday outcome in schizophrenia: The roles of negative symptoms, cognition, and functional capacity. *Schizophr Res*, *165*(1), 76-82. doi:10.1016/j.schres.2015.03.033
- Suarez-Mendez, S., Tovilla-Zarate, C. A., Juarez-Rojop, I. E., & Bermudez-Ocana, D. Y. (2018). Erythropoietin: A potential drug in the management of diabetic neuropathy. *Biomed Pharmacother*, *105*, 956-961. doi:10.1016/j.biopha.2018.06.068
- Tan, E. M., Schur, P. H., Carr, R. I., & Kunkel, H. G. (1966). Deoxybonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest*, *45*(11), 1732-1740. doi:10.1172/JCI105479



- Taylor, M., & Jauhar, S. (2019). Are we getting any better at staying better? The long view on relapse and recovery in first episode nonaffective psychosis and schizophrenia. *Ther Adv Psychopharmacol*, 9, 2045125319870033. doi:10.1177/2045125319870033
- Thierry, A. R., El Messaoudi, S., Gahan, P. B., Anker, P., & Stroun, M. (2016). Origins, structures, and functions of circulating DNA in oncology. *Cancer Metastasis Rev*, 35(3), 347-376. doi:10.1007/s10555-016-9629-x
- Thurairajah, K., Briggs, G. D., & Balogh, Z. J. (2018). The source of cell-free mitochondrial DNA in trauma and potential therapeutic strategies. *Eur J Trauma Emerg Surg*, 44(3), 325-334. doi:10.1007/s00068-018-0954-3
- Trumpff, C., Marsland, A. L., Basualto-Alarcon, C., Martin, J. L., Carroll, J. E., Sturm, G., . . . Picard, M. (2019). Acute psychological stress increases serum circulating cell-free mitochondrial DNA. *Psychoneuroendocrinology*, 106, 268-276. doi:10.1016/j.psyneuen.2019.03.026
- Tuboly, E., McLlroy, D., Briggs, G., Lott, N., & Balogh, Z. J. (2017). Clinical implications and pathological associations of circulating mitochondrial DNA. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 22, 1011-1022. doi:10.2741/4530
- Valiente-Palleja, A., Torrell, H., Alonso, Y., Vilella, E., Muntane, G., & Martorell, L. (2020). Increased blood lactate levels during exercise and mitochondrial DNA alterations converge on mitochondrial dysfunction in schizophrenia. *Schizophr Res*. doi:10.1016/j.schres.2020.03.070
- van Mierlo, H. C., Schot, A., Boks, M. P. M., & de Witte, L. D. (2019). The association between schizophrenia and the immune system: Review of the evidence from unbiased 'omic-studies'. *Schizophr Res*. doi:10.1016/j.schres.2019.05.028
- Yang, Z., Abdul Rashid, N. A., Quek, Y. F., Lam, M., See, Y. M., Maniam, Y., . . . Lee, J. (2018). Montreal Cognitive Assessment as a screening instrument for cognitive impairments in schizophrenia. *Schizophr Res*. doi:10.1016/j.schres.2018.03.008
- Ye, W., Tang, X., Liu, C., Wen, C., Li, W., & Lyu, J. (2017). Accurate quantitation of circulating cell-free mitochondrial DNA in plasma by droplet digital PCR. *Anal Bioanal Chem*, 409(10), 2727-2735. doi:10.1007/s00216-017-0217-x
- Youle, R. J., & Narendra, D. P. (2011). Mechanisms of mitophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 12(1), 9-14. doi:10.1038/nrm3028
- Yu, M. (2012). Circulating cell-free mitochondrial DNA as a novel cancer biomarker: opportunities and challenges. *Mitochondrial DNA*, 23(5), 329-332. doi:10.3109/19401736.2012.696625
- Zanelli, J., Mollon, J., Sandin, S., Morgan, C., Dazzan, P., Pilecka, I., . . . Reichenberg, A. (2019). Cognitive Change in Schizophrenia and Other Psychoses in the Decade Following the First Episode. *Am J Psychiatry*, 176(10), 811-819. doi:10.1176/appi.ajp.2019.18091088
- Zanello, A., Curtis, L., Badan Ba, M., & Merlo, M. C. (2009). Working memory impairments in first-episode psychosis and chronic schizophrenia. *Psychiatry Res*, 165(1-2), 10-18. doi:10.1016/j.psychres.2007.10.006
- Zhang, M., Zheng, J., Nussinov, R., & Ma, B. (2017). Release of Cytochrome C from Bax Pores at the Mitochondrial Membrane. *Sci Rep*, 7(1), 2635. doi:10.1038/s41598-017-02825-7
- Zhang, Z., Zhang, R., Qin, P., & Tan, L. (2018). Cognitive dysfunction and negative symptoms in patients with schizophrenia and their first-degree relatives from simplex and multiplex families. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 14, 3339-3348. doi:10.2147/NDT.S179534
- Zheng, P., Chen, Q., Tian, X., Qian, N., Chai, P., Liu, B., . . . Chen, J. (2018). DNA damage triggers tubular endoplasmic reticulum extension to promote apoptosis by facilitating ER-mitochondria signaling. *Cell Res*, 28(8), 833-854. doi:10.1038/s41422-018-0065-z
- Zhong, S., Ng, M. C., Lo, Y. M., Chan, J. C., & Johnson, P. J. (2000). Presence of mitochondrial tRNA(Leu(UUR)) A to G 3243 mutation in DNA extracted from serum and plasma of



patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Pathol*, 53(6), 466-469.

doi:10.1136/jcp.53.6.466

Zhu, Y., Womer, F. Y., Leng, H., Chang, M., Yin, Z., Wei, Y., . . . Wang, F. (2019). The Relationship Between Cognitive Dysfunction and Symptom Dimensions Across Schizophrenia, Bipolar Disorder, and Major Depressive Disorder. *Front Psychiatry*, 10, 253.

doi:10.3389/fpsy.2019.00253

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.



10. Anexos

Neuropsychiatric Disease and Treatment

Dovepress

open access to scientific and medical research

Open Access Full Text Article

STUDY PROTOCOL

Association between mitochondrial DNA and cognitive impairment in schizophrenia: study protocol for a Mexican population

This article was published in the following Dove Press journal:
Neuropsychiatric Disease and Treatment

Neuropsychiatric Disease and Treatment downloaded from https://www.dovepress.com/ by 187.154.216.78 on 16-Jul-2019
For personal use only.

Dulce Dalheanne García-de la Cruz,^{1,2} Iela Esther Juárez-Rojop,¹ Carlos Alfonso Tovilla-Zárate,³ José Jaime Martínez-Magaña,^{1,4} Alma Delia Genis-Mendoza,^{4,5} Humberto Nicolini,⁴ Thelma Beatriz González-Castro,^{1,4} Crystell Guadalupe Guzmán-Priego,¹ Nancy Adanely López-Martínez,^{1,2} Javier Antonio Hernández-Cineros,¹ Francisco Caballero-Prado⁷

¹División Académica de Ciencias de la Salud, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, Mexico; ²Investigación y Enseñanza, Hospital Regional de Alta Especialidad de Salud Mental, Villahermosa, Tabasco, Mexico; ³División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, Mexico; ⁴Laboratorio de Enfermedades Psiquiátricas y Neurodegenerativas, Instituto Nacional de Medicina Genómica, Mexico City, Mexico; ⁵Hospital Psiquiátrico Infantil "Dr. Juan N. Navarro", Mexico City, Mexico; ⁶División Académica Multidisciplinaria de Jalpa de Méndez, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Jalpa de Méndez, Tabasco, Mexico; ⁷Servicio de Salud Mental, Hospital Regional de Alta Especialidad "Dr. Juan Galván Casasola", Villahermosa, Tabasco, Mexico

Background: Circulating cell-free mitochondrial DNA (cf-mtDNA) fragments in blood plasma have been reported in patients with schizophrenia (SZ). Although the relationship of cf-mtDNA to the cognitive status of patients with SZ has not yet been explored, it is known that cognitive impairment in SZ compromises the functional and social capacity of these patients and diminishes their quality of life. In this sense, the assessment of the severity of cognitive impairment in a Mexican population with SZ and its association with cf-mtDNA levels in blood plasma may provide the possibility of using cf-mtDNA as a biomarker to determine the status of the disease and the possible ensuing changes over time.

Methods: Subjects for a case-control study will be recruited. cf-mtDNA obtained from blood plasma will be quantified by real-time polymerase chain reaction, using melting curve technology with SYBR green as amplification marker. Patients with SZ will be grouped into those with severe, mild, and no cognitive impairment according to Montreal Cognitive Assessment scale scores, to determine differences between cognitive performance and cf-mtDNA levels in blood plasma.

Ethics and communication: This study has been approved by the ethics and investigation committees of the High Specialty Regional Hospital of Mental Health (Hospital Regional de Alta Especialidad de Salud Mental); project No. HRAESMEDG/PR/1128/2018. We plan to communicate our research findings in scientific conferences and in peer-reviewed journals.

Conclusion: It is known that cognitive dysfunction provokes negative effects in an SZ patient's life. This project aims to provide better knowledge about the role of cf-mtDNA in the pathogenesis of cognitive impairment in SZ, as an attempt to achieve improvements to the existing treatments, thereby helping to prevent major cognitive deterioration.

Keywords: schizophrenia, cognitive impairment, mitochondrial dysfunction, mitochondrial DNA, neurodegeneration

Correspondence: Alma Delia Genis-Mendoza
Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN), Servicios de Atención Psiquiátrica (SAP), Periférico Sur 4809, Aronal Tepepan, Mexico City 14610, Mexico
Tel +52 555 350 1900
Email adgenis@inmegen.gob.mx

Introduction

Among the diversity of clinical symptoms exhibited by patients with schizophrenia (SZ), cognitive impairment worsens with the onset of the first psychotic episode. This symptom has been reported to start on earlier phases of the disease as abnormalities in social behavior and academic performance in childhood or early adolescence. Hence, the normal development of these patients will be prevented and will affect their everyday functioning in adulthood.¹⁻⁵ In this regard, several studies have estimated a low remission rate of symptoms, approximately 13.5% as upper limit. On the other hand, cognitive impairment is associated with a bad life prognosis, which compromises

submit your manuscript | www.dovepress.com

Dovepress |
https://doi.org/10.21973/2019.15

Neuropsychiatric Disease and Treatment 2019:15 1717-1722

1717

© 2019 García-de la Cruz et al. This work is published and licensed by Dove Medical Press Limited. The full terms of this license are available at <http://www.dovepress.com/terms-and-conditions> and incorporate the Creative Commons Attribution – Non Commercial (unported, v4.0) license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). By accessing the work you hereby accept the Terms. For commercial use of this work, please contact permissions@dovepress.com, provided the work is properly attributed. For permission to commercial use of this work, please see paragraphs 42 and 43 of our Terms (<http://www.dovepress.com/terms-and-conditions>).



the functional and social capacity of these subjects and diminishes their quality of life. As a result, several studies with multivariate approaches have been undertaken to get a better understanding of the role of cognitive impairment in SZ. Among the multiple factors involved, there is some evidence of differences between mtDNA copy number from whole blood in patients with SZ compared to healthy subjects.^{7,8} Moreover, circulating cell-free mtDNA (cf-mtDNA) fragments in blood plasma have also been reported in patients with mood disorders and SZ.⁹ However, their association with the cognitive status of patients with SZ has not yet been explored. Quantification of the number of copies of cf-mtDNA in plasma of these patients according to their cognitive status may provide the possibility of using cf-mtDNA as a biomarker for a better assessment of the status of the disease and the possible changes that will ensue over time. In addition, better strategies of treatment may be promoted to prevent progressive deterioration of these patients.

Objective

Our aim is to assess the severity of cognitive impairment in a Mexican population with SZ and to evaluate its association with cf-mtDNA levels in blood plasma, so that cf-mtDNA could be used as a possible biomarker to prevent a major deterioration of schizophrenic patients.

Methods and analysis

Participants

Patients with the previous diagnosis of SZ established by a psychiatrist in accordance with the DSM-5 instrument will be recruited from the High Specialty Regional Hospital of Mental Health in the city of Villahermosa, Tabasco, Mexico. These subjects will conform the case group ($n=100$). Alternatively, a control group ($n=100$) will be integrated by healthy subjects with no clinical history of psychiatric, neurological, or clinical disease and will be recruited from the Blood Donor Center of the General Hospital of Comalcalco, in Comalcalco, Tabasco. Subjects included in both groups will be matched by gender and age (range of 18–60 years of age).¹⁰ Given that medication is known to affect cognition, only patients taking no medication will be included. Patients with vascular risk factors such as type 2 diabetes or coronary heart diseases, as well as subjects with acute psychosis, psychotic disorder of toxic origin, neurovascular disease, dementia or moderate to severe brain injury, analphabets, or persons with any intellectual or physical incapacity will be excluded from the study.

Ethics and reach out

All subjects who decide to participate in the study should declare their acceptance in a written informed consent. The study will be performed according to the Helsinki Declaration (59th General Assembly, Seoul, Korea, October, 2008). This study has been approved by the ethics and research committees of the High Specialty Regional Hospital of Mental Health, project No. HRAESM/DG/RP/1128/2018. We plan to communicate our research findings in scientific conferences and peer-reviewed journals.

Assessments: cognitive impairment

Impairments in executive, visual and spatial functions will be measured with the Montreal Cognitive Assessment scale (MoCA); scores of 26 points or higher represent normal cognitive functioning. One point will be added when the academic level is less than 12 years, in agreement with other authors.¹¹

Premorbid adjustment

The Premorbid Adjustment Scale (PAS) will be used to assess academic and social performance in our subjects prior to the onset of SZ. This scale evaluates five domains – sociability and withdrawal, peer relationships, scholar performance, scholar adaptation, and socio-sexual function –, as well as four distinct periods of a patient's life – childhood, early adolescence, late adolescence, and adulthood. The average of the total PAS varies from 0 to 1; lower scores represent better functioning of patients.^{12,13}

Positive, negative, cognitive, anxiety/ depression, and excitability symptoms

The five-factor positive and negative syndrome scale (PANSS; positive, negative, cognitive, anxiety/depression and excitability factors) will be applied only to the case group. This instrument contains 30 items; each one evaluates the intensity of symptoms with a possible score from 1 to 7. The minimum total score is 30 and the maximum 210.¹⁴

mtDNA extraction and quantification

Whole blood from all the subjects recruited in the present study will be collected in EDTA tubes by venipuncture. Extraction of mtDNA from plasma samples will be performed using the Gentra Puregene Eit (Qiagen, USA), in accordance with the conditions previously established by

Neuropsychiatric Disease and Treatment (2019) 15:1718-1726. doi:10.2197/ndt.2019.151718
For personal use only.



the provider. The isolated DNA will be eluted in 200 μ L Buffer AE and quantified using spectrophotometric analysis at 260/280 nm in a NanoDrop2000 equipment; an electrophoresis analysis will be used for assessing mtDNA quality and quantity. mtDNA will be quantified by the real-time polymerase chain reaction (TaqMan multiplex assay), using the melting curve technology with SYBR green as amplification marker. Fluorescence intensity will be measured with a PCR-rt equipment, Quanta Studio 7 (Termofisher). A standard curve will be created by a dilution series of the purified PCR product from a healthy control subject, who will not be taking part in the present study. Ribonuclease P amplicon will be used as the endogenous reference gene and the mitochondrially encoded NADH, specifically, the Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit 2 (MT-ND2) gene will serve for quantification. The following primers will be used to amplify the mitochondrial encoded NADH, specifically, the Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit 2 (MT-ND2) gene: forward primer: CACACTCATCACAGCGCTAA and reverse primer: GGATTATGGATCCGGTTGCT, as reported by Lindqvist et al.¹⁵ Reaction conditions will be the following: a total volume of 25 μ L per reaction will contain 5 μ L of template, 1 μ L of each primer, 12 μ L SYBR MIX, and 6 μ L of nuclease-free water. As a quality control, the testing will be run once in triplicate reactions. Amplification conditions will be the following: an initial denaturation step at 95°C for 10 mins, 50 10-s cycles at 95°C for denaturation, 10 s at 60 °C as alignment step and an extension step of 11 s at 70°C. Fluorescence intensity will be assessed using a continuous melting curve analysis from 60 °C to 97°C.

Statistical analysis

Epidemiologic differences between the case and control groups will be analyzed with a chi-squared test (X^2) and Student's t-test for categorical and continuous variables, respectively, and represented as mean and standard deviation, and percentage values. According to MoCA scores (≥ 26 are normal values), the case group will be regrouped into severe, mild, and no cognitive impairment. A one-factor ANOVA will be performed for the comparison of cf-mtDNA levels in blood plasma among the three MoCA-scored groups. A comparison of MoCA and PAS scores between genders will be performed to explore the influence of gender in cognitive performance. Pearson's correlation will be carried out for the assessment of the effect of clinical symptoms and

premorbid adjustment (MoCA, PANSS, and PAS scores) on the differences in cf-mtDNA levels in the case group. Due to the possible influence of the age of onset of the first psychotic episode in SZ pathology, we plan to classify patients according to this variable. A step by step logistic regression adjusted by age, gender, and BMI will evaluate the influence of clinical and socio-demographic variables as predictors of changes in cf-mtDNA levels in plasma. We used the G*Power software for the calculation of the sample size. Since this study will include 100 individuals in the study group, the power yielded a value of 82.52%, using the X^2 test and an effect size of 0.3. A p -value <0.05 will be considered significant. All data will be analyzed using the R program.

Discussion

In the last decades, the negative impact of cognitive dysfunction in SZ has been recognized, given its functional and social implications and its effect on the quality of life of individuals.⁴ Nowadays, the information about this association has been evaluated in various European and Asian populations. The findings of this protocol study will generate relevant data for a better understanding of this relationship in the Mexican population. Currently, no information related to this matter is available in this population. It is estimated that more than 75% of the patients with SZ manifest cognitive impairment.¹⁶ Moreover, cognitive dysfunction in SZ usually appears in early phases of the disease and may precede the first psychotic episode.³ The natural course of cognitive symptoms seems to start in childhood or adolescence. In general, 45% of the children who develop SZ are cognitively affected since the age of 7.¹⁷ Longitudinal studies have demonstrated that people who develop SZ show deficits in working memory, attention, language speed, and disturbances in social behavior.¹⁸ It is estimated that the rate of conversion to psychosis is 20–35% when cognitive disturbances are manifest.¹⁹ In addition, cognitive impairment in SZ is associated with structural brain alterations.²⁰ Previously, it has been suggested that the central nervous system susceptibility to mitochondrial damage could be the leading cause of neurodegeneration observed in SZ.²¹ Mitochondrial dysfunction has been linked to structural, functional, and cognitive alterations in the brain.^{22,23} Also, recent findings suggest mitochondrial dysfunction and oxidative stress as triggers of mtDNA release and consequently the participation of mtDNA in neurodegeneration.²⁴ Recent evidence has suggested the involvement of neural inflammation in the cognitive status of patients with SZ.²⁵ Furthermore, it

Neuropsychiatric Disease and Treatment 2019:15
Neuropsychiatric Disease and Treatment
For personal use only.

has been observed that some antipsychotic drugs (ie, clozapine) are toxic to mitochondria and promote inflammation (in-vitro).²⁶ They can cause a decrement in mtDNA copy numbers as shown in whole blood studies of psychotic patients.⁷ Due to the previous evidence, studies consider important to control the influence of medication or have more eligible exclusion criteria in the sample studied.

Despite the scarce information on this matter, some studies have reported mtDNA levels of patients with SZ. Li et al, reported that patients with SZ exhibit lower mtDNA levels in whole blood samples than those of control subjects.⁸ A similar study described a reducing effect of clozapine and risperidone on mtDNA copy numbers.⁷ In this sense, we assume that the importance of mtDNA resides in its predisposition to the accumulation of mutations, capacity to trigger a pro-inflammatory state, and apoptosis (Figure 1). It is worthwhile to mention that these studies were focused only on the determination of mtDNA copy numbers, but not in their correlation to cognitive symptoms. With regard to the association of plasma cf-mtDNA with SZ, there is previous evidence

that addresses this relation. Kageyama et al (2018) studied a population of 109 individuals with major depressive disorders (MDD) and also evaluated data from 28 patients with bipolar disorder, 17 with SZ, and 29 subjects as healthy controls in order to explore whether cf-mtDNA levels are linked to inflammatory processes with the purpose to suggest them as biomarkers of mood disorders.⁹ Derived from this investigation, they found that cf-mtDNA levels in blood plasma exhibit a nominal positive correlation with GM-CSF, IL-2, and IL-4 cytokines in patients with MDD, but no statistical association was proposed for SZ. In spite of the previous evidence, there is no research to address in a direct way the association between circulating cf-mtDNA and cognitive impairment in SZ. Therefore, the findings derived from the present protocol could provide valuable information to get a better understanding of the progress and treatment of the schizophrenic disorder.

On the other hand, a prodromal phase for SZ has been described. It entails the deterioration of cognitive function and precedes an emerging psychotic episode.²⁷ Thus, interventions during this phase have been suggested as strategies

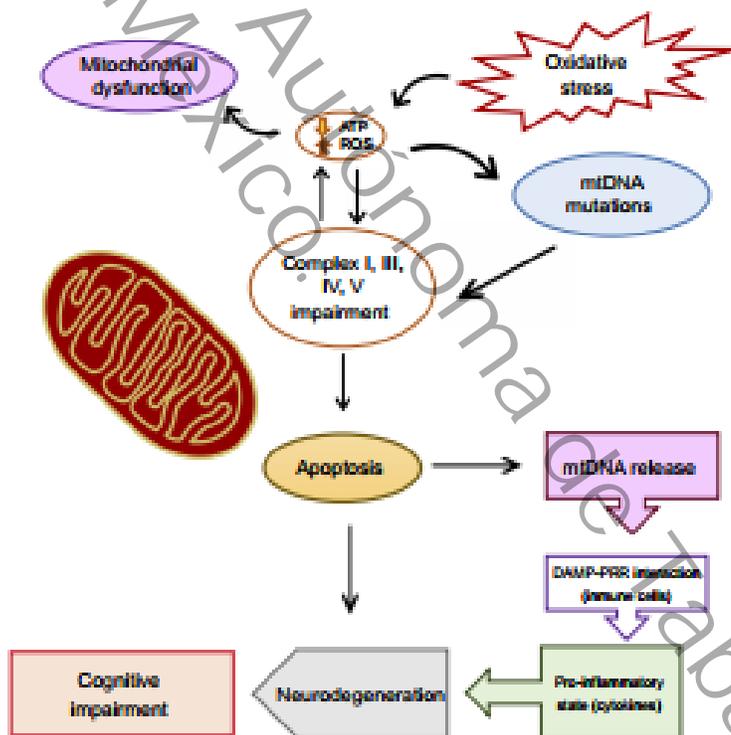


Figure 1 Mitochondrial DNA role in the pathogenesis of cognitive dysfunction in schizophrenia.

Abbreviations: mtDNA, mitochondrial DNA; ATP, adenosine triphosphate; ROS, reactive oxygen species; DAMP, damage associated molecular patterns; PRR, pattern recognition receptor.



to reduce the transition to psychosis.²⁸ Despite the emerging information in the last decades about cognitive dysfunction in SZ, there is no consensus for an adequate treatment. Hence, more studies in different populations are needed to gain a better understanding of cognitive impairment in SZ. In addition, psychiatrists do not count upon accessible diagnostic instruments to allow the prediction and detection of subtle cognitive changes in the early phases of the disease. Currently, a diagnosis for SZ is based on the duration and intensity of clinical symptoms, mainly when patients manifest their first psychotic symptoms.

Therefore, the aim of this protocol study is to measure the cognitive status and to quantify cf-mtDNA levels in blood plasma of schizophrenic patients in a Mexican population.

Conclusion

Circulating cf-mtDNA levels may serve as a potential biomarker to determine the cognitive status of patients with SZ. Thus, the measurement of cognitive symptoms in early phases of the disease along with the determination of cf-mtDNA levels in blood plasma may provide the possibility to prevent the worsening of cognitive functions, which in turn originates functional and social deficits.

Acknowledgments

Dulce Dajheanne García-de la Cruz is a CONACYT fellow (fellowship 890748) and received funding from the Programa de Fortalecimiento de la Calidad Educativa [Program for the Strengthening of Educational Quality], 2019; this study is part of her master degree.

Disclosure

The authors report no conflicts of interest in this work.

References

- Jahshan C, Hutton RK, Golshan S, Cadenhead KS. Course of neurocognitive deficits in the prodrome and first episode of schizophrenia. *Neuropsychology*. 2010;24(1):109–120. doi:10.1037/a0016791
- Shapiro DI, Marenco S, Spoor EH, Egan MF, Weinberger DR, Gold JM. The premorbid adjustment scale as a measure of developmental compromise in patients with schizophrenia and their healthy siblings. *Schizophr Res*. 2009;112(1–3):136–142. doi:10.1016/j.schres.2009.04.007
- Fisher M, Loewy R, Carter C, et al. Neuroplasticity-based auditory training via laptop computer improves cognition in young individuals with recent onset schizophrenia. *Schizophr Bull*. 2015;41(1):250–258. doi:10.1093/schbul/sbu252
- Mantovani LM, Teixeira AL, Salgado JV. Functional capacity: a new framework for the assessment of everyday functioning in schizophrenia. *Braz J Psychiatry*. 2015;33(3):249–255. doi:10.1590/1516-4446-2014-1551
- Straussnig MT, Raykov T, O’Gorman C, et al. Determinants of different aspects of everyday outcome in schizophrenia: the roles of negative symptoms, cognition, and functional capacity. *Schizophr Res*. 2015;165(1):76–82. doi:10.1016/j.schres.2015.03.033
- Charlson FJ, Ferrari AJ, Santomauro DF, et al. Global epidemiology and burden of schizophrenia: findings from the Global Burden of Disease Study 2016. *Schizophr Bull*. 2018;44(6):1195–1203. doi:10.1093/schbul/sbx058
- Kumar P, Efsthathopoulos P, Milischer V, et al. Mitochondrial DNA copy number is associated with psychosis severity and anti-psychotic treatment. *Sci Rep*. 2018;8(1):12743. doi:10.1038/s41598-018-31122-0
- Li Z, Hu M, Zeng X, et al. Association of telomere length and mitochondrial DNA copy number with risperidone treatment response in first-episode antipsychotic-naïve schizophrenia. *Sci Rep*. 2015;5:18553. doi:10.1038/srep18553
- Kageyama Y, Kasahara T, Kato M, et al. The relationship between circulating mitochondrial DNA and inflammatory cytokines in patients with major depression. *J Affect Disord*. 2018;233:15–20. doi:10.1016/j.jad.2017.06.001
- Soleimani R, Shokrgozar S, Fallahi M, Kafi H, Kiani M. An investigation into the prevalence of cognitive impairment and the performance of older adults in Guilan province. *J Med Life*. 2018;11(3):247–253. doi:10.25122/jml-2018-0017
- Yang Z, Abdul Rashid NA, Quek YF, et al. Montreal cognitive assessment as a screening instrument for cognitive impairments in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2018;199:58–63. doi:10.1016/j.schres.2018.03.008
- Kilian S, Burns JK, Soedat S, et al. Factors moderating the relationship between childhood trauma and premorbid adjustment in first-episode schizophrenia. *PLoS One*. 2017;12(1):e0170178. doi:10.1371/journal.pone.0170178
- Cannon-Spoer HE, Potkin SG, Wyatt RJ. Measurement of premorbid adjustment in chronic schizophrenia. *Schizophr Bull*. 1982;8(3):470–484. doi:10.1093/schbul/8.3.470
- Finsley R, Rabinowitz J, Torreyman M; Group R-I-EPGW. The factor structure for the Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) in recent-onset psychosis. *Schizophr Res*. 2003;61(1):47–57.
- Lindqvist D, Wolkeowitz OM, Picard M, et al. Circulating cell-free mitochondrial DNA, but not leukocyte mitochondrial DNA copy number, is elevated in major depressive disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2018;43(7):1557–1564. doi:10.1038/s41386-017-0001-9
- Seidman LJ, Minsky AF. Evolving notions of schizophrenia as a developmental neurocognitive disorder. *J Int Neuropsychol Soc*. 2017;23(9–10):881–892. doi:10.1017/S1556617717001114
- Seidman LJ, Cherkovian S, Goldstein JM, Agnew-Blais J, Tsuang MT, Buka SL. Neuropsychological performance and family history in children at age 7 who develop adult schizophrenia or bipolar psychosis in the New England Family Studies. *Psychol Med*. 2013;43(1):149–154. doi:10.1017/S0033291712000773
- Seidman LJ, Shapira DI, Stone WS, et al. Association of neurocognition with transition to psychosis: baseline functioning in the second phase of the North American Prodrome Longitudinal Study. *JAMA Psychiatry*. 2016;73(12):1239–1248. doi:10.1001/jamapsychiatry.2016.2479
- Priskalic D, Liu L, Cadenhead KS, et al. Social cognition over time in individuals at clinical high risk for psychosis: findings from the NAPLS-2 cohort. *Schizophr Res*. 2016;171(1–3):176–181. doi:10.1016/j.schres.2016.01.017
- Grassi S, Orsini G, Sorani M, Caletti E, Altaranta AC, Bucci M. Cognitive correlates of neuroimaging abnormalities in the onset of schizophrenia: a case report. *World J Psychiatry*. 2017;7(2):128–132. doi:10.5498/wjpv.v7.i2.128
- Olivero P, Lozano C, Sotomayor-Cárdena R, et al. Protostatin and mitochondrial role on psychiatric and neurodegenerative disorders: current perspectives. *Neural Plast*. 2018;2018:6798712. doi:10.1155/2018/6798712

Neuropsychiatric Disease and Treatment 2019;15:1721-1728. doi:10.2197/ncpt.2019.151721



22. Rajasekaran A, Venkatasubramanian G, Berk M, Debnath M. Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: pathways, mechanisms and implications. *Neurosci Biobehav Rev.* 2015;48:10–21. doi:10.1016/j.neubiorev.2014.11.005
23. Ben-Shachar D. Mitochondrial multifaceted dysfunction in schizophrenia; complex I as a possible pathological target. *Schizophr Res.* 2019;187:3–10. doi:10.1016/j.schres.2016.10.022
24. West AP. Mitochondrial dysfunction as a trigger of innate immune responses and inflammation. *Toxicology.* 2017;391:54–63. doi:10.1016/j.tox.2017.07.016
25. Johnson E, Pathan F, Kroken RA, et al. The serum level of C-reactive protein (CRP) is associated with cognitive performance in acute phase psychosis. *BMC Psychiatry.* 2016;16:60. doi:10.1186/s12888-016-0760-3
26. Contreras-Shannon V, Heint DL, Paredes RM, et al. Clozapine-induced mitochondria alterations and inflammation in brain and insulin-responsive cells. *PLoS One.* 2013;8(3):e59012. doi:10.1371/journal.pone.0059012
27. Wojciak P, Romlinger-Molenda A, Rybakowski J. Stages of the clinical course of schizophrenia – staging concept. *Psychiatr Pol.* 2014;50(4):717–730. doi:10.12740/PP/58728
28. Radic K, Curkovic M, Bagarić D, Vilibić M, Tomić A, Zivković M. Ethical approach to prevention of schizophrenia – concepts and challenges. *Psychiatr Danub.* 2018;30(1):35–40. doi:10.2486W/psyd.2018.35

Neuropsychiatric Disease and Treatment downloaded from https://www.dovepress.com/ by 187.154.219.75 on 15-Jul-2019
For personal use only.

Neuropsychiatric Disease and Treatment

Dovepress

Publish your work in this journal

Neuropsychiatric Disease and Treatment is an international, peer-reviewed journal of clinical therapeutics and pharmacology focusing on concise rapid reporting of clinical or pre-clinical studies on a range of neuropsychiatric and neurological disorders. This journal is indexed on PubMed Central, the "PsychINFO" database and CAS, and

is the official journal of The International Neuropsychiatric Association (INA). The manuscript management system is completely online and includes a very quick and fair peer-review system, which is all easy to use. Visit <http://www.dovepress.com/submit-manuscript.php> to read real quotes from published authors.

Submit your manuscript here: <http://www.dovepress.com/neuropsychiatric-disease-and-treatment-journal>



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Progress in Biophysics and Molecular Biology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/pbiomolbio



Diverse roles of mtDNA in schizophrenia: Implications in its pathophysiology and as biomarker for cognitive impairment

Samuel Suárez-Méndez ^a, Dulce Dajheanne García-de la Cruz ^{a, b},
Carlos Alfonso Tovilla-Zárate ^c, Alma Delia Genis-Mendoza ^{d, e},
Rosa Angélica Ramón-Torres ^f, Thelma Beatriz González-Castro ^{a, f},
Isela Esther Juárez-Rojop ^{a, g}

^a División Académica de Ciencias de la Salud, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, Mexico

^b Hospital Regional de Alta Especialidad de Salud Mental, Villahermosa, Tabasco, Mexico

^c División Académica de Medicina Psiquiátrica de Convalecencia, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, Mexico

^d Instituto Nacional de Medicina Genómica, Laboratorio de Enfermedades Psiquiátricas y Neurodegenerativas, Ciudad de México, Mexico

^e Hospital Psiquiátrico Infanzón "Dr. Juan N. Navarro", Ciudad de México, Mexico

^f División Académica de Multidisciplinarias de Jalpa de Méndez, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Jalpa de Méndez, Tabasco, Mexico

ARTICLE INFO

Article history:

Received 30 October 2019

Received in revised form

8 February 2020

Accepted 25 April 2020

Available online 11 May 2020

Keywords:

Schizophrenia

mtDNA

Mitochondrial dysfunction

Apoptosis

Inflammation

ABSTRACT

Schizophrenia (SZ) is a mental disorder characterized by neurocognitive dysfunctions and a reduction in occupational and social functioning. Several studies have provided evidence for mitochondrial dysfunction in the pathophysiology of SZ. In this sense, it is known that the addition of genetic variations in mitochondrial DNA (mtDNA) impairs oxidative phosphorylation of enzymatic complexes in mitochondria, resulting in ATP depletion and subsequent enhancement of reactive oxygen species; this is associated with cellular degeneration and apoptosis observed in some neuropsychiatric disorders. As a consequence of mitochondrial dysfunction, an increase in circulating cell-free mtDNA fragments can occur, which has been observed in individuals with SZ. Moreover, due to the bacterial origin of mitochondria, these cell-free mtDNA fragments in blood plasma may induce inflammatory and immunogenic responses, especially when their release is enhanced in specific disease conditions. However, the exact mechanism by which mtDNA could be released into blood plasma is not yet clear. Therefore, the aims of this review article were to discuss the participation of mtDNA genetic variations in physiopathologic mechanisms of SZ, and to determine the status of the disease and the possible ensuing changes over time by using circulating cell-free mtDNA fragments as a biomarker.

© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Schizophrenia (SZ) is a chronic and complex mental disorder that affects 1% of the worldwide population (Kaskie et al., 2017). Evidence suggest that males have 30%–40% higher risk of developing SZ than women, and the onset age is between 15 and 24 years in both genders (Moreno-Rüstner et al., 2014). The greatest risk factor for developing SZ is having a first-degree relative with the disease (Sullivan, 2005); furthermore, the risk for SZ in an individual whose both parents had been hospitalized due to SZ issues,

is four times greater than for an individual with only one parent hospitalized due to SZ issues (Kobesman et al., 2010). SZ is characterized by the presence of positive, negative, or both types of symptoms. Positive symptoms include hallucinations, delusions, and thought disorders. Negative symptoms comprise social withdrawal, self-neglect, loss of motivation and initiative, emotional blunting, and paucity of speech (van Os and Kapur, 2009). Moreover, it is estimated that more than 70% of individual with SZ manifest cognitive impairment, particularly in attention, memory and executive functions (Seidman and Mirsky, 2017). It is known that negative symptoms and cognitive impairments appear since childhood or early adolescence and may precede the first psychotic episode. In this regard, any cognitive impairment in early phases of the disease is characterized as an abnormality in social behavior

* Corresponding author. Av. Gregorio Méndez Magaña, No. 2838-A, Col. Tamulté, C.P. 86300, Villahermosa, Tabasco, Mexico.
E-mail address: iselaquarezrojop@hotmail.com (I.E. Juárez-Rojop).



and academic performance. Interestingly, substance abuse is the most frequent comorbidity in these individuals during their first psychotic episode. Several studies have reported that approximately 80% of individuals with schizophrenia do not achieve a full recovery, estimating a 13.5% remission rate (Charlson et al., 2018). Thus, alterations in cognitive performance cause a negative impact in the quality of life of these individuals and are associated with worse life prognosis (Schnitzler et al., 2015).

2. Pathophysiology of schizophrenia

Several studies have evaluated the imbalanced and depleted interactions of neurotransmitter systems, such as dopaminergic, glutamatergic, GABAergic and serotonergic, as main hypotheses for the pathophysiology of SZ (Ben-Shachar, 2017). Dopaminergic dysfunction is considered the first pathophysiological mechanism reported in SZ. An increased activity in the mesolimbic pathway through D2, D3, and D4 receptors, would account for the positive symptoms, while a decreased activity in the prefrontal cortex would account for the negative symptoms (Abouid et al., 2017).

Nevertheless, SZ is a heterogeneous disorder, and dopaminergic dysfunction may be just one of several pathological mechanisms. It is known that NMDA receptor antagonists (phencyclidine and ketamine) produce positive and negative symptoms, as well as cognitive impairments in SZ, and that ketamine administration is associated with striatal dopamine release. This is related with glutamate and dopamine theories (Cohen et al., 2013; Kulkarni et al., 2018). It has been proposed that NMDA receptors hypofunction lead to a cortical GABA interneurons decrease, thereby, increasing the neurotransmission of glutamatergic projections in mid-brain. This, in turn, may overstimulate mesostriatal dopamine neurons (Schwartz et al., 2012). On the other hand, evidence shows that lysergic acid diethylamide (LSD) induces psychotic state attributable to agonist actions, there the idea that serotonergic systems abnormalities are associated with psychotic states in SZ. In this sense, it was determined that serotonin through the 5-HT2A receptor stimulates dopamine neurons in ventral tegmental area (Ceyer and Volkenweiser, 2008). Likewise, serotonin through 5-HT1A inhibits action potentials of GABA neurons, which dis-inhibits glutamate neurons in prefrontal cortex, leading to the activation of mesocortical dopamine neurons (Sumiyoshi et al., 2013).

However, the pathophysiology of SZ is complex and a well-defined cause has not been identified. It has been observed that neuropsychiatric disorders where alterations in function, morphology, size and density of mitochondria are present, can be associated with depletion of adenosine triphosphate (ATP), enhancement of reactive oxygen species (ROS), cytochrome C release, and subsequent apoptosis (Chang et al., 2014; Rezin et al., 2009; Wu et al., 2019). Ultra-structural studies of autopsied anterior limbic cortex, caudate nucleus and prefrontal cortex from schizophrenic patients, show deformities and reduction in volume of mitochondrial oligodendroglia (Uranova et al., 2001).

Moreover, it has been shown that alterations of platelet mitochondrial complex activity are correlated to the severity of positive symptoms in SZ (Dror et al., 2002). Similarly, a ³¹P-magnetic resonance spectroscopy study exhibited a reduction of ATP levels in frontal lobe, temporal lobe and basal ganglia of individuals with SZ (Votz et al., 2000). In these sense, using magnetic resonance neuroimaging several studies have found loss of neuronal and glial tissue in brain regions including prefrontal cortex, temporal superior gyrus, hippocampus and amygdala in individuals with SZ (Birur et al., 2017). However, mtDNA genetic variants may directly underlie impaired mitochondrial function in SZ (Rollins et al., 2009; Ueno et al., 2009; Verge et al., 2011). Several studies have suggested that mtDNA somatic variants could

accumulate throughout life, increasing the risk of SZ (Marchbanks et al., 2003; Sequeira et al., 2015). Alternatively, mtDNA is passed from generation to generation through the maternal line and could be a carrier of genetic variants inherited from mothers with SZ (Ichikawa et al., 2012; Verge et al., 2012).

Other hypotheses suggest that a dysregulation or altered expression of microRNAs (single-stranded, non-coding RNA molecules) is associated with abnormal brain development and the pathogenesis of SZ (Sun and Shi, 2015). Moreover, epigenetic mechanisms such as DNA methylation and histone acetylation remain labile throughout life and can lead to cognitive deficits in SZ (Pries et al., 2017; Shorter and Miller, 2015). In addition, factors that affect myelination in white matter cause neurovascular endothelial dysfunction; finally, blood-brain barrier hyperpermeability could also be part of the etiology of this disease (Davis et al., 2003; Najjar et al., 2017).

3. Mitochondrial dysfunction and mtDNA genetic variants in schizophrenia

Mitochondria are intracellular organelles of eukaryote cells. Their fundamental function is energy production in the form of ATP molecules through OXPHOS. The electron transport is formed by complexes I, II, III, and IV, located in the mitochondrial inner membrane; there, electron transport is catalyzed from reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) and reduced flavin adenine dinucleotide (FADH₂) to generate a proton gradient from the mitochondrial matrix to the intermembrane space, where the electron is used by the ATP synthase (complex V) to produce ATP. In addition, mitochondria participate in other cellular processes such as calcium (Ca²⁺) homeostasis, apoptosis, necrotic cell death and regulation of reactive oxygen species (Lam and McKeague, 2018; Pinto and Moraes, 2015; Rezin et al., 2009). Mitochondria possess their own genome denominated mtDNA, which lies in close proximity to the nuclear genome (Fernandes et al., 2014). mtDNA is maternally inherited, it is genome is formed into a circle, double-stranded composed of 16569 base pairs and encodes for 37 genes (2 mitochondrial rRNAs, 22 tRNAs and 13 proteins). The encoded proteins correspond to the following: 7 NADH subunits (ND1, 2, 3, 4, 4L, 5, and 6); a single ubiquinone oxidoreductase subunit (complex I); a single ubiquinol subunit (cyt b); cytochrome C oxidoreductase (complex III); 3 subunits, CO-I, II, and III of cytochrome C oxidase (complex IV), and 2 ATP synthase subunits (complex V). Only complex II and a few enzymes are encoded in the nuclear DNA (nDNA) and are imported into the mitochondria (D'Souza and Minczuk, 2018; Nakayama and Otsu, 2018; Thuraijajah et al., 2018). mtDNA is similar to the bacterial genome, that is, it is susceptible to genetic variations and accumulation of mtDNA molecules with genetic variants due to multiple factors, viz.: 1) although mtDNA is protected by Twinkle, mtSSB and TFAM proteins, mtDNA is not as tightly packed as nDNA. For this reason, mtDNA sensitivity to damage increases by external genotoxic agents and ROS; 2) mtDNA replication speed allows the further/additional incorporation of incorrect nucleotides during replication; 3) mtDNA has a higher replication rate; therefore, the repair mechanism (base-excision repair (BER)) is overwhelmed and the possibility of genetic variants is increased (Pinto and Moraes, 2015) (Fig. 1A). Genetic variants in mtDNA can lead to OXPHOS malfunction and damage of mitochondrial integrity that can be associated with a reduction of ATP production and increase of ROS (O^{2•-}, H₂O₂, OH⁻, ONOO⁻). It is known that oxidative stress leads to decrease of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) and energy depletion by poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) activation and hence cellular degeneration (Najjar et al., 2017). Moreover, oxidative stress together with high intracellular Ca²⁺ concentrations and pro-apoptotic proteins

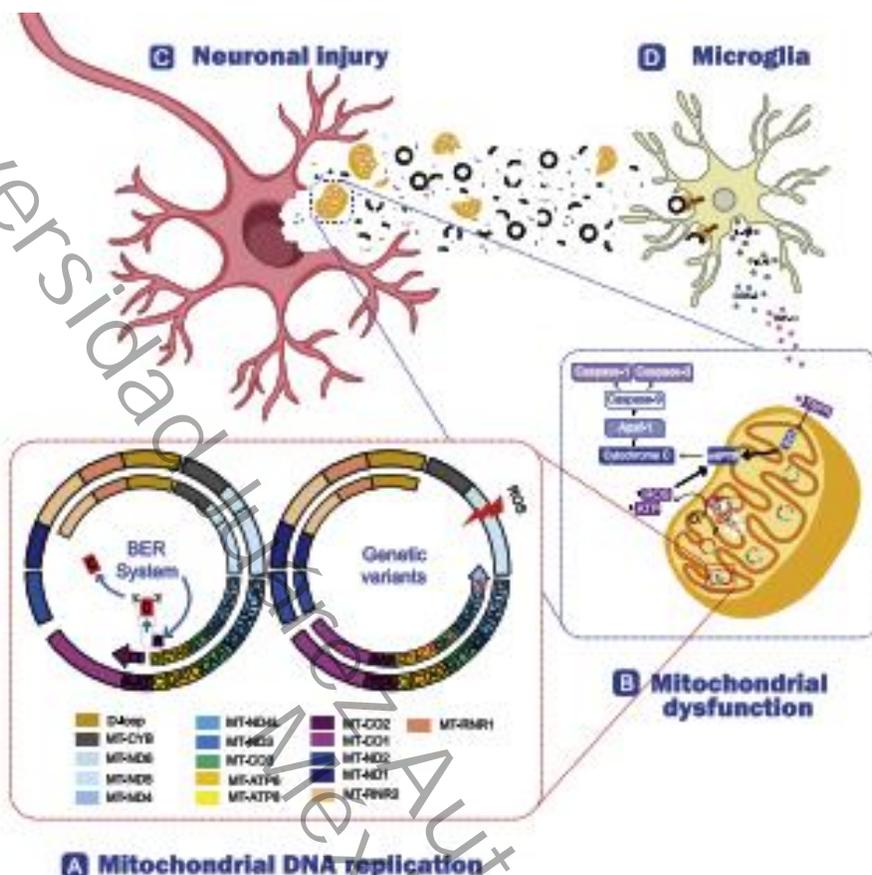


Fig. 1. mtDNA role in apoptosis and inflammatory response during schizophrenia. The negative cycle generated from genetic variants in mtDNA, mitochondrial dysfunction and mtDNA release may be responsible for the neurodegeneration observed in schizophrenia. **A)** The accumulation of genetic variants in mtDNA is due to multiple factors: damage by oxidative stress; incorporation of incorrect nucleotides during replication; overwhelmed repair mechanism (BER; base-excision repair) due to a higher replication rate of mtDNA. **B)** These genetic variants lead the synthesis of dysfunctional mitochondrial complexes (I, III, IV), generating an OXPHOS system failure with ATP depletion and ROS increment. **C)** ROS induce neuronal death and apoptosis leading to massive liberation of mtDNA fragments (DAMP; molecular patterns associated with damage). **D)** These patterns are recognized by PRRs (pattern recognition receptors) located in the membrane of microglia cells leading to the secretion of TNF- α , IL-1 β , IL-6, and COX-2. **E)** TNF- α joins to FAS receptors in the mitochondrial membrane causing the activation of Bid, which together with Bax collaborate in the release of cytochrome C through the mtPTP (mitochondrial permeability transition pores) opening, with the subsequent activation of caspase 9, 1 and 3, to promote apoptosis.

(Bid, Bad and Bax) promote the opening of mitochondrial permeability transition pores (mtPTP), releasing cytochrome C which binds to protease activating factor-1 (Apaf-1) to favor the activation of caspases (caspase 9, caspase 1, and caspase 3) responsible for apoptosis (Patrushev et al., 2004; Springer et al., 2018; Zhang et al., 2017) (Fig. 1B).

It is known that through mtPTP opening, cellular degeneration and apoptosis release molecular patterns associated with damage (DAMP; ROS, cell-free mtDNA fragments, cardiolipins, N-formyl peptides, among others) (Fig. 1C). DAMP can be detected by a group of pattern recognition receptors (PRRs) located in the membrane of innate immunity cells such as neutrophils, macrophages and other phagocytic cells. DAMP-PRR interaction triggers a wide range of inflammatory responses, including the activation and migration of neutrophils, activation of inflammasomes (TLR9, NLRP3, etc.), and activation of NF- κ B, MAPK and IRF, which modulate inflammatory gene expression (TNF- α , IL-1 β , IL-6, and COX-2) linked to apoptosis (Angajala et al., 2018; Fernandes et al., 2014; West, 2017) (Fig. 1D). TNF- α contributes to apoptotic pathways by FAS cell death receptor activation, resulting in caspase 8 activation; this enzyme can cause the activation of caspase 3 and Bid (a pro-apoptotic protein), which

along with Bax, contribute to mtPTP opening (Suarez-Mendez et al., 2018) (Fig. 1B). Moreover, cell-free mtDNA could increase in plasma as the SZ progresses and correlate with immunologic responses and inflammation as described in other diseases such as cancer, depression, trauma, and Alzheimer's (Angajala et al., 2018; Chen et al., 2018; Hoekstra et al., 2010; Lindqvist et al., 2018; Lubkin et al., 2018). In this sense, homoplasmic (present in all copies of the mtDNA genome) and heteroplasmic (present in a fraction of mtDNA molecules) variants have been reported in mtDNA of individuals with schizophrenia (Bentzen et al., 2011; Ichikawa et al., 2012; Martorell et al., 2006). The genetic variants m.15395A > G of MT-CYB gene and m.8530A > G of MT-ATP6 gene, have been found in Han Chinese families with family history and maternal inheritance pattern of SZ (Bi et al., 2010). Furthermore, non-synonymous homoplasmic genetic variants 14289A > C of ND6 gene, 5073A > G of ND2 gene and 16178T > G of D-loop gene were observed in post-mortem brain samples of humans who had SZ. In addition, the non-synonymous heteroplasmic genetic variant 16519T > C of D-loop gene was identified (Sequeira et al., 2015). Similarly, non-synonymous homoplasmic genetic variants (m.8843T > C, m.8902G > A, and m.8945T > C of the MT-ATP6 gene)



Table 1
Summary of the principal heteroplasmic variants found previously in mtDNA of patients with schizophrenia. (–) no available information.

First author	Country	Continent	Diagnosis	Sample	Gene	Nucleotide position	Nucleotide change	Amino acid change
Martínez et al. (2006)	Spain	Europeans	ICD-9	Peripheral Blood	MT-ND1	845	A > G	Synonymous
					MT-ND1	3984	C > T	Synonymous
					MT-ND2	4599	C > T	Synonymous
					MT-CO2	7750	C > A	Ser53Met
					MT-ATP6	8857	G > A	Gly511Ser
Ozawa et al. (2009)	Japan	Asians	DSM-IV	Peripheral Blood	MT-ND1	3472	T > C	Phe58Leu
					MT-ATP6	8843	T > C	Arg108Thr
					MT-ATP6	8902	G > A	Ala126Thr
					MT-ATP6	8945	T > C	Met140Thr
					MT-CO1	9804	A > G	Asn113Ser
Ichikawa et al. (2012)	Japan	Asians	DSM-III	Brain/Peripheral Blood	MT-ATP-6	8781	C > T	Synonymous
			DSM-IV		MT-ATP-6	8881	T > C	Ser119Pro
			MT-ATP-6		8857	C > G	Thr44Ser	
			MT-ATP-6		9137	T > C	Arg294Thr	
			MT-CO2		8027	G > A	Ala148Thr	
Sequeira et al. (2013)	USA	North Americans		Brain	MT-ND2	4814	A > G	Thr116Ala
					MT-ATP6	9033	G > A	Ala177Thr
					MT-ND-6	14280	A > C	Ser132Ala
					MT-ND2	5073	A > G	Arg202Val
					MT-D-loop	16178	T > G	Synonymous
Bi et al. (2018)	China	Asians	DSM-IV	Peripheral Blood	MT-CYB	15395	A > G	Lys217Glu
					MT-ATP6	8536	A > G	Asp44Arg
					MT-ATP6	8825	T > C	Met100Thr

and heteroplasmic genetic variants (m.1227G > A of MT-RNR1, m.5378T > C of MT-TW and m.13418G > A of MT-ND5) were encountered in Japanese individuals with SZ but not in controls (Ueno et al., 2009). These genetic variants are associated to oxidative stress and a decrease in mitochondrial mass, ATP levels, and ATP synthase coupled oxygen consumption rate (see more detail in Tables 1 and 2).

4. Cell-free mtDNA fragments and schizophrenia

The theories we just discussed suggest an increment of circulating cell-free mtDNA in blood plasma during SZ progression. However, several studies have evaluated the influence of SZ on mtDNA levels and their results contradict each other. For instance, primary scientific evidence postmortem reported no anomalous mtDNA copy number in brain tissues of SZ patients (Sabuncuyan et al., 2007; Torrell et al., 2013). Some authors have reported that individuals with SZ exhibit lower mtDNA levels in whole blood samples than control subjects (Li et al., 2015). A similar study suggested that the mtDNA copy number was reduced with increasing psychosis severity (Kumar et al., 2018). Contrarily, it was reported that schizophrenic individuals with acute psychosis had higher levels of mtDNA than healthy controls (Chestkov et al., 2018). On the other hand, there is evidence addressing the association of plasma cell-free mtDNA with neurodegenerative factor in

SZ. A study reported an association between cell-free mtDNA and inflammation in individuals with major depressive disorders, bipolar disorder and SZ (Kageyama et al., 2018). The results from this investigation suggested a positive correlation between cytokines (IL-4, IL-2) and cell-free mtDNA levels in patients with major depression disorder, but not in patients with SZ. Contrary to this, mtDNA content positively correlated with levels of oxidation marker 8-oxodG in SZ patients with acute psychotic disorder (Chestkov et al., 2018).

The observed contradictions may be due to several reasons; for instance, the mtDNA was measured in different cellular tissues, or the scant information regarding the effect of antipsychotic therapy on mtDNA copy number, or the sample size. The inconsistency of the association of plasma cell-free mtDNA with SZ in these reports could be due to the standard mtDNA library preparation methods having poor recovery rates for short cell-free mtDNA fragment (<100 bp). Using next generation sequencing demonstrated that the size peak of plasma cell-free mtDNA is ~140 bp (Jiang et al., 2015). In this sense, individuals with testicular germ cell cancer, showed higher levels of circulating cell-free mtDNA fragments (79 bp and 220 bp) than control subjects. Also, 79 bp cell-free mtDNA fragments are relatively higher than those of 220 bp (Ellinger et al., 2009). A study with optimized cell-free mtDNA isolation and sequencing library preparation protocols showed plasma highly enriched with short-size cell-free mtDNA (30–60 bp) in patients

Table 2
Summary of the principal heteroplasmic variants found previously in mtDNA of patients with schizophrenia. (–) no available information.

First author	Country	Continent	Diagnosis	Sample	Gene	Nucleotide position	Nucleotide change	Amino acid change
Martínez et al. (2006)	Spain	Europeans	ICD-9	Peripheral Blood	MT-ND4	12098	T > A	Leu440Ile
					MT-TT	15830	G > A	Synonymous
Ozawa et al. (2009)	Japan	Asians	DSM-IV	Peripheral Blood	MT-RNR1	1227	G > A	Synonymous
					MT-TW	5578	T > C	Synonymous
					MT-ND5	13488	G > A	Gly383Glu
Bembris et al. (2011)	Italian	Europeans	DSM-IV	Peripheral Blood	MT-CO2	7696	C > A	Synonymous
					MT-ATP6	8590	C > T	Synonymous
Ichikawa et al. (2012)	Japan	Asians	DSM-III	Brain/Peripheral Blood	MT-CO1	9617	C > T	Synonymous
			DSM-IV		MT-CO1	8590	C > T	Synonymous
			MT-CO2		7673	A > G	Arg202Ile	
			MT-CO3		9536	C > T	Synonymous	
Sequeira et al. (2013)	USA	North Americans		Brain	MT-D-loop	16318	A > G	Thr116Ala



with sepsis (Zhang et al., 2010). These reports are of great relevance for understanding the pathophysiological mechanisms of SZ, given that mtDNA lacks of histones protection, making it more vulnerable to degradation and formation of shorter cell-free mtDNA fragments (specific mitochondrial genes) released from apoptotic cells (Jalir et al., 2001; López et al., 2013; Lu et al., 2014) (Fig. 1C). To date, there are no researches addressing the association between cell-free mtDNA and cognitive impairment in SZ. Thus, quantification of shorter cell-free mtDNA fragments in plasma of individuals with schizophrenia could be used as biomarkers associated with prognosis and cognitive status.

5. Conclusion

In this review, we proposed mtDNA genetic variants as the possible trigger of pathogenic mechanisms in schizophrenia. Moreover, we hypothesized that differences of short-size cell-free mtDNA in plasma levels of individuals with schizophrenia are associated with their cognitive impairment status. Thus, cell-free mtDNA fragments should be used as a biomarker of SZ prognosis and progression, even in the early phases when cognitive impairment begins to be noticeable, in order to prevent deterioration as much as possible and at different life stages. Unfortunately, at the present time, only a few reports on the relationship between mtDNA genetic variants and short-size cell-free mtDNA levels in plasma and schizophrenia are available. Longitudinal studies that evaluate specific mtDNA genes in blood plasma are needed at different stages of the disease, as well as the evaluation of cognitive symptoms along the disease course.

Authors' contribution

All the authors contributed equally in writing and revising this manuscript, they all provided language assistance, and they all designed and elaborated Fig. 1.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no competing interests.

Acknowledgments

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2020.04.004>.

References

Alibouadi, R., Morsini, C., Dimaucop, V.A., 2017. Motor system dysfunction in the schizophrenia diathesis: neural systems to neurotransmitters. *Eur. Psychiatr.* 44, 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.eurpsy.2017.04.004>.

Arguñada, A., Lim, S., Phillips, J.R., Kim, J.H., Yoon, C., You, Z., Tan, M., 2008. Diverse roles of mitochondria in immune responses: novel insights into immunometabolism. *Front. Immunol.* 9, 505. <https://doi.org/10.3389/fimm.2018.00505>.

Ben-Shachar, D., 2007. Mitochondrial multifaceted dysfunction in schizophrenia: complex I as a possible pathological target. *Schizophr. Res.* 187, 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2018.10.022>.

Bertolin, C., Magri, C., Barlotti, S., Vettori, A., Perini, G.L., Peruzzi, F., Montacchini, M.L., Vazza, G., 2011. Analysis of complete mitochondrial genomes of patients with schizophrenia and bipolar disorder. *J. Hum. Genet.* 56 (12), 869–872. <https://doi.org/10.1038/jhg.2011.111>.

Bi, K., Tang, J., Zhang, W., Li, X., Chen, S.Y., Yu, D., Chen, X., Yan, Y.G., 2016. Mitochondrial genome variations and functional characterization in Han Chinese families with schizophrenia. *Schizophr. Res.* 171 (1–3), 290–296. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2016.01.011>.

Bruc, E., Kraguljac, M.V., Shelton, R.C., Lahti, A.C., 2007. Brain structure, function, and neurochemistry in schizophrenia and bipolar disorder—a systematic review of the magnetic resonance neuroimaging literature. *NPJ Schizophr.* 3, 13. <https://doi.org/10.1038/nps.2015.27-017-0013-8>.

Cohen, S.M., Tien, R.W., Coff, D.C., Malasia, M.M., 2005. The impact of NMDA receptor hypofunction on GABAergic neurons in the pathophysiology of schizophrenia. *Schizophr. Res.* 167 (1–3), 98–107. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2014.12.030>.

Chang, C.C., Jwa, S.H., Liu, T.T., Liu, C.S., 2004. Mitochondrial DNA variation and increased oxidative damage in out-patients with bipolar disorder. *Psychiatr. Clin. Neurosci.* 68 (7), 551–557. <https://doi.org/10.1111/j.1234.12303>.

Charbon, F.J., Ferrati, A.J., Santomasso, D.F., Dimech, S., Stockings, E., Scott, J.G., McGrath, J.J., Whitford, H.A., 2018. Global epidemiology and burden of schizophrenia: findings from the global burden of disease study 2016. *Schizophr. Bull.* 44 (6), 1195–1203. <https://doi.org/10.1093/schbul/sby078>.

Chen, J., Zhang, L., Yu, X., Zhou, H., Liu, Y., Wang, W., Wang, L., 2008. Clinical application of plasma mitochondrial DNA content in patients with lung cancer. *Oncol. Lett.* 36 (6), 7074–7081. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.16115>.

Cherukav, I.V., Jostkova, E.M., Erdova, E.S., Golobay, V.G., Lezhnik, T.V., Kolesina, N.Y., Dolgikh, G.A., Ibrukhaya, V.L., Kostyuk, G.P., Kuznetsov, S.I., Veikin, N.M., Kostyuk, S.V., 2018. ROS-induced DNA damage associates with abundance of mitochondrial DNA in white blood cells of the untreated schizophrenic patients. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018, 8587475. <https://doi.org/10.1155/2018/8587475>.

D'Souza, A.R., Mirczuk, M., 2018. Mitochondrial transcription and translation: overview. *Essays Biochem.* 62 (3), 309–320. <https://doi.org/10.1042/ESB20170802>.

Davis, K.L., Stewart, D.G., Friedman, J.I., Buchsbaum, M., Harvey, P.D., Ho, P.R., Buchanan, J., Harmanian, V., 2003. White matter changes in schizophrenia: evidence for myelin-related dysfunction. *Arch. Gen. Psychiatr.* 60 (5), 443–456. <https://doi.org/10.1093/archpsyc/60.5.443>.

Dvor, N., Klein, E., Kary, R., Sheikhan, A., Kirsh, Z., Marz, M., Trakhtman, M., Ben-Shachar, D., 2002. State-dependent alterations in mitochondrial complex I activity in platelets: a potential peripheral marker for schizophrenia. *Mol. Psychiatr.* 7 (9), 993–1001. <https://doi.org/10.1038/mp.2002.106>.

Ellinger, J., Albers, P., Müller, S.C., von Busck, A., Bestian, F.J., 2009. Circulating mitochondrial DNA in the serum of patients with testicular germ cell cancer as a novel noninvasive diagnostic biomarker. *Eur. J. Int.* 104 (1), 48–52. <https://doi.org/10.1111/j.1469-4028.2008.02089.x>.

Fernandez, J., Michel, V., Camerlingo-Ponce, M., Gomez, A., Maldonado, C., De Kruse, H., Torres, J., Tzatti, E., 2014. Circulating mitochondrial DNA level: a noninvasive biomarker for the early detection of gastric cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 23 (11), 2430–2438. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR.14-0471>.

Geyer, M.A., Vollenweider, F.K., 2008. Serotonin research: contributions to understanding psychosis. *Trends Pharmacol. Sci.* 29 (9), 445–453. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2008.06.016>.

Gottesman, I.I., Laursen, T.M., Bertelsen, A., Mortensen, P.B., 2003. Severe mental disorders in offspring with 2 psychiatrically ill parents. *Arch. Gen. Psychiatr.* 60 (3), 252–257. <https://doi.org/10.1093/archpsyc/60.3.252>.

Hokanson, J.E., Hipp, M.J., Mouton, T.J., Kennedy, S.R., 2010. Mitochondrial DNA mutations increase in early stage Alzheimer disease and are inconsistent with oxidative damage. *Ann. Neurol.* 68 (2), 301–306. <https://doi.org/10.1002/ana.21792>.

Ishikawa, T., Arai, M., Miyahara, M., Arai, M., Ohata, M., Nohara, I., Ohtsuka, K., Nishino, K., Uehara, Y., Doi, N., Inokuma, M., 2012. Schizophrenia: maternal inheritance and heterogeneity of mtDNA mutations. *Mol. Genet. Metab.* 105 (1), 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2011.08.054>.

Jalir, S., Henne, H., Engel, S., Harsh, D., Psychokypas, P.O., Herdt, R.D., Knappes, R., 2001. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitative and evidence for their origin in apoptotic and necrotic cells. *Carc. Res.* 61 (4), 999–1005.

Jiang, P., Chan, C.W., Chan, S.C., Cheng, S.H., Wong, J., Wong, V.W., Wong, C.L., Chan, S.L., Mok, T.S., Chan, H.L., Li, P.B., Chiu, K.W., Lo, Y.M., 2015. Lengthening and shortening of plasma DNA in hepatocellular carcinoma patients. *PLoS One* 10 (11), e13125. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131212>.

Kageyama, Y., Kanohara, T., Kato, M., Sakai, T., Deguchi, Y., Tani, M., Kamada, K., Hattori, K., Yoshida, S., Goto, Y., Kurihara, T., Inoue, K., Kato, T., 2008. The relationship between circulating mitochondrial DNA and inflammatory cytokines in patients with major depression. *J. Affect. Disord.* 133, 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2017.01.001>.

Kanik, K.E., Crapanzano, S., Perzanoff, P., 2017. Schizophrenia and sleep disorders: links, risks, and management challenges. *Int. J. Sleep Res.* 227–238. <https://doi.org/10.2147/ISJ.S121076>.

Koldenon, M., Adcock, A.H., Howes, O.D., 2018. The effects of ketazine on dopaminergic function: meta-analysis and review of the implications for neuropsychiatric disorders. *Mol. Psychiatr.* 23 (1), 30–40. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.100>.

Kumar, P., Elshahhat, P., Müllerbacher, V., Olsson, E., Höglinger, G., Brunke, D., Schilling, M., Villacueva, J.C., Oddy, U., Lavebratt, C., 2016. Mitochondrial DNA copy number is associated with psychosis severity and response to antipsychotic treatment. *Schizophr. Res.* 171, 12743. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2016.05.013>.

Lam, J., McKegaw, M., 2018. Dietary modulation of mitochondrial DNA damage: implications in aging and associated diseases. *J. Nutr. Biochem.* 63, 1–10.



Universidad



Otorga la presente

Constancia

A: DULCE DAJHEANNE GARCIA DE LA CRUZ

Por su participación con la ponencia en la modalidad oral:

“Asociación entre ADN mitocondrial y la severidad de los síntomas en pacientes tabasqueños con esquizofrenia”

en el 4to. Congreso Internacional de Investigación en Ciencias de la Salud. efectuado del 02 al 05 de octubre de 2019.

Villahermosa Tabasco, octubre de 2019.

“Estudio en la Duda. Acción en la Fe”

Dra. Miriam Carolina
Martínez López
Directora DACS-UJAT

Dr. Luis García Márquez
Alvarez
Vicerrector de Ciencias
de la Salud
Universidad de Murcia, España

Dra. Ana Castro Ríos
Universidad Católica del Maule,
Curicó, Chile.

Dra. Maritza Mercedes
Bonilla Dimas
Decana de la Facultad de
Medicina de la Universidad
de El Salvador

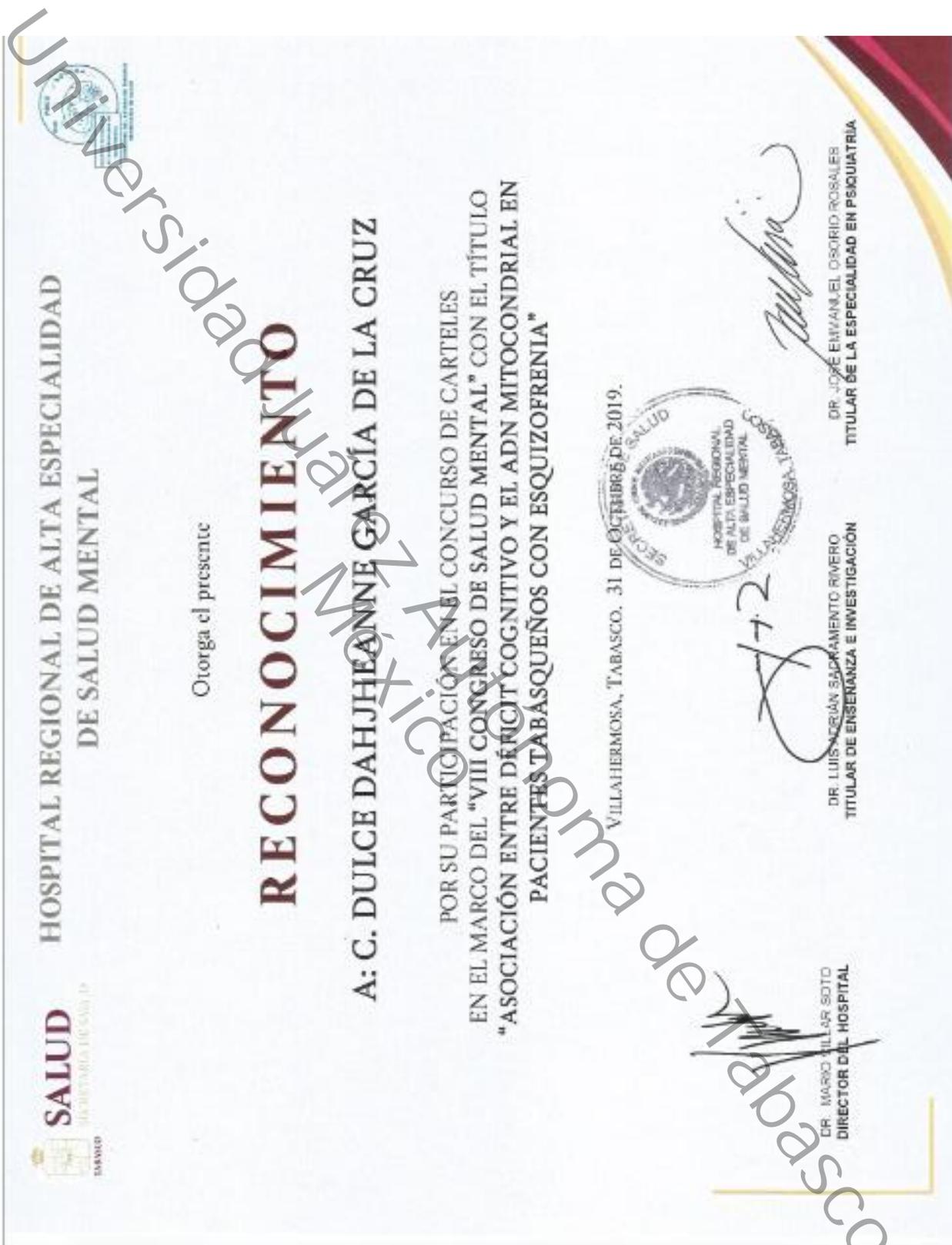


LIBRO: 12

FOJA: 130

CURSO: 818

FOLIO: C-210338



HOSPITAL REGIONAL DE ALTA ESPECIALIDAD
DE SALUD MENTAL

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

A: C. DULCE DAHJHEANNE GARCÍA DE LA CRUZ

POR SU PARTICIPACIÓN EN EL CONCURSO DE CARTELES
EN EL MARCO DEL "VIII CONGRESO DE SALUD MENTAL" CON EL TÍTULO
"ASOCIACIÓN ENTRE DÉFICIT COGNITIVO Y EL ADN MITOCONDRIAL EN
PACIENTES TABASQUEÑOS CON ESQUIZOFRENIA"

VILLAHERMOSA, TABASCO, 31 DE OCTUBRE DE 2019.



72

[Signature]

DR. MARIO VILLAR SOTO
DIRECTOR DEL HOSPITAL

DR. LUIS ANTONIO SACRAMENTO RIVERO
TITULAR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

DR. JOSÉ EMMANUEL OSORIO ROSALES
TITULAR DE LA ESPECIALIDAD EN PSIQUIATRÍA