

# Epidemiología genética y molecular de los trastornos del comportamiento

Humberto Nicolini S.<sup>1</sup>

El tratar de estudiar la influencia de los genes, en el área de la genética de la conducta humana, resulta menos difícil si partimos de los fenotipos anormales (enfermedades de la conducta), que si lo hacemos a partir de los fenotipos normales.

La variabilidad humana afectaría seriamente para la definición de la normalidad, y nos pone serias dificultades metodológicas

Los investigadores en este campo, con el objeto de identificar los genes que causan patología, han desarrollado una serie de metodologías, como: los estudios de familias, los de gemelos, los de sujetos dados en adopción, y del modo de transmisión genética y por último los de mapeo genético con secuencias de ADN.

## Epidemiología molecular en la psiquiatría

Una de las herramientas metodológicas fundamentales para aplicar la biología molecular a la medicina han sido los estudios de enlace genético (linkage). Estos son una mezcla de clínica taxonómica, epidemiología genética y biología molecular. Una característica particular de esta estrategia es la de ser especialmente útil en aquellas enfermedades donde existe poco o ningún conocimiento de su etiopatogenia (Nicolini, 1989).

La idea fundamental de los estudios de enlace genético es la de analizar la cosegregación de una enfermedad con un marcador polimórfico. La evidencia estadística del enlace genético es el índice lod

(log of the odds). Sin embargo es importante recordar que el método de enlace genético es una prueba paramétrica, por lo que los resultados dependen de la manera en cómo se han especificado los parámetros, por lo que resulta difícil generalizar sus resultados, debido a la gran variabilidad que existe en los valores de dichos parámetros (modo de herencia, frecuencia de fenocopias, frecuencia de los alelos, etc.).

Trastornos afectivos: Egeland y cols (1987) publicaron un estudio en el que reportaban enlace genético entre el supuesto gen del trastorno bipolar y dos marcadores de ADN (el gen de la insulina "INS" y un oncogen "HRAS"), ambos en el brazo corto del cromosoma 11. Con este estudio se inició propiamente la Genética Molecular Psiquiátrica. Sin embargo, al mismo tiempo se publicó un estudio en otras familias de pacientes bipolares (Hodkinson y cols. 1987) y poco después otro más (Detera-Wadleigh y cols. 1987) donde no se replicaron estos resultados, utilizando los mismos marcadores polimórficos de ADN. Estos resultados opuestos se interpretaron como heterogeneidad genética, es decir, que las enfermedades fenotípicamente iguales son causadas por diferentes mutaciones. Kelsoe y cols. (1989), publicaron un estudio de revaloración del estudio realizado por Egeland donde al agregar un mayor número de familiares, tanto sanos como afectados, lo mismo que dos sujetos antes clasificados como sanos y que desarrollaron para la segunda valoración la enfermedad, hicieron que el índice lod (valor de significancia estadística

<sup>1</sup> División de Investigaciones Clínicas Instituto Mexicano de Psiquiatría

Correspondencia y solicitud de sobretiros Dr. Humberto Nicolini S. Calz. México-Xochimilco 101. Co. San Lorenzo Huipulco, 14370 México D.F. Tel. 655 2811

que nos dice si dos genes se encuentran en enlace), después de haber sido altamente significativo perdiera validez estadística.

Por otro lado, al mismo tiempo que ocurrían estos sucesos en el cromosoma 11, Mendlewicz usando los marcadores CB y G6PD en el brazo largo del cromosoma X y Baron (1987) usando los mismos marcadores encontraron índices lod superiores a 3 en ambos casos, cumpliendo con los criterios de asignación de una enfermedad a un locus en el genoma.

Sin embargo, otros grupos de investigadores como Berretini y cols. (1990), no han sido capaces de replicar estos resultados utilizando familias con los mismos patrones de herencia (ligada al X), lo mismo que diversos marcadores cromosómicos a las áreas del genoma referidas. Esto se ha interpretado de nuevo como probable heterogeneidad genética, es decir, que a pesar de presentar fenotipos clínicamente idénticos y con patrones de herencia similares, la enfermedad no es causada por el mismo gen.

**Esquizofrenia:** Los estudios de mapeo genético molecular en la esquizofrenia surgieron después de un hallazgo citogenético en el que se reportó una alteración en el cromosoma 5 que cosegregaba con la enfermedad por lo que se procedió a llevar el mapeo con marcadores de ADN en esta región (Basset y cols. 1988).

Poco tiempo después se encontró evidencia significativa de enlace génico en un grupo de familias (Sherrington y cols. 1988), 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 (Kennedy y cols. 1988). En la actualidad se han clonado varios genes cuyos productos (por ejemplos 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 interesantes genes candidatos para el mapeo molecular de la enfermedad. Entre algunos de estos genes tenemos a aquellos que pertenecen al sistema dopaminérgico.

En la actualidad, gracias a las técnicas de biología molecular, ha sido posible identificar 5 subtipos de receptores a través de su secuencia de nucleó-

tidos, en vez del criterio único de sus propiedades bioquímicas (Sibley y cols. 1992).

Nuestro grupo realizó un estudio de estos genes en pacientes esquizofrénicos mexicanos (Nicolini y cols. 1993a). 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 (Hallmayer y cols. 1992). 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 (primers) 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 los receptores 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 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 alcanzan el nivel de significancia para exclusión de enlace.

El receptor D2 a dopamina ha sido estudiado hasta el momento en 2 familias de esquizofrénicos, una de ellas proveniente de Suecia y la otra de California, como parte de un mismo estudio, y donde en el análisis realizado no sólo no se encontró evidencia de enlace génico sino que fue posible excluir de manera significativa esta región (27 centi-Morgans (cM) del locus del D2), (Moisés y cols. 1990). Este estudio difiere con el nuestro en cuanto a que la prevalencia de la enfermedad (fre-

cuencia del alelo mutado) se consideró del 1%, que es la mundialmente establecida para esquizofrenia (Guerra y cols. 1992).

Otro grupo de investigadores (Sarkar y cols. 1991) han estudiado la relación del gen del receptor D2 y la esquizofrenia. La metodología que emplearon fue el secuenciar directamente el gen del receptor D2 en 14 pacientes esquizofrénicos y 4 controles, sin encontrar diferencias estructurales. Recientemente, Hallmayer y cols. (1992), excluyeron como gen candidato al gen del receptor SHT-2 en una familia sueca con varios sujetos afectados con esquizofrenia.

Alcoholismo: Para el alcoholismo existen resultados positivos de asociación para dos genes. El gen que codifica para colágena tipo 1 (El tipo más incrementada en fibrosis densa) uno de sus alelos (COL1  $\alpha$ 2) se presenta más frecuentemente en individuos alcohólicos con cirrosis que en alcohólicos sin cirrosis (Weiner y cols., 1988).

El otro con el que se ha encontrado una asociación es para el alelo A1 del receptor D2 a dopamina (Blum 1990). Este estudio se realizó en 70 cerebros de pacientes alcohólicos y no alcohólicos. La presencia del alelo A1 clasificó adecuadamente al 77% de los alcohólicos y su ausencia clasificó al 72% de los no alcohólicos. También, este mismo grupo encontró una disminución en la constante de afinidad para este receptor dependiente de la presencia del alelo A1 (Noble 1991). Esta asociación se corroboró por otro grupo (Parsian 1991) pero únicamente cuando los pacientes alcohólicos habrán presentado complicaciones médicas.

Recientemente, Comings y cols. (1991) encontraron que la mayor prevalencia de este alelo no era exclusiva de alcoholismo y que también estaba presente en otros trastornos psiquiátricos como Gill's de la Tourette, autismo y trastorno por déficit de atención con hiperactividad.

En la población mexicana, hemos estudiado la asociación del polimorfismo TaqI con el gen del receptor D2 a dopamina, en diferentes grupos de alcohólicos y en un grupo control (Cruz y cols. 1995). Nuestros resultados no apoyan esta asociación. Una diferencia en nuestro estudio es que la frecuencia del alelo A1 es una de las más elevadas (70%) de acuerdo a la literatura, y contrasta con la baja frecuencia encontrada en pacientes caucásicos (30%). Este hecho, realiza la importancia del desa-

rollo de una epidemiología molecular propia de las poblaciones específicas de estudio, y señala también la probable heterogeneidad genética dada por la etnicidad.

Ansiedad: En esta área existen hasta nuestro conocimiento únicamente dos estudios. Uno de ellos realizado por el grupo de Crowe en la Universidad de Iowa, donde encontraron un índice lod sugestivo de enlace ( $Z=1.8$ ,  $U=0.03$ ) para el trastorno de pánico para un gen en el cromosoma 16q22 (Crowe y cols. 1987) y el realizado por nuestro grupo en el trastorno obsesivo compulsivo, con un índice lod sugestivo de 1.2 para la región 4q12 (Nicolini y cols. 1993d). Cabe señalar que estos estudios son preliminares y que los resultados hasta el momento, en el área del mapeo genético de los trastornos de ansiedad permanecen en sus fases iniciales.

## Conclusiones

El desarrollo de diversas metodologías, principalmente la biología molecular nos ha permitido dar un gran avance en el conocimiento de la genética de la conducta. Las estrategias que prometen ser los polos de desarrollo a futuro en la psiquiatría genética son: el análisis de pares de familiares afectados, donde se necesitan muestras considerables y la mejor alternativa sean los estudios multinacionales. Sin embargo debe señalarse que el método de "pares de hermanos afectados", es capaz de detectar el efecto de un solo gen aun cuando estén interactuando otros genes, o bien, condiciones ambientales. Para este caso debe resaltarse el estudio de la homosexualidad masculina, donde se ha logrado a través de esta metodología el encontrar un gen de susceptibilidad en el cromosoma X (Hammer y cols 1993). Algunas otras metodologías en desarrollo, por ejemplo el análisis de la transmisión de las enfermedades psiquiátricas bajo modelos más complejos de herencia como linkage con dos locus principales, o genes modificadores en otros cromosomas, y los estudios de asociación también constituyen una herramienta interesante, sobre todo en la búsqueda de genes candidatos (Nicolini y cols. 1993b). Por último, un mapa del genoma con una resolución mayor a la ya alcanzada de 100cM, puede

tener un favorable impacto en el área. Estos hallazgos empiezan a integrar otra vía de conocimiento, mediante la cual podremos en el futuro saber algunos de los efectos específicos de genes en la conducta y así, será posible contar con terapia génica para algunos trastornos mentales.

## Referencias

- Egeland JA, Gerhard D, Pauls D, Sussex J, Kidd K, Allen C, Hostetter A, Houssman D. Bipolar affective disorder linked to DNA markers on chromosome 11. *Nature* 1987;325:783-787.
- Mendlewicz J, Sevy S, Brocas H, Simon P, Charon F, Legros S, Vassart G. Polymorphic DNA marker on X chromosome and manic depression. *Lancet* 1987;30(1):1230-1232.
- Nicolini H. Los nexos genéticos (Linkage) de las entidades psiquiátricas. *Salud Mental*. 1989;12:47-51.
- Hodgkinson S, Sherrington R, Gurling H, Marchbanks R, Reeders S, Mallet J, McInnis M, Petursson H, Brynjolfsson J. Molecular genetic evidence for heterogeneity in manic depression. *Nature* 1987;325:805-806.
- Detera-Waldeigh SD, Berretini W, Goldin L, Boornan D, Anderson S, Gershon E. Close linkage of c-Harvey-ras-I and the insulin gene in a manic disorder is ruled out in three north american pedigrees. *Nature* 1987;325:806-808.
- Kelsoe J, Ginns E, Egeland J, Gerhard D, Goldstein A, Bale S, Pauls D, Long R, Kidd K, Conte G, Houssman D, Paul S. Re-evaluation of the linkage relationship between chromosome 11p loci and the gene for bipolar affective disorder in the old order Amish. *Nature* 1989;342:238-243.
- Baron M, Risch N, Hamburge R, Mandel B, Kushner S, Newman M, Drumer D, Belmaker R. Genetic linkage between X chromosome markers and bipolar affective illness. *Nature* 1987;326:389-392.
- Berretini WH, Goldin L, Gelernter J, Gejman P, Gershon E, Detera-Waldeigh S. X-chromosome markers and manic depressive illness: rejection of linkage to Xq28 in nine bipolar pedigrees. *Arch Gen Psychiatry* 1990;47:366-373.
- Basset A, McGillivray B, Jones B, Pantzar T. Partial trisomy chromosome 5 cosegregating with schizophrenia. *Lancet* 1988;april 9:799-801.
- 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;336:164-167.
- Kermody J, Giuffra L, Moises H, Cavalli-Storza L, Pakstis H, Kidd J, Castiglione C, Wetterberg L, Kidd K. Evidence against linkage of schizophrenia markers on chromosome 5 in a northern Swedish pedigree. *Nature* 1988;336:167-170.
- Sibley D, Monsma F. Molecular biology of dopamine receptors. *TIPS Review USA*, 1992;13:61-9.
- 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.
- Hallmayer J, Kennedy J, Wetterberg L, Sjogren B, Kidd K, Cavalli-Storza L. Exclusion of linkage between the serotonin-2 receptor and schizophrenia in a large Swedish kindred. *Arch Gen Psychiatry* 1992;49:216-9.
- Moises H, Gelernter J, Giuffra L, Arcone V, Wetterberg L, Civelli O, Kidd K, Cavalli-Storza L. No linkage between D2 dopamine receptor gene region and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1990;47:643-7.
- Guerra C, Nicolini H. Estudio del efecto del orden de nacimiento en esquizofrenia familiar esporádica. *Salud Mental* 1992;15(3):25-30.
- 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.
- Weiner F, Eskreis D, Compton K, Orrega H, Zern M. Haplotype analysis of type I collagen gene and its association with alcoholic cirrhosis in man. *Molecular Aspects of Medicine* 1988;10(2):159-168.
- Blum K, Noble E, Sheridan P, Montgomery A, Ritchie T, Jagadeeswaran P, Nogami H, Briggs A, Cohn B, Cohn J. Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *JAMA* 1990;263:2055-2060.
- Noble E. Genetic Studies in Alcoholism: CNS functioning and molecular biology. *Psychiatric Annals* 1991;21(4):215-229.
- Parsian A, Todd R, Devor R, O Malley K, Suarez B, Reich T, Cloninger R. Alcoholism and alleles of the human D2 dopamine receptor locus. Studies of association and linkage. *Arch Gen Psychiatry* 1991;48:655-663.
- Comings D, Corbings B, Muhleman D, Dietz G, Shahbahrani B, Tasted, Knell E, Kocsis P, Baumgarten R, Kovacs B, Levy D, Smith M, Borison R, Evans D, Klein D, MacMurray J, Tosk J, Sverd J, Gysin R, Flanagan S. The dopamine D2 receptor locus as a modifying gene in neuropsychiatric disorders. *JAMA* 1991;266:1793-1800.
- Cruz C, Camarena B, Mejia J, Eroza V, Kersenovich D, De la Fuente JR, Nicolini H. The dopamine D2 receptor gene TaqIAI polymorphism and alcoholism in a Mexican population. *Arch Med Res* 1995;26:2:421-426.
- Crowe R, Noyes R, Wilson A, Elston R, Ward L. A linkage study of panic disorder. *Arch Gen Psychiatry* 1987;44:933-937.
- Nicolini H. *Biología Molecular y Psiquiatría; Mapeo Genético del Trastorno Obsesivo Compulsivo. Suplemento especial: La Biología Molecular en la Medicina Mexicana. Revista de la Facultad de Medicina, UNAM* 1993;36(1):18-22.
- Harkner D, Hu S, Magnuson V, Hu N, Pattatucci A. A Linkage between DNA markers on the X chromosome and male sexual orientation. *Science* 1993;261:321-327.
- Nicolini H, Camarena B, De La Fuente JR. Mapeo cromosómico molecular en enfermedades psiquiátricas. *Acta Psiquiátrica y Psicológica de América Latina* 1993;39(1):45-49.