

Susceptibilidad genética a la retinopatía de la prematuridad

Matthew J. Bizzarro, MD^a, Naveed Hussain, MD^b, Baldvin Jonsson, MD^c, Rui Feng, PhD^d, Laura R. Ment, MD^a, Jeffrey R. Gruen, MD^{a,e,f}, Heping Zhang, PhD^d, y Vineet Bhandari, MD, DM^a

GENERALIDADES: La retinopatía de la prematuridad (RP) provoca una importante morbilidad en los neonatos pretérmino. Además de la prematuridad y los factores ambientales, supusimos que los factores genéticos desempeñan un papel significativo en este proceso nosológico.

OBJETIVOS: Aislar y estimar la susceptibilidad genética a la RP.

PACIENTES Y MÉTODOS: Se realizó un estudio retrospectivo (1994-2004) en tres centros, utilizando los datos de la zigosidad de gemelos prematuros nacidos con ≤ 32 semanas de edad gestacional (EG) que sobrevivieron hasta pasadas las 36 semanas de edad posmenstrual. Los oftalmólogos pediátricos de cada centro diagnosticaron y clasificaron la RP. El análisis de los datos utilizó la regresión logística de efectos mixtos (RLEM) y modelo *probit* de variable latente.

RESULTADOS: Fueron identificados y analizados 63 parejas de gemelos monozygóticos (MZ) y 137 de gemelos dizigóticos (DZ). Los datos demográficos de la EG, el peso al nacimiento, el sexo, el síndrome de *distres* respiratorio, la RP, la displasia broncopulmonar, la duración de la ventilación y del empleo de oxígeno suplementario, y la duración de la estancia de los gemelos MZ y DZ fueron comparables. En la RLEM para la RP, la EG ($p = 0,024$, OR 0,65; IC 95% = 0,45-0,94) y la duración del oxígeno suplementario ($p = 0,003$, OR = 1,03; IC 95% = 1,01-1,05) fueron covariantes significativas. Tras controlar respecto a los factores no genéticos conocidos y desconocidos, los factores genéticos abarcaron el 70,1% (IC 95% = 0,09-1,00; $p = 0,026$) de la variancia de la responsabilidad de la RP.

CONCLUSIÓN: Además de la prematuridad y los factores ambientales, existe una potente predisposición genética a la RP.

La retinopatía de la prematuridad (RP) es un proceso de enfermedad que proviene de una alteración de la vascularización normal de la retina en desarrollo. El suministro sanguíneo de la retina proviene de la circulación coroidea y retiniana. La circulación coroidea se completa aproximadamente a las 20 semanas de gestación, cuando el desarrollo de la circulación retiniana sólo está comenzando¹. La vasculogénesis del feto está regulada por varios factores, como el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEFG) y varias citocinas reguladoras¹⁻⁴. En el neonato nacido prematuramente, las fluctuaciones de la tensión de oxígeno, así como otras variables indeterminadas, pueden afectar negativamente a estos factores y producir la interrupción y una neovascularización anormal de la retina⁵. El resultado, pese a la detección e intervención temprana, puede ser el desprendimiento de la retina y la ceguera⁶⁻⁸.

La RP muestra su máxima prevalencia en los neonatos de extremo bajo peso al nacimiento⁹⁻¹¹ y la incidencia global estimada llega al 68% en los nacidos con < 1.251 gramos, y al 93% en los nacidos con < 750 gramos¹². Dada su prevalencia y su considerable morbilidad, los investigadores han intentado identificar los factores de contribución significativa (como el oxígeno suplementario) en un intento de prevenir y tratar esta enfermedad^{5,9,12,13-16}. Pese a estas medidas, la RP sigue siendo un problema habitual en la unidad de cuidados intensivos neonatales⁹. Esto plantea la posible intervención de otras influencias no ambientales, y la necesidad de identificarlas. Supusimos que los factores genéticos podrían desempeñar un papel importante en la predisposición de los neonatos al desarrollo de la RP. El objetivo del presente estudio fue analizar una cohorte de parejas de gemelos monozygóticos (MZ) y dizigóticos (DZ) pretérminos para determinar y estimar la susceptibilidad genética.

PACIENTES Y MÉTODOS

Sujetos

Tres centros (Karolinska Institute, University of Connecticut y Yale University) recogieron datos de los gemelos prematuros nacidos con ≤ 32 semanas de gestación entre el 1 de enero de 1994 y el 31 de diciembre de 2004, incluyendo información sobre la zigosidad. Sólo incluimos a los neonatos que sobrevivieron hasta pasadas las 36 semanas de edad posmenstrual (EPM) y tuvieron datos completos de las variables necesarias para el análisis. El Comité de Ética de cada centro participante aprobó la contribución de los datos a este estudio.

Departments of ^aPediatrics, ^dEpidemiology and Public Health, and ^eGenetics, and the ^fYale Child Health Research Center, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut; ^bDivision of Neonatology, University of Connecticut Health Center, Farmington, Connecticut, Estados Unidos; ^cDepartment of Neonatology, Karolinska University Hospital, Karolinska Institute, Estocolmo, Suecia.

Correspondencia: Vineet Bhandari, MD, DM, Department of Pediatrics, Yale University, School of Medicine, 333 Cedar St, PO Box 208064, New Haven, CT 06520-8064, Estados Unidos.

Correo electrónico: vineet.bhandari@yale.edu

Definiciones

El estudio histopatológico de la placenta, con confirmación adicional por la concordancia o discordancia de sexo, determinó la zigosidad de cada par de gemelos. La definición de RP fue la detención o la proliferación vascular anormal de la retina, determinada por oftalmólogos pediátricos expertos de cada institución y clasificada según los criterios establecidos por el International Committee for Classification of ROP¹⁷. El análisis incluyó todos los grados de RP. La definición de síndrome de *distrés* respiratorio (SDR) fue la presencia de dificultad respiratoria con necesidad de oxígeno suplementario en las seis primeras horas de vida, acompañada de una radiografía de tórax característica. La definición de displasia broncopulmonar (DBP) fue la necesidad de oxígeno suplementario a las 36 semanas de EPM asociada con alteraciones radiológicas características¹⁸. El análisis incluyó todos los grados de gravedad de la DBP. La duración de la ventilación mecánica (VENT) estuvo definida por el número total de días de hospitalización en los que el neonato necesitó ventilación a presión positiva. La ventilación a presión positiva incluyó la ventilación de gran frecuencia, la ventilación obligatoria intermitente sincronizada, la ventilación a presión positiva intermitente nasal sincronizada, la presión positiva continua nasal en las vías respiratorias, o una combinación de ellas. La duración del empleo de oxígeno (O₂) estuvo definida por el número total de días de hospitalización en los que el neonato necesitó oxígeno suplementario (> 21%).

Análisis estadístico

Los datos demográficos fueron analizados mediante el *test* t de Student, el de suma de rangos de Wilcoxon o el análisis χ^2 , según fuera oportuno. Se realizó el análisis de regresión logística de efecto mixto (RLEM) para identificar el impacto de los presuntos factores de riesgo sobre la RP. Las covariantes utilizadas en el modelo fueron el sexo masculino, la edad gestacional (EG), el peso al nacimiento (PN), el SDR, O₂, la institución de tratamiento (INST) y la DBP. El estado de los resultados de las parejas de gemelos fue tratado como episodio de correlación. La INST fue evaluada como variable global, y las instituciones fueron comparadas con una de referencia, escogida al azar. Se ajustó un modelo RLEM para evaluar la relación entre las covariantes citadas y el resultado de interés (RP), y para incorporar la correlación entre las parejas de gemelos.

Luego se utilizó el modelo probit de variable latente para estimar la varianza de la responsabilidad de RP¹⁹⁻²¹. Se ajustó un modelo probit de efectos mixtos para estimar la contribución genética a la RP mediante el ajuste de todas las covariantes utilizadas en el análisis RLEM. Se estimó la variable de responsabilidad subyacente al resultado respectivo. Se supuso que esta variable seguía una distribución normal, con una media dependiente de las covariantes RLEM. La varianza se fraccionó en un componente genético, un componente no genético compartido y un componente aleatorio. La suma de los dos primeros componentes constituyó la participación global entre los gemelos, y estuvo determinada por la correlación entre los gemelos MZ y los DZ. Estimamos esta herencia (es decir, la proporción de la varianza genética a la total en la responsabilidad) mediante un modelo que supuso que la correlación entre los gemelos provenía de un componente genético y otro no genético.

Cada institución remitió los datos clínicos anónimos, formateados en hojas Excel, al centro estadístico de la Yale University. Los análisis estadísticos se realizaron con SAS 9.1 (PROC GLIMMIX y PROC NL MIXED), SPSS 13.0 para Windows y Macintosh (SPSS, Inc., Chicago, IL) y GraphPad Prism 3.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Se consideró significativa una *p* < 0,05.

RESULTADOS

Se diagnosticó una RP en 86 de 400 (21,5%) neonatos de nuestra cohorte. La incidencia de RP fue inversamente proporcional al PN, y la mayoría de los casos ocurrieron en la población < 1.000 gramos (tabla 1). Se diagnosticó

TABLA 1. Incidencia de RP por peso al nacimiento

Peso al nacimiento (gramos)	Incidencia de RP, n/N (%)
< 1.000	67/101 (66)
1.000-1.500	17/156 (11)
1.501-2.000	2/125 (2)
> 2.000	0/18 (0)

RP: retinopatía de la prematuridad.

TABLA 2. Comparación de los datos demográficos de las parejas de gemelos monozygóticos y dizigóticos

	MZ (n = 126)	DZ (n = 274)	P
EG ^a (semanas)	29,39 ± 2,29	29,22 ± 2,35	0,495
PN ^a (gramos)	1.344,67 ± 460,13	1.331,25 ± 444,81	0,944
Sexo masculino (n, %)	63 (50,00)	162 (59,12)	0,088
Apgar a los 5 minutos ^b	8	8	0,743
SDR (n, %)	77 (61,11)	181 (66,06)	0,337
RP (n, %)	21 (18,75)	65 (26,00)	0,134
DBP (n, %)	36 (28,57)	59 (21,53)	0,124
VENT ^a (días)	7,64 ± 12,85	9,67 ± 19,29	0,215
O ₂ ^a (días)	29,17 ± 35,69	30,06 ± 39,76	0,824
Duración de la estancia ^a (días)	54,12 ± 34,06	51,99 ± 31,75	0,564

DBP: displasia broncopulmonar; DZ: gemelos dizigóticos; EG: edad gestacional; MZ: gemelos monozygóticos; PN: peso al nacimiento; RP: resultado de interés; SDR: síndrome de *distrés* respiratorio; VENT: ventilación mecánica.

^aMedia ± DE; ^bmediana.

RP en 67 de 101 (66%) de estos neonatos, comparado con 17 de 156 (11%) de los de PN 1.000-1.500 gramos y 2 de 125 (2%) de los de PN 1.501-2.000 gramos (tabla 1). En la subpoblación de PN > 2.000 gramos no hubo diagnósticos de RP.

El análisis de zigosidad utilizó los datos de 63 parejas de gemelos MZ y 137 DZ de tres instituciones. Estas 200 parejas de gemelos tuvieron una media de EG y de PN de 29 semanas y 1.332 gramos, respectivamente. Pese a la discrepancia del número total de parejas de gemelos en cada grupo, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los gemelos MZ y DZ respecto a la EG, el PN, el sexo, la puntuación de Apgar a los 5 minutos, la incidencia de SDR, RP y DBP, la duración de la ventilación mecánica, la duración del oxígeno suplementario y la duración de la estancia hospitalaria (tabla 2).

El análisis RLEM se realizó utilizando la RP como variable dependiente, en un intento de identificar los factores significativos de nuestra cohorte que pudieran contribuir al resultado de interés (tabla 3). El análisis determinó que la EG (OR = 0,65, IC 95% = 0,45-0,94; *p* = 0,024) y O₂ (OR = 1,03, IC 95% = 1,01-1,05; *p* = 0,003) predijeron significativamente la RP (tabla 3). Los datos presentados muestran los resultados del análisis con y sin DBP como covariante. Investigadores anteriores habían demostrado una asociación entre RP y DBP en los neonatos pretérmino, sugiriendo la posibilidad de componentes compartidos, genéticos, no genéticos o de ambos tipos²². Como habíamos demostrado previamente una significativa susceptibilidad genética a la DBP²¹, nos preguntamos si la DBP y la RP podrían compartir factores genéticos. Para analizar este punto, realizamos el RLEM utilizando la DBP como variable dependiente y la RP como covariante (datos no ofrecidos), y luego la RP como variable dependiente y la DBP como covarian-

TABLA 3. Análisis de regresión logística de efectos mixtos para RP

Factores de predicción	Sin DBP			Con DBP		
	OR	IC 95%	p	OR	IC 95%	p
Varón	1,577	0,649-3,833	0,308	1,576	0,647-3,842	0,310
EG	0,645	0,448-0,927	0,019	0,651	0,450-0,942	0,024
PN	0,999	0,996-1,001	0,272	0,999	0,996-1,001	0,263
SDR	1,698	0,440-6,552	0,435	1,746	0,447-6,827	0,416
O ₂	1,029	1,014-1,043	< 0,001	1,031	1,011-1,051	0,003
INST			0,109			0,120
Karolinska Institute	1,068	0,189-6,040	0,940	1,097	0,192-6,269	0,916
University of Connecticut	0,351	0,124-0,991	0,048	0,359	0,126-1,025	0,056
DBP				0,812	0,203-3,241	0,764

DBP: displasia broncopulmonar; EG: edad gestacional; INST: institución de tratamiento; PN: peso al nacimiento; RP: resultado de interés; SDR: síndrome de *distrés* respiratorio.

te (tabla 3). Los datos demuestran que la RP y la DBP no predijeron de forma independiente entre sí (DBP como dependiente; $p = 0,090$; RP como dependiente; $p = 0,764$).

Una vez que el análisis RLEM identificó los cofactores no genéticos significativos de la RP se utilizó un modelo probit de variable latente para estimar la susceptibilidad genética a la RP. Nuestro modelo supuso que factores genéticos y factores no genéticos, compartidos o no, contribuyeron a la correlación entre los gemelos. Mediante este modelo, determinamos que el 70,1% (IC 95% = 0,09-1,00; $p = 0,026$) de la varianza de la responsabilidad de RP era consecuencia de los factores genéticos aislados.

DISCUSIÓN

La RP sigue siendo una causa significativa y prevalente de morbilidad en los neonatos pretérmino de todo el mundo²⁸. En los países más desarrollados, con programas de detección sistemática e intervenciones dirigidas a la prevención y el tratamiento, la RP sigue explicando del 3 al 11% de los casos de ceguera en los niños²⁸. Aunque la edad gestacional del neonato puede influir en gran medida sobre el inicio y la progresión de la RP, es probable la intervención de factores no relacionados con la prematuridad. Investigadores anteriores han intentado demostrar una asociación entre los factores genéticos y la susceptibilidad a la RP²⁹⁻³⁵. Los posibles genes candidatos evaluados son los mediadores fisiopatológicos conocidos implicados en estos procesos nosológicos. Han sido, principalmente, los mediadores de la angiogénesis de la retina en desarrollo, con especial énfasis en el VEGF^{29,30}, el gen de la enfermedad de Norrie³¹⁻³⁴ (NDP), y la enzima de conversión de angiotensina³⁵ (ECA). Estos estudios deben ser interpretados con cierta precaución. Hubo variaciones de los genes candidatos en pequeños subgrupos de sujetos y/o se limitaron geográficamente a poblaciones étnicas específicas, lo que hace dudosa su generalización. Aunque se ha publicado una cantidad importante de información respecto a estos polimorfismos genéticos²⁹⁻³⁵, ningún estudio definitivo anterior ha confirmado la existencia de una susceptibilidad genética a la RP. Tampoco se ha identificado con anterioridad la extensión de la contribución genética.

Los datos de nuestra cohorte consistieron en 200 parejas de gemelos MZ y DZ de dos centros estadounidenses

y uno sueco. Al comparar la concordancia de las parejas de gemelos MZ, que comparten el 100% de su información genética, con la de las parejas de gemelos DZ, que comparten al menos el 50%, y tras controlar respecto a covariantes no genéticas conocidas y no conocidas, pudimos estimar la contribución genética a la RP.

El modelo estadístico para estimar la susceptibilidad genética a la RP separó la varianza en tres grandes compartimentos: efectos genéticos aditivos (A), efectos no genéticos no compartidos o residuales (E) y efectos no genéticos comunes no identificados^{19,36} (C). Para determinar el efecto de (A) identificamos y estimamos la contribución de los componentes (E) y (C). Los efectos no genéticos residuales sólo estuvieron representados por las variables incluidas en el RLEM. Fueron, entre otros factores, los efectos de la prematuridad^{22,23,25,26}, el empleo de oxígeno suplementario^{22,26}, el SDR^{22,23}, y la DBP²²⁻²⁷; todos ellos factores de riesgo de RP previamente determinados. Un segundo componente (C) incluido en nuestro modelo valoró los posibles efectos de factores no identificados ni incorporados al RLEM (variables no disponibles en nuestro conjunto de datos). Fueron las posibles influencias de la raza^{16,37}, la hemorragia intraventricular^{22,23,25,26}, la leucomalacia periventricular²², la enterocolitis necrosante²⁵, y la septicemia^{22,23,27}, además de factores desconocidos no identificados. Mediante el modelo de los efectos de estos componentes no genéticos, pudimos determinar que el 70,1% de la varianza de la responsabilidad de la RP fue debido a factores genéticos aislados.

Aunque el análisis estadístico de nuestra cohorte determinó una significativa susceptibilidad genética a la RP, reconocemos algunas limitaciones de nuestros datos. Aunque los criterios para el diagnóstico y la clasificación de la RP están normalizados, todavía es posible el error y la discordancia, incluso entre los exploradores más expertos¹¹. Sin embargo, en nuestra cohorte fue la misma persona, o grupo de personas, quien realizó todas las exploraciones retinianas en cada centro durante todo el período del estudio. Además, nuestra cohorte se restringió a parejas de gemelos con información de la zigosidad, por lo tanto, de número limitado. No se pudo realizar un análisis específico de subgrupo para abordar las posibles diferencias de la susceptibilidad genética por PN, el estadio de la RP o ambas variables. Pese a esta limitación, no hubo diferencias en el porcentaje de neonatos con RP grave y/o PN < 1.000 gramos entre las pare-

jas de gemelos MZ y las DZ. Finalmente, las covariantes tomadas en nuestro conjunto de datos no incluyeron todos los factores que contribuyen a la RP. Sin embargo, intentamos controlar respecto a estas variables desconocidas en nuestro modelo estadístico.

Mediante nuestro modelo estadístico hemos identificado una significativa susceptibilidad genética a la RP. La magnitud de la contribución de los factores genéticos a esta importante causa de morbilidad neonatal acentúa la necesidad de un cambio del paradigma utilizado para identificar y tratar el proceso nosológico. Modelos similares que utilizaron datos de parejas de gemelos han revelado una sustancial herencia genética en varios trastornos, como la DBP²¹ (53%), la esquizofrenia³⁸ (82%), los trastornos esquizoafectivos³⁸ (85%), el trastorno bipolar tipo I³⁹ (93%), la enfermedad de Alzheimer⁴⁰ (79%) y el grosor corneal, que es un factor importante en el glaucoma⁴¹ (95%). También se ha demostrado que significativos efectos genéticos influyen sobre el rendimiento en lectura y en matemáticas⁴² (82%). La identificación de una influencia genética ha conducido al aislamiento de genes específicos asociados con alguno de estos trastornos, como la enfermedad de Alzheimer, la esquizofrenia y la dislexia⁴³⁻⁴⁷. Por ello, es posible realizar descubrimientos similares en la RP y el tratamiento dual dirigido a limitar los posibles factores ambientales de riesgo e identificar los factores genéticos específicos que puedan constituir el modelo de la futura intervención.

AGRADECIMIENTOS

El Dr. Bizzarro estuvo becado, en parte, por la beca de formación T32 HD 07094 del National Institute of Child Health and Human Development. En Estocolmo, el Dr. Jonsson recibió financiación de Sällskapet Barnavård y Stiftelsen Frimurare Barnhuset. La financiación del Dr. Ment provino del National Institute of Neurological Disorders and Stroke NS 27116, NS 35476 y NS 42027. El Dr. Gruen recibió la beca R01 NS43530 del National Institute of Neurological Disorders and Stroke. El National Institute on Drug Abuse otorgó las becas K02DA017713 y R01DA016750 al Dr. Zhang. La beca K08 HL 074195 del National Heart, Lung and Blood Institute fue otorgada al Dr. Bhandari.

BIBLIOGRAFÍA

- Reynolds JD. Retinopathy of prematurity. En: Nelson LB, Olitsky SE, editores. *Harley's Pediatric Ophthalmology*. 4.^a ed. Filadelfia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 77-8.
- Stone J, Itin A, Alon T, et al. Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression by neuroglia. *J Neurosci*. 1995; 15:4738-47.
- Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J*. 1999;13:9-22.
- Ferrara N, Bunting S. Vascular endothelial growth factor, a specific regulator of angiogenesis. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 1996;5:35-44.
- Recchia FM, Capone A. Contemporary understanding and management of retinopathy of prematurity. *Retina*. 2004; 24:283-92.
- Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. The natural outcome of premature birth and retinopathy: status at 1 year. *Arch Ophthalmol*. 1994;112: 903-12.
- Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Multicenter trial of cryotherapy for retinopathy of prematurity: Snellen visual acuity and structural outcome at 51/2 years after randomization. *Arch Ophthalmol*. 1996; 114:417-24.
- Quinn GE, Dobson V, Kivlin J, et al. Prevalence of myopia between 3 months and 51/2 years in preterm infants with and without retinopathy of prematurity: Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. *Ophthalmology*. 1998;105:1292-300.
- STOP-ROP Multicenter Study Group. Supplemental therapeutic oxygen for prethreshold retinopathy of prematurity (STOPROP), a randomized, controlled trial, part I: primary outcomes. *Pediatrics*. 2000;105:295-310.
- Early Treatment for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Revised indications for the treatment of retinopathy of prematurity: results of the early treatment for retinopathy of prematurity randomized trial. *Arch Ophthalmol*. 2003;121:1684-94.
- Reynolds JD, Dobson V, Quinn GE, et al. CRYO-ROP and LIGHT-ROP Cooperative Study Groups: evidence-based screening criteria for retinopathy of prematurity: natural history data from the CRYO-ROP and LIGHT-ROP studies. *Arch Ophthalmol*. 2002;120:1470-6.
- Good WV, Hardy RJ, Dobson V, et al. The incidence and course of retinopathy of prematurity: findings from the early treatment for retinopathy of prematurity study. *Pediatrics*. 2005;116:15-23.
- Kinsey VE, Jacobus JT, Hemphill F. Retrolental fibroplasias: cooperative study of retrolental fibroplasias and the use of oxygen. *Arch Ophthalmol*. 1956;56:481-547.
- Kinsey VE, Arnold HJ, Kalina RE, et al. PaO₂ levels and retrolental fibroplasia: a report of the cooperative study. *Pediatrics*. 1977;60:655-68.
- Dani C, Cecchi A, Bertini G. Role of oxidative stress as physiopathologic factor in the preterm infant. *Minerva Pediatr*. 2004;56:381-94.
- Palmer EA, Flynn JT, Hardy RJ, et al. Incidence and early course of retinopathy of prematurity: the Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. *Ophthalmology*. 1991;98:1628-40.
- International Committee for Classification of ROP. An international classification of retinopathy of prematurity. *Pediatrics*. 1984;74:127-33.
- Shennan AT, Dunn MS, Ohlsson A, Lennox K, Hoskins EM. Abnormal pulmonary outcomes in premature infants: prediction from oxygen requirement in the neonatal period. *Pediatrics*. 1988;82:527-32.
- Neale MC, Cardon LR. *Methodology for Genetic Studies of Twins and Families*. Dordrecht, Países Bajos: Kluwer Academic Publishers; 1992.
- Lynskey MT, Heath AC, Nelson EC, et al. Genetic and environmental contributions to cannabis dependence in a national young adult twin sample. *Psychol Med*. 2002;32: 195-207.
- Bhandari V, Bizzarro MJ, Shetty A, et al. Familial and genetic susceptibility to major neonatal morbidities in preterm twins. *Pediatrics*. 2006;117:1901-6.
- Hussain N, Clive J, Bhandari V. Current incidence of retinopathy of prematurity, 1989-1997. *Pediatrics*. 1999; 104(3). Disponible en: www.pediatrics.org/cgi/content/full/104/3/e26
- Holmström G, Broberger U, Thomassen P. Neonatal risk factors for retinopathy of prematurity: a population-based study. *Acta Ophthalmol Scand*. 1998;76:204-7.
- Ajayi OA, Raval D, Luchee N, Pildes RS. Ophthalmological morbidity in very-low-birthweight infants with bronchopulmonary dysplasia. *J Natl Med Assoc*. 1997;89: 679-83.
- Brown DR, Biglan AW, Stretavsky MM. Retinopathy of prematurity: the relationship with intraventricular hemorrhage and bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 1990;27:268-71.
- Purohit DM, Ellison RC, Zierler S, Miettinen OS, Nadas AS. Risk factors for retrolental fibroplasia: experience with 3,025 premature infants: National Collaborative Study on Patent Ductus Arteriosus in Premature Infants. *Pediatrics*. 1985;76:339-44.

27. Gilbert C, Fielder A, Gordillo L, et al. Characteristics of infants with severe retinopathy of prematurity in countries with low, moderate, and high levels of development: implications for screening programs. *Pediatrics*. 2005;115(5). Disponible en: www.pediatrics.org/cgi/content/full/115/5/e518
28. Vannay A, Dunai G, Banyasz I, et al. Association of genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor and risk for proliferative retinopathy of prematurity. *Pediatr Res*. 2005;57:396-8.
29. Cooke RW, Drury JA, Mountford R, Clark D. Genetic polymorphisms and retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:1712-5.
30. Shastry BS, Pendergrast SD, Hartner MK, Liu X, Trese MT. Identification of missense mutations in the Norrie disease gene associated with advanced retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol*. 1997;115:651-6.
31. Haider MZ, Devarajan LV, Al-Essa M, et al. Retinopathy of prematurity: mutations in the Norrie disease gene and the risk of progression to advanced stages. *Pediatr Int*. 2001;43:120-3.
32. Haider MZ, Devarajan LV, Al-Essa M, Kumar H. A C5973A polymorphism in the Norrie disease gene is associated with advanced retinopathy of prematurity in premature Kuwaiti infants. *J Biomed Sci*. 2002;9:365-70.
33. Kim JH, Yu YS, Kim J, Park SS. Mutations of the Norrie gene in Korean ROP infants. *Korean J Ophthalmol*. 2002;16:93-6.
34. Haider MZ, Devarajan LV, Al-Essa M, Kumar H. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism in Kuwaiti children with retinopathy of prematurity. *Biol Neonate*. 2002;82:84-8.
35. Williams CJ. On the covariance between parameter estimates in models of twin data. *Biometrics*. 1993;49:557-68.
36. Lang DM, Blackledge J, Arnold RW. Is Pacific race a retinopathy of prematurity risk factor? *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2005;159:771-3.
37. McGinnity FG, Halliday HL. Perinatal predictors of ocular morbidity in school children who were very low birth-weight. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 1993;7:417-25.
38. Cardno AG, Marshall EJ, Coid B, et al. Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series. *Arch Gen Psychiatry*. 1999;56:162-8.
39. Kieseppa T, Partonen T, Haukka J, Kaprio J, Lonnqvist J. High concordance of bipolar I disorder in a nationwide sample of twins. *Am J Psychiatry*. 2004;161:1814-21.
40. Gatz M, Reynolds CA, Fratiglioni L, et al. Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry*. 2006;63:168-74.
41. Toh TY, Liew SHM, MacKinnon JR, et al. Central corneal thickness is highly heritable: the twin eye studies. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46:3718-22.
42. Light JG, DeFries JC, Olson RK. Multivariate behavioral genetic analysis of achievement and cognitive measures in reading-disabled and control twin pairs. *Hum Biol*. 1998;70:215-37.
43. Holmans P, Hamshere M, Hollingsworth P, et al. Genome screen for loci influencing age at onset and rate of decline in late onset Alzheimer's disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2005;135:24-32.
44. Van Gassen G, Van Broeckhoven C. Molecular genetics of Alzheimer's disease: what have we learned? *Acta Neurol Belg*. 2000;100:65-76.
45. Tosato S, Dazzan P, Collier D. Association between the neuregulin 1 gene and schizophrenia: a systematic review. *Schizophr Bull*. 2005;31:613-7.
46. Williams NM, O'Donovan MC, Owen MJ. Is the dysbindin gene (*DTNBP1*) a susceptibility gene for schizophrenia? *Schizophr Bull*. 2005;31:800-5.
47. Meng H, Smith SD, Hager K, et al. *DCDC2* is associated with reading disability and modulates neuronal development in the brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:17053-8.