

# Genética y biología molecular en esquizofrenia

Humberto Nicolini<sup>1</sup>, Francisco Páez<sup>1</sup>, Juan Ramón de la Fuente<sup>2</sup>

<sup>1</sup>División de Investigaciones Clínicas del Instituto Mexicano de Psiquiatría y Unidad de Genética Molecular Psiquiátrica, Programa Universitario de la Investigación en Salud, UNAM, <sup>2</sup>Dirección de la Facultad de Medicina, UNAM

(Recibido, septiembre 21, 1994; aceptado, marzo 6, 1995.)

El concepto de gen se describió inicialmente por el año de 1941 y, en términos funcionales, se define como la información química estructural contenida en el núcleo de las células y que al ser descifrada se traduce en una proteína o enzima. A partir de esta fecha hubo un progreso importante en el análisis del material genético, lo que propició, entre otros hallazgos, el descubrimiento de que los genes están compuestos por el ácido desoxiribonucleico (ADN). Los miles de genes que nos constituyen (junto con otros químicos como proteínas y otros tipos de ADN) se agrupan en madejas dentro de la célula, que se llaman cromosomas. Los cromosomas se encuentran dentro del núcleo de la célula y sólo son visibles en ciertas fases del ciclo celular.

Para dar una mayor claridad a estos conceptos, podríamos hacer la siguiente analogía: el planeta tierra sería el equivalente a una de nuestras células (todas las células nucleadas del organismo tienen la misma información genética), un país sería el núcleo, un estado sería un cromosoma, una población sería un gen y los habitantes serían los nucleótidos. A excepción de los gemelos monocigóticos, no existen dos genotipos (configuración genética de un individuo) iguales; de tal manera que los nucleótidos constituyentes de los genes proveen una base donde se asientan las diferencias individuales y donde actúan las poderosas fuerzas de la evolución.

La constitución genética de un individuo o genotipo se refleja de diferentes maneras en los seres vivos, tanto en proteínas que podemos identificar en el laboratorio, o bien como características que podemos

ver o medir (el color de pelo o la talla). Otra de las expresiones del genotipo, y probablemente la más compleja, es el comportamiento. A la expresión del genotipo se le llama fenotipo, por lo tanto si queremos estudiar las bases genéticas de una conducta, como la esquizofrenia, nos referimos a ella como el fenotipo de estudio.

Desde un punto de vista práctico, en el área de la genética de la conducta humana, resulta menos difícil el tratar de estudiar la influencia de los genes si partimos de los fenotipos anormales (enfermedades de la conducta), que si estudiamos los fenotipos normales. La variabilidad humana afectaría seriamente la definición de la normalidad, y nos opondría serias dificultades metodológicas. Lo más probable es que las principales aportaciones para el entendimiento de la conducta humana partirán de la identificación de los genes que provocan conductas patológicas donde, cuando menos, existe algún consenso en la clasificación y definición de las mismas.

Al descubrir la naturaleza de la disfunción de estos genes (mutación) será más fácil examinar cuál es la función normal de los mismos. Por ejemplo, si existe una mutación en un gen hipotético y el resultado es el fenotipo "esquizofrenia", la pregunta inmediata sería ¿cuál es la función normal de este gen que, cuando se altera su estructura y, por lo tanto, su producto, provoca el fenotipo llamado esquizofrenia?

La naturaleza familiar de las enfermedades mentales ha sido reconocida desde tiempos muy remotos. En las descripciones de Kraepelin y Bleuler se hacía mención a la transmisión familiar de algunas

patologías. Ahora bien, no todo lo que se agrega en las familias es forzosamente genético. Entonces, la pregunta siguiente a contestar sería ¿cómo delimitamos las fronteras entre lo innato y lo adquirido? Esta pregunta plantea uno de los problemas de más difícil solución en esta área y dar una respuesta a tan complicada y trascendente pregunta ha sido el interés de varias generaciones de científicos.

Los investigadores de la genética de la conducta humana, con el objeto de lograr la meta de identificar los genes que causan patología, han desarrollado una serie de metodologías (estudios de familias, de gemelos, de sujetos dados en adopción, del modo de transmisión genética y de mapeo genético) que discutiremos a continuación, procurando hacer énfasis en los hallazgos relacionados con la esquizofrenia.

**Estudios de familias.** La primera estrategia utilizada en la búsqueda de las bases genéticas de los trastornos mentales ha sido la de los estudios en familias. Estos estudios comparan la frecuencia con la que los parientes de pacientes con enfermedades psiquiátricas presentan, a su vez, las mismas patologías. Si esta frecuencia es mayor a la esperada para la población general se concluye que la enfermedad se agrega en las familias. Como ya se mencionó, esto no implica que la enfermedad tenga un origen genético, pero, la ausencia de agregación familiar, prácticamente lo descarta.

Los estudios en familias han arrojado datos que demuestran una agregación mayor para varias de las enfermedades psiquiátricas en los parientes de los *probandos* que lo esperado para la población general (un probando es aquel sujeto afectado por la enfermedad, cuya familia es captada para el estudio genético). Con base en los estudios de probandos que padecen diversas patologías psiquiátricas se han podido hacer algunas estimaciones generales de los riesgos de afección a familiares.

En los últimos 70 años han aparecido más de 20 estudios familiares de esquizofrenia que demuestran que el riesgo estimado para la enfermedad en familiares de probandos esquizofrénicos es de 10.1% en hermanos, 5.6% en padres y 12.8% en hijos. El riesgo de familiares en segundo grado varía de 2.4 a 4.2% y en familiares de tercer grado el riesgo es de aproximadamente 2.4%. Todos estos valores son muy superiores al 2% en la población en que se estima la prevalencia de esquizofrenia<sup>1</sup>. Incluso, diversos autores han sugerido que los sujetos con patología psiquiátrica que tienen antecedentes familiares

positivos tienen una menor edad de inicio, una mayor frecuencia de alteraciones neurológicas tanto fisiológicas como estructurales (mayor severidad) y diferencias sutiles en cuanto a la presentación clínica de los cuadros<sup>2-5</sup>. Es importante resaltar que estos hallazgos son hasta el momento controversiales<sup>3,6-8</sup>.

Uno de los problemas que enfrentan los estudios familiares, y en general todos los tipos de estudios genético-psiquiátricos, es el del diagnóstico y la comorbilidad que existe en los probandos y sus familiares. Esto es, la posibilidad que existe que un individuo tenga más de un diagnóstico, o bien, que alguno de los familiares tenga un diagnóstico que pertenece a un grupo taxonómico diferente.

Se han propuesto taxonomías clínicas basadas en los antecedentes familiares, pero, hasta el momento únicamente se consideran como elucubraciones; por ejemplo, dada la agregación familiar que existe de los trastornos afectivos en esquizofrenia, se ha sugerido que si se reportan pacientes con trastorno bipolar en la historia familiar de un sujeto esquizofrénico, el diagnóstico debe de ponerse en duda<sup>2</sup>.

Entre las dificultades metodológicas con que también se topan los estudios familiares en seres humanos, en contraste con los estudios en animales, tenemos, en primer lugar, la falta de control en los primeros sobre los efectos del medio ambiente, cosa que no sucede con los animales de experimentación; y en segundo lugar, los experimentos de cruza, cuya utilidad es grande y que debido a razones obvias no se pueden llevar a cabo en seres humanos.

Otro de los problemas de los estudios de familias humanas es la recolección de la información en cada uno de los integrantes de la misma. En muchas ocasiones no se puede contactar a todos y cada uno de ellos por razones desde demográficas hasta puramente motivacionales.

Para tratar de superar todos estos obstáculos metodológicos, se han diseñado ingeniosas estrategias como las de los estudios en gemelos y los estudios en los sujetos dados en adopción.

**Estudios en gemelos.** Como se demostró en el apartado anterior, varias de las enfermedades mentales corren en las familias. La siguiente pregunta que se nos plantea es qué tanto de los fenotipos psiquiátricos son consecuencia de la acción de los genes. Una de las estrategias diseñadas para aclarar este aspecto son los estudios en gemelos. Esta metodología consiste en comparar la concordancia

diagnóstica entre los gemelos monocigóticos (MZ = (genéticamente iguales) y la concordancia diagnóstica entre los gemelos dicigóticos (DZ) (que comparten sólo el 50% de su genoma). De esta manera si una enfermedad es completamente genética, lo esperado es un 100% de concordancia entre los MZ y un 50% entre los DZ; es decir, una concordancia entre MZ dos veces mayor a la de los DZ. Los estudios generalizados en esquizofrénicos confirman lo anterior, con una concordancia para la enfermedad de 59.2% en monocigotos y 15.2% en dicigóticos<sup>9</sup>.

Los estudios en gemelos permiten estimar el coeficiente de heredabilidad, el cual se define como la varianza del fenotipo dada por el genotipo. De esta manera, al revisar la literatura encontramos que los estudios concluyen que cierta enfermedad o característica, como por ejemplo el coeficiente intelectual (CI) tiene una proporción genética del 70%<sup>10</sup>.

Por otro lado, al estudiar a los hijos de los gemelos idénticos, quienes genéticamente serían como hermanos (aunque desde el punto de vista familiar sean primos-hermanos), se ha corroborado la importancia de los genes en la conducta. Con un abordaje de este tipo, Gottesman y cols estudiaron a los hijos de gemelos con esquizofrenia, tanto monocigóticos como dicigóticos y reportaron que el riesgo de morbilidad para gemelos MZ era de 16.8% y de 17.4% para los hijos del co-gemelo normal. Por otro lado, en los hijos de los gemelos DZ afectados el riesgo es de 17.4% y en los hijos de sus co-gemelos sanos del 2.1%.

De la misma manera que, en los estudios familiares, se han observado diferencias en los patrones clínicos de presentación de la sintomatología que, aparentemente, son dependientes de la influencia genética. Este es el caso en los esquizofrénicos que provenían de gemelos monocigóticos concordantes para el diagnóstico, quienes presentaron un mayor número de síntomas negativos, un pobre ajuste premórbido, una menor cantidad de síntomas paranoides y edades de inicio más tempranas que los gemelos discordantes para el diagnóstico<sup>11</sup>.

**Estudios en sujetos dados en adopción.** Una vez que se ha demostrado que existe mayor concordancia en gemelos monocigóticos que en dicigóticos, lo que sigue es tratar de discriminar los efectos genéticos de los ambientales. Para ello, se diseñó la metodología de los gemelos dados en adopción y criados por separado. Con ello lo que se pretende es observar si persiste la concordancia en gemelos monocigóticos, a pesar de

que los hermanos sean criados en medios familiares diferentes, así como la demostración de que en los familiares biológicos la frecuencia de la enfermedad será mayor que en los familiares de la familia que adoptó. Si esto se confirmara, entonces se puede afirmar con mayor seguridad que los genes juegan un papel primordial en el origen de la enfermedad.

La factibilidad de los estudios de sujetos dados en adopción resulta prácticamente nula en países que no cuentan con magníficos registros civiles de sus habitantes, por lo que no son muy abundantes en la literatura.

Gottesman y cols<sup>12</sup> revisaron los resultados de los estudios daneses de adopción de Rosenthal y Kethy, así como otros estudios más recientes de estos mismos grupos de investigadores y concluyeron que, en términos generales, la evidencia señala que la frecuencia de esquizofrenia y de los padecimientos del espectro esquizofrénico (en especial el trastorno esquizofreinoirme) se encuentra más elevada en los familiares biológicos que en los de los grupos control. Estos datos son corroborados por los resultados de los estudios en gemelos.

**Estudios del modo de transmisión genética.** Las enfermedades genéticas se heredan siguiendo los patrones de la herencia mendeliana. Estas formas de transmisión de las enfermedades genéticas se pueden encuadrar en cuatro grandes grupos que son: la herencia autosómica dominante (riesgo de transmisión del 50% por nacimiento), la autosómica recesiva (riesgo de transmisión del 25% por nacimiento), la ligada al cromosoma X (todos los varones que heredan el gen mutado están afectados y la mitad de las mujeres son portadoras) y la multifactorial (poligénica e influencias medioambientales).

¿Como saber si las enfermedades mentales obedecen a lo esperado por las leyes de la herencia mendeliana? La respuesta a esta pregunta se puede obtener estadísticamente por medio del análisis de segregación. A través de estos cálculos se han sugerido tres variedades genéticas de esquizofrenia: la autosómica dominante, la autosómica recesiva y la multifactorial<sup>13,14</sup>.

El encontrar diversos patrones de herencia, habla del fenómeno de heterogeneidad genética. Esto quiere decir que hay formas clínicas aparentemente iguales y que por lo tanto denominamos a este fenotipo común como "esquizofrenia", pero son causadas por diferentes mutaciones, en diferentes loci,

junto con la presencia de fenocopias (formas no genéticas de la enfermedad, pero muy similares clínicamente).

Los conocimientos expuestos hasta el momento han sido explotados reiteradamente y es probable que casi hasta el agotamiento. Parecía ser que la genética de los trastornos mentales había llegado a un callejón sin salida, pero, es en la década de los años ochenta, con el surgimiento de la biología molecular aplicada a la investigación clínica, cuando surgen nuevos caminos prometedores en la búsqueda de la influencia de los genes en la psicopatología.

**La biología molecular en la esquizofrenia.** La biología molecular en la psiquiatría ha abierto un nuevo camino para tratar de desentrañar la etiología bioquímico-molecular de los trastornos mentales, por medio de la localización cromosómica de los genes causantes de los subtipos "puramente genéticos" de estas enfermedades. Los últimos 15 años han sido testigo de la explosión de la biología molecular dentro del campo de la clínica médica. Este hecho significativo ha generado una gran cantidad de conocimiento fundamental dentro de la etiopatogenia de un número importante de enfermedades.

Como ejemplos basta mencionar el caso de la fibrosis quística donde, gracias a este desarrollo teórico-tecnológico, sabemos que la base molecular de esta enfermedad se encuentra en los canales de cloro del epitelio pulmonar. Otro ejemplo es la distrofia muscular de Duchenne, que hasta hace pocos años se refería en los libros médicos como de etiología desconocida, y ahora sabemos que la enfermedad está causada por una mutación en el cromosoma X, en un gen que codifica para una nueva proteína llamada distrofina.

La genética moderna es la llamada genética "reversa" o "clonación posicional", donde es posible iniciar la búsqueda de las mutaciones directamente en los genes y no a través de sus productos, como era la forma tradicional. De esta manera es posible iniciar la investigación del defecto genético a través del mapeo cromosómico de los posibles genes involucrados en la susceptibilidad a las enfermedades mentales; y una vez localizados, clonarlos estudiar sus productos, con el consecuente entendimiento de la etiología y, a su vez, en el diseño de mejores herramientas terapéuticas. Sin embargo, una línea de investigación tan interesante y prometedora como ésta, no necesariamente es una tarea fácil. El mapeo molecular de los genes de las enfermedades mentales es una de las empresas más

difíciles dentro del proyecto del genoma humano.

El método de enlace génico ha demostrado ser una excelente herramienta para poder localizar los genes de un gran número de enfermedades mendelianas. Una característica particular de esta estrategia es la de ser especialmente útil en aquellas enfermedades donde existe poco o ningún conocimiento de su etiopatogenia<sup>15</sup>.

La idea fundamental de los estudios de enlace génico es la de analizar la cosegregación de una enfermedad con un marcador polimórfico. Esto es, si asumimos que un marcador polimórfico, cuya localización es conocida, se encuentra muy cerca al gen que se relaciona con una enfermedad, las posibilidades de que estos "recombinen" juntos durante la meiosis es alta. Si esto es así, decimos que los dos genes están enlazados.

Si dos genes no están enlazados, la posibilidad de que recombinen juntos es de 0.50 (es decir el azar); en cambio, entre menor sea la posibilidad de recombinación (0.1, 0.2, 0.3 ó 0.4), decimos que los genes están más cercanos entre sí. Así pues, la fracción de recombinación es un valor que nos habla de la distancia entre dos genes<sup>16</sup>.

La evidencia estadística del enlace génico es llamada "el índice lod". Este término, que proviene de la abreviación de "logaritmo de las probabilidades" (log of the odds), se obtiene a partir de la siguiente fórmula

$$\log = \frac{\text{Probabilidad de encontrar una configuración familiar que asume enlace génico (fracciones de recombinación menores a 0.5)}}{\text{Probabilidad de encontrar una configuración familiar que asume ausencia de enlace (Fracción de recombinación = 0.5)}}$$

A este resultado se le calcula el logaritmo base diez, y ello permite sumar los resultados obtenidos en distintas familias.

El comité del mapeo del genoma humano ha establecido ciertos requisitos que tienen que ser cubiertos para poder asignar un locus determinado a un gen. Estos son: la evidencia significativa de enlace (se ha establecido un índice lod > 3 para decir que es significativo, que quiere decir 1,000:1 posibilidades de que exista enlace) y la replicación de este resultado por dos laboratorios distintos y de manera independiente.

Uno de los descubrimientos que tuvo un gran impacto en la genética molecular, fue el de Kan y cols., del primer polimorfismo de longitud dentro de la molécula del DNA<sup>17</sup>. Estos polimorfismos se obtienen por medio del corte de enzimas de restricción generando fragmentos de tamaño variable (en inglés conocidos como Restriction Fragments Length Polymorphisms, RFPL). Estos fragmentos son heredados mendelianamente y se convirtieron en uno de los más importantes instrumentos en el mapeo de los genes<sup>18</sup>.

Para el año de 1981 se conocían 23 loci que contenían polimorfismos de DNA. Más adelante en 1989 se conocían ya 2,000 marcadores polimórficos de DNA, mismos que se compilaron en un catálogo<sup>19</sup>. Hasta el momento (1994), se conocen cerca de 4,000 de estos marcadores distribuidos a lo largo de todo el genoma. Esta gran disponibilidad de marcadores genéticos ha permitido generar haplotipos de regiones cromosómicas en particular, y de esta manera poder evaluar extensas áreas del genoma.

Por otro lado, en aquellas zonas del genoma donde se obtengan índices Lod significativamente negativos ( $Z = -2$ ) permiten generar mapas de exclusión, los cuales facilitan la tarea de búsqueda de los genes, debido a que hacen más pequeñas las búsquedas y es posible avocarse entonces a las regiones donde no se ha buscado. Sin embargo, es importante apuntar que el método de enlace génico es una prueba paramétrica, por lo que los resultados dependen de la manera en como se han especificado los parámetros. Esto dificulta la posible generalización de los resultados, debido a la gran variabilidad que puede existir en los valores de dichos parámetros (modo de herencia, frecuencia de fenocopias, frecuencia de los alelos, etcétera.).

La genética molecular enfrenta un problema importante. Si sabemos que la cantidad de genes agrupados en los cromosomas es inmensa, entonces, ¿en cuáles de ellos tenemos que empezar a buscar para tratar de asociarlos con una patología, en este caso la esquizofrenia? Para esto se han ideado diferentes formas de aproximación.

Los estudios de mapeo genético molecular en la esquizofrenia surgieron inicialmente a raíz de un hallazgo citogenético donde se reportó una alteración en el cromosoma 5 que cosegregaba con la enfermedad. Es decir, una alteración cromosómica detectada en una familia orientó sobre la posibilidad de que un gen relacionado con la enfermedad se

encontrara en dicho cromosoma<sup>20</sup>. Poco tiempo después, se encontró evidencia significativa de enlace génico en un grupo de familias en el cromosoma 5<sup>21</sup>, pero hasta el momento, y después de una gran cantidad de estudios similares, no ha sido posible reproducir estos hallazgos por ningún otro grupo de investigación<sup>22</sup>.

En la actualidad se han clonado varios genes, cuyos productos (enzimas, receptores) son de especial relevancia para el funcionamiento del sistema nervioso central (SNC). Para algunos de ellos, existe evidencia que sugiere que su mal funcionamiento puede contribuir al desarrollo de la esquizofrenia y, por esta razón, son "genes" candidatos interesantes para el mapeo molecular de la enfermedad; la búsqueda de marcadores biológicos para la enfermedad promete seguir aportando posibles genes que vale la pena relacionar con la enfermedad.

Entre algunos de estos genes "candidato" tenemos a aquellos que pertenecen al sistema dopaminérgico. La dopamina ha sido el neurotransmisor más comúnmente asociado con la patogénesis y síntomas de la esquizofrenia. Los medicamentos que potencializan la acción dopaminérgica, como las anfetaminas, empeoran los síntomas en los esquizofrénicos y producen psicosis parecidas a las de los esquizofrénicos en sujetos normales<sup>23</sup>. Por otro lado, existe evidencia de que los medicamentos antipsicóticos ejercen su acción mediante el bloqueo de los receptores D2<sup>24</sup>.

En su forma original la hipótesis dopaminérgica de la esquizofrenia postulaba que existía un aumento en el tono dopaminérgico en la regulación de este neurotransmisor en distintas áreas cerebrales, especialmente la corteza mesolímbica, originada en el área tegmental ventral y que estaban asociadas con los síntomas de la enfermedad<sup>24-26</sup>. Esta hipótesis se ha modificado y se postula un tono dopaminérgico disminuido (especialmente en la corteza prefrontal dorsolateral), lo que resulta en una relativa hiperactividad de estructuras subcorticales, secundarias a una alteración en la regulación de las vías descendentes corticales y subcorticales<sup>27</sup>.

También se han evaluado otras metodologías para estudiar la función dopaminérgica en esquizofrénicos como son: las mediciones hormonales, la evaluación de la actividad y el número de receptores dopaminérgicos y, finalmente, determinaciones de los niveles de dopamina y sus metabolitos. Estos estudios han producido resultados inconsistentes y contradictorios,

donde es difícil establecer que tanto los efectos observados se deben a la medicación previa<sup>28</sup> o a la enfermedad propiamente.

Hasta hace pocos años, sólo se sabía de la existencia de dos subtipos de receptores dopaminérgicos (D1 y D2). Ambos receptores están acoplados a sus funciones efectoras específicas a través de las proteínas G<sup>28</sup>. Los receptores D1 activan la enzima adenilato ciclasa e incrementan los niveles intracelulares de AMPc. Los receptores D2 ejercen una influencia inhibitoria de esta enzima y se piensa que tal vez están coplados a sistemas de segundos mensajeros como la inhibición de fosfatidil inositol, la activación de los canales de potasio y la inhibición de los canales de calcio<sup>29,30</sup>.

En la actualidad, gracias a las técnicas de biología molecular, ha sido posible identificar 5 subtipos de receptores a través de su secuencia de nucleótidos, en vez del criterio único de sus propiedades bioquímicas<sup>30</sup>.

El receptor D2 fue el primero en ser clonado y como consecuencia es, a la fecha, el que mejor se ha estudiado. Este receptor tiene 7 dominios transmembranales, donde el N-terminal se encuentra localizado en la superficie membranal y el C-terminal en el citosol. Esta estructura se ha postulado para todos los receptores acoplados a proteínas G. Las áreas de mayor expresión de este gen en el cerebro corresponden a las principales proyecciones dopaminérgicas como el núcleo caudado, el putamen, el núcleo acumbens y el tubérculo olfatorio<sup>31,32</sup>.

El gen del receptor D2 es único en el genoma. Se han detectado la presencia de 8 exones y se encuentra en el cromosoma 11q22-23<sup>33</sup>. En este mismo estudio se reporta que una secuencia de ADN que comprende al exon 3' en su totalidad, una porción intrónica 5' y un fragmento 3' no codificador ( $\lambda$ -hD2GI), identifica un polimorfismo generado con la enzima TaqI y posee dos alelos; el alelo A1 con una banda de 6.6 Kb y una frecuencia del 25% y el alelo A2 que se presenta como 2 bandas de 2.9 y 3.7 Kb y con una frecuencia del 76%. Se han descrito también secuencias repetitivas en este gen, lo que hace posible generar secuencias iniciadoras (primers) para detectar polimorfismos por medio de la "Reacción en Cadena de la Polimerasa" (RCP) (J. Kennedy, comunicación personal).

Otro receptor de gran importancia en la fisiopatología de la esquizofrenia es el D4. Este

receptor parece ser el sitio de acción de un antipsicótico no convencional, la clozapina, que ha demostrado ser eficiente en el control de la sintomatología psicótica y no producir síntomas parkinsonianos<sup>34</sup>. El gen del receptor D4 se encuentra localizado en el cromosoma 11p15.5 y presenta también secuencias repetitivas que generan polimorfismos detectables por RCP<sup>35</sup>.

La enzima tirosina hidroxilasa es otro elemento muy importante en el metabolismo dopaminérgico. Esta es la principal enzima limitante en el metabolismo de la dopamina<sup>36</sup>. El gen que la codifica se ha identificado en el cromosoma 11p15. y presenta secuencias repetitivas que generan polimorfismos detectables por la RCP<sup>37</sup>.

Dada la evidencia que involucra al sistema dopaminérgico en la etiopatología de la esquizofrenia, los genes de las enzimas y receptores de este sistema resultan ser buenos candidatos para el mapeo molecular de esta enfermedad.

Nuestro grupo realizó un estudio de estos genes en pacientes esquizofrénicos mexicanos<sup>38</sup>. En este estudio utilizamos fragmentos de ADN repetitivo dentro de los diferentes genes estudiados. El uso de este tipo de sondas de ADN es una estrategia de mapeo relativamente novedosa, que dadas las características de las sondas generan mucha mayor información polimórfica<sup>39</sup>. Por otro lado, el uso de la tecnología de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP) permite estudiar a un mayor número de sujetos en menor tiempo. El problema principal de esta metodología es que para generar las secuencias iniciadoras (primer) es necesario conocer de antemano algo de la secuencia del gen que nos interesa, lo cual limita, en la actualidad, el número de sondas disponibles. Este inconveniente dejará de serlo en el futuro, cuando se hayan secuenciado mayores porciones del genoma humano.

En todos los pacientes y en algunos de los familiares disponibles se llevó a cabo la determinación de sus genotipos para el receptor a dopamina D2, D4 y la enzima tirosina hidroxilasa. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Se hicieron varios cálculos de los índices Lod, asumiendo diferentes valores para la penetrancia (100, 70 y 50). No se encontró evidencia de enlace génico entre ninguno de los genes estudiados y la esquizofrenia. Sin embargo, se pudo excluir significativamente al gen del receptor D2 como contribuyente a la susceptibilidad para la enfermedad, únicamente si

consideramos una penetrancia del 100%. Con valores menores de la penetrancia, aunque los índices Lod permanecen negativos, no alcanza el nivel de significancia para exclusión de enlace.

Los genes del sistema dopaminérgico, dada la evidencia psicofarmacológica, constituyen evidentes genes candidatos para el mapeo molecular de la esquizofrenia. Sin embargo, existen pocos estudios que abordan esta posibilidad.

El receptor D2 a dopamina ha sido estudiado hasta el momento en dos familias de esquizofrénicos, una de ellas proveniente de Suecia y la otra de California, como parte de un mismo reporte, y donde en el análisis realizado, no sólo no encontró evidencia de enlace génico, sino que incluso excluyó de manera significativa a esta región (27 centi-Morgans (cM) del locus del D2). En el análisis de enlace génico, los parámetros empleados fueron una frecuencia de la enfermedad de acuerdo a la prevalencia en la población sueca que es del 3% aproximadamente; diversos valores de la penetrancia (que oscilaron desde 0.56 hasta 0.72); y una hipótesis de transmisión de tipo dominante<sup>40</sup>. Este estudio difiere con el nuestro en cuanto a que la prevalencia de la enfermedad (frecuencia del alelo mutado) se consideró del 1%, que es la mundialmente establecida para esquizofrenia<sup>41</sup>.

Otro grupo de investigadores<sup>42</sup> han estudiado la relación del gen del receptor D2 y la esquizofrenia. La metodología que emplearon fue la de secuenciar directamente el gen del receptor D2 en 14 pacientes esquizofrénicos y 4 controles, sin encontrar diferencias estructurales.

El mejor conocimiento de los mecanismos dopaminérgicos ayudará a identificar la manera precisa en la cual esta vía metabólica contribuye a la esquizofrenia. Por ejemplo, Pilowsky y cols. en 1992, demostraron por medio de la técnica de tomografía por emisión de fotones únicos, un pobre bloqueo de los receptores D2 en pacientes que clínicamente respondieron a la clozapina<sup>43</sup>. Este hallazgo genera dudas acerca del mecanismo por el cual los neurolépticos convencionales ejercen realmente su acción antipsicótica. En este sentido, se sabe que la clozapina actúa en otros receptores como: 5HT<sub>2</sub>, 5HT<sub>3</sub> y D<sub>4</sub><sup>44</sup>. Los receptores serotoninérgicos

constituyen también, interesantes genes candidatos para el estudio de la esquizofrenia. Recientemente, Hallmayer y cols. 1992 excluyeron como gen candidato al gen del receptor 5HT-2 en una familia sueca con varios sujetos afectados con esquizofrenia<sup>39</sup>

Muchos de los genes de interés para la psiquiatría ya han sido clonados y algunos de ellos se encuentran en proceso de secuenciación como es el caso del receptor D<sub>4</sub>, la enzima tirosina hidroxilasa (TH) y la monoamino oxidasa (MAO), entre otros. Por lo que el uso de esta metodología promete ser de gran utilidad en este campo.

**Conclusiones y consideraciones futuras.** El desarrollo de diversas metodologías, principalmente la biología molecular, ha permitido grandes avances en el conocimiento de la genética de la conducta. Sin embargo, es necesario profundizar las hipótesis, ya sea mediante la creación de metodologías diferentes, o bien, mediante el perfeccionamiento de las actuales, pero que de cualquier manera nos permitan adentrarnos de manera más sólida en los motivos biológicos de la conducta humana. El descubrimiento de las bases genéticas de la esquizofrenia está íntimamente ligado al desarrollo de todas las líneas de investigación en neurociencias. Cualquiera de ellas, podrá en su momento convertirse en la vía más fértil para llegar a la verdad.

Finalmente, nos gustaría asentar que el diagnóstico genético, en ocasiones prenatal, de las enfermedades de aparición tardía, como son la mayoría de las psiquiátricas, puede tener serias implicaciones para la calidad de vida del sujeto como son: la estigmatización (social, económica-debido a los seguros médicos, oferta de trabajo, etcétera), la planeación del futuro, la capacidad reproductiva e incluso, en el caso del diagnóstico prenatal, la posibilidad del aborto selectivo.

Todos estos factores hacen necesario el planear con anticipación las estrategias necesarias para la selección de los sujetos de estudio y las condiciones bajo las cuales tiene que ser impartido el consejo genético-molecular de trastornos de la conducta, de manera de buscar siempre el bienestar biopsicosocial del individuo.

## Referencias

1. Gottesman I, Shields J. Schizophrenia. The epigenetic puzzle. Cambridge University Press, New York, 1982.
2. Kendler K, Hays P. Familial and sporadic schizophrenia: a symptomatic, prognostic, and EEG comparison. *Am J Psychiatry* 1982;139:1557-62.
3. Kendler K, Tsuang M, Hays P. Age at onset in schizophrenia. A familial perspective. *Arch Gen Psychiatry* 1987;44:881-90.
4. Shimizu A, Kurachi M, Yamaguchi N, Torii H, Isaki K. Does family history of schizophrenia influence age at onset of schizophrenia? *Acta Psychiatr Scand* 1988;78:716-9.
5. Pauls D, Towbin K, Leckman J, Zahner G, Cohen D, Gilles de la Tourette's syndrome and obsessive-compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry* 1986;43:1180-2.
6. Murray R, Lewis S, Reveley A. Towards an aetiological classification of schizophrenia. *The Lancet* 1985;May 4:1023-6.
7. Kendler K, Hays P. Schizophrenia subdivided by the family history of affective disorder. A comparison of symptomatology and course of illness. *Arch Gen Psychiatry* 1983;40:951-5.
8. Kendler K, Gruenberg A, Tsuang M. A family study of the subtypes of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1988;145:57-62.
9. Kendler KS. Genetics of Schizophrenia. In: Frances AJ, Hales RE, eds. *The American Psychiatric Association Annual Review*, vol 5, Washington DC, American Psychiatry Press, 1986.
10. Bouchard T, Lykken D, McGue M, Segal N, Tellegen A. Sources of human psychological differences: The Minnesota study of twins reared apart. *Science*, 1990;250:223-50.
11. Dworkin R, Lenzenweger M, Moldin S, Skillings G, Levick S. A multidimensional approach to the genetics of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1988;145:1077-83.
12. Gottesman I, Shields J. A critical review of recent adoption twin and family studies of schizophrenia: behavioral genetics and perspectives. *Schizophrenia Bull* 1976; 2 (3): 360-98.
13. McGue M, Gottesman I, Rao D. The analysis of schizophrenia family data. *Behavior Genetics* 1986;16(1):75-87.
14. Risch N, Baron M. Segregation analysis of schizophrenia and related disorders. *Am J Hum Genet*, 1984;36:1039-59.
15. Nicolini H. Los nexos genéticos (Linkage) de las entidades psiquiátricas. *Salud Mental*. 1989;12:47-51.
16. Nicolini H, Camarena B, De la Fuente JR. Mapeo cromosómico molecular en enfermedades psiquiátricas. *Acta Psiquiátrica y Psicológica de America Latina* 1993;39:(1):45-9.
17. Kan Y, Dozy A. Polymorphism of DNA sequence adjacent to human beta globin structural gene: relationship to sickle mutation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75: 5331-15.
18. Botstein D, White R, Skolnick M, Davis R. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 1980;32:314-31.
19. *Human Gene Mapping 9. Paris Conference*. *Cytogenet and Cell Genet* 1987;46:1-762. Karger edit.
20. Basset A, McGillivray B, Jones B, Pantzar T. Partial trisomy chromosome 5 cosegregating with schizophrenia. *The Lancet* 1988;april 9:799-801.
21. Sherrington R, Brynjolfsson J, Petursson H, Potter M, Dudleston K, Barraclough B, Wasmuth J, Dobbs M, Gurling H. Localization of a susceptibility locus for schizophrenia on chromosome 5. *Nature* 1988;336:164-7.
22. Kennedy J, Giuffra L, Moises H, Cavalli-Sforza L, Pakstis H, Kidd J, Castiglione C, Wetterberg L, Kidd K. Evidence against linkage of schizophrenia to markers on chromosome 5 in a northern Swedish pedigree. *Nature* 1988;336:167-70.
23. Snyder S. Amphetamine psychosis: A 'model' schizophrenia mediated by catecholamines. *Am J Psychiatry* 1973;130:61-6.
24. Creese I, Burt I, Snyder S. Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. *Science* 1976;192:481-3.
25. Seeman P, Lee T, Chau-Wong M, Wong K. Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. *Nature* 1976;261:717-9.
26. Snyder S. The dopamine hypothesis in schizophrenia: Focus on the dopamine receptor. *Am J Psychiatry* 1976;133:197-202.
27. Bermann K, Illowsky B, Weinberger D. Physiological dysfunction of dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1988;45:616-22.
28. Meador-Woodruff J, Mansour A. Expression of the dopamine D2 receptor gene in brain. *Biol Psychiatry* 1991;30:985-1007.
29. Vallar L, Meldolesi J. Mechanisms of signal transduction at the dopamine D2 receptor. *TIPS USA* 1989;10:74-7.
30. Sibley D, Monsma F. Molecular biology of dopamine receptors. *TIPS Review USA* 1992;13:61-9.
31. Meador-Woodruff J, Mansour A, Bunzow J, Van Tol H, Watson S, Civelli O. Distribution of D2 dopamine receptor mRNA in rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:7625-8.
32. Weiner D, Brann M. The distribution of a dopamine D2 receptor mRNA in rat brain. *FEBS letters* 1989;253(1,2):207-13.

33. Grandy D, Litt M, Allen L, Bunzow J, Marchioni M, Makam H, Reed L, Magenis E, Civelli O. The human dopamine D2 receptor gene is located on chromosome 11 at q22-q23 and identifies a taqI RFLP. *Am J Human Genet* 1989;45:778-85.
34. Van Toel H, Bunzow J, Guan H, Sunahara R, Seeman P, Niznik H, Civelli O. Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature* 1991;350:610-4.
35. Van Toel H, Wu C, Guan H, Ohara K, Bunzow J, Civelli O, Kennedy J, Seeman P, Niznik H, Jovanovic V. Multiple dopamine D4 receptor variants in the human population. *Nature* 1992;358:149-52.
36. Cooper J, Bloom F, Roth R. *The Biochemical basis of neuropharmacology*. 2nd. ed. Edit Oxford University Press, 1982.
37. Polymeropoulos M, Xiao H, Rath D, Merrill C. Tetranucleotide repeat polymorphism at the human tyrosine hydroxylase gene (TH). *Nucl Acid Res* 1991;19(13):3753.
38. a) Nicolini H, Monteiro-Grazina M, Camarena B, Guerra C, Sidenberg D, Kennedy J. Evaluación de genes del sistema dopaminérgico en pacientes esquizofrénicos. *Rev Inv Clínica* 1993;45(4):1-8.
39. Hallmayer J, Kennedy J, Wetterberg L, Sjögren B, Kidd K, Cavalli-Sforza L. Exclusion of linkage between the serotonin-2 receptor and schizophrenia in a large swedish kindred. *Arch Gen Psychiatry* 1992;49:216-9.
40. Moises H, Gelernter J, Giuffra L, Arcone V, Wetterberg L, Civelli O, Kidd K, Cavalli-Sforza L. No linkage between D2 dopamine receptor gene region and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1990;47:643-7.
41. Guerra C, Nicolini H. Estudio del efecto del orden de nacimiento en esquizofrenia familiar y esporádica. *Salud Mental* 1992;15(3):25-30.
42. Sarkar G, Kapelner S, Grandy D, Marchioni M, Civelli O, Sobell J, Heston L, Sommer S. Direct sequencing of the dopamine D2 receptor (DRD2) in schizophrenics reveals three polymorphisms but no structural change in the receptor. *Genomics* 1991;11:8-14.
43. Pilowsky C, Costa D, Ell P, Murray R, Vernoff N, Kerwin R. Clozapine, single photon emission tomography, and the D2 dopamine receptor blockade hypothesis of schizophrenia. *The Lancet* 1992; 340: July 25 199-202.
44. Weber J, May P. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet* 1989;44:388-96.