

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**“DENSIDAD DE RNA MENSAJERO PARA RECEPTORES DE DOPAMINA
D3 EN LINFOCITOS DE PACIENTES ESQUIZOFRENICOS Y
FAMILIARES”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALIZACION EN PSIQUIATRIA

PRESENTA

JACOBO FOX INZUNZA

Tutor Metodológico

Tutor Teórico

Dr: Jorge Peña Ortega

Dr: Alvar Colonia Cabrera

MÉXICO, D. F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE TEMATICO

Resumen de la Investigación Propuesta.....	1
Introducción.....	2
Marco Teórico.....	3
Epidemiología.....	3
Patogénesis.....	4
Genética.....	4
Variables biológicas, sociales y demográficas como factores de riesgo.....	4
Evolución.....	5
Diagnóstico y Tipos de datos.....	6
Modelos de Posibles Marcadores Biológicos.....	6
Dopamina en el SNC.....	7
Sistemas Dopaminérgicos.....	8
Síntesis de la Dopamina.....	9
Regulación de la Síntesis de la Dopamina.....	9
Liberación de la Dopamina.....	10
Regulación de la Liberación de la Dopamina.....	11
Termino de la acción de la Dopamina.....	12
Catabolismo de la Dopamina.....	12
Receptores Dopaminérgicos.....	12
Estructura de los Receptores dopaminérgicos.....	13
Familias y Subtipos de Receptores Dopaminérgicos.....	13
Relevancia Clínica y Antecedentes.....	17
Justificación.....	21
Planteamiento del Problema.....	21
Hipótesis.....	21
Objetivos.....	21
Objetivo General.....	21
Objetivos Específicos.....	21
Metodología.....	22
Diseño de Estudio.....	22
Variables Independientes.....	22
Variable Dependiente.....	22
Instrumentos de Medición.....	22
Criterios de Inclusión.....	23
Criterios de Exclusión.....	23
Muestra.....	24
Universo de Trabajo.....	24
Tamaño de la Muestra.....	24
Análisis Estadístico.....	24
Participación de otra Institución.....	24
Consideraciones Éticas.....	24
Procedimiento.....	25
Resultados.....	26
Discusión.....	28
Limitaciones.....	30
Conclusiones.....	30
Referencias.....	31
Anexos.....	43

INDICE DE TABLA Y GRAFICA

Tabla 1. Relación con esquizofrenia.....	26
Tabla 2. Descripción de edad de la muestra.....	26
Tabla 2.1 Descripción de edad para cada subgrupo.....	26
Tabla 3. Género y relación con esquizofrenia.....	27
Tabla 4. Relación entre subgrupos y PCR.....	27
Gráfica 1. PCR en esquizofrenia.....	27
Gráfica 2. PCR en familiares.....	27
Gráfica 3. PCR en controles sanos.....	27
Gráfica 4. Enfermos y antipsicóticos.....	28

DEDICATORIA

Este trabajo de tesis fue posible gracias al apoyo incondicional de mi oxxo, por la infinita comprensión del tiempo distante sacrificado, a mi Tovich por el gran estímulo que trajo a mi, a mi esposa y mi hijo por que de ellos obtengo las fuerzas necesarias para Vivir, a mis padres por facilitarme continuar preparandome, y gracias a la dirección de mis Tutores Dr. Jorge Peña Ortega y Dr. Alvar Colonia Cabrera a quienes les doy mi más sincero agradecimiento.

Por otro lado agradezco al Laboratorio de Genética y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM por el apoyo que me brindo en el procesamiento de las muestras. Así como la colaboración de la QFI. Sandra Reyes en la preparación de esta tesis.

RESUMEN DE LA INVESTIGACIÓN PROPUESTA

La dopamina (DA) es el principal neurotransmisor asociado a la esquizofrenia. La etiología y fisiopatología de esta enfermedad continua siendo desconocida, sin embargo la hipótesis dopaminérgica asume que la enfermedad resulta de una disfunción de las sinapsis dopaminérgicas en el cerebro. Actualmente su diagnóstico se basa en pruebas descriptivas del comportamiento y sintomatología clínica. Un marcador biológico accesible podría simplificar y agilizar el diagnóstico y monitoreo de la enfermedad. Se ha demostrado que los linfocitos sanguíneos periféricos expresan las diferentes subclases de receptores de dopamina y que podrían ser un reflejo de los receptores cerebrales; específicamente, la expresión del receptor D3 en linfocitos de pacientes con esquizofrenia ha sido correlacionada, mediante técnicas de biología molecular, como una posible prueba diagnóstica. El objetivo de este estudio es confirmar los hallazgos de estudios previos, determinar la expresión y comparar la densidad de RNAm de receptores de dopamina (D3) en linfocitos sanguíneos periféricos de pacientes esquizofrénicos, y familiares de primer grado, mediante la prueba de biología molecular rt-PCR. De esta forma analizar la densidad de RNAm del receptor D3 de dopamina.

La muestra estuvo compuesta por 60 sujetos mexicanos de la población de pacientes del tercer piso del hospital psiquiátrico Fray Bernardino Álvarez, sus familiares y de la población general. Estos se dividieron en tres grupos: 21 pacientes con diagnóstico de esquizofrenia según los criterios del DSM IV, 22 familiares de primer grado, y 17 controles sanos.

Se recolectaron datos sociodemográficos de los tres grupos, así como la presencia de tratamiento con antipsicótico en los pacientes esquizofrénicos. Posteriormente se tomó una muestra sanguínea para determinación de rtPCR.

INTRODUCCIÓN.

La esquizofrenia es una enfermedad frecuente, crónica y discapacitante, de etiología, y mecanismos fisiopatológicos aún desconocidos. Representa un trastorno único, con un espectro de presentación variable. Se han implicado en su etiología factores genéticos, ambientales biológicos y ambientales sociales **(1)**.

Su importancia radica en la prevalencia de 0.7 a 1.0 % en la población general; representa un problema de salud pública con un importante impacto económico. En el 2002 en los Estados Unidos se estimó que los gastos tanto en estudios de la enfermedad como en el tratamiento del mismo eran, aproximadamente 62.7 billones de dólares **(2)**. Actualmente se acepta que entre más temprano se aborde el padecimiento, las repercusiones psicopatológicas, económicas y sociales serán reducidas de manera significativa **(3)**.

Desde el punto de vista bioquímico, el primer neurotransmisor que se implicó en la esquizofrenia fue la DA al observarse que los fármacos que bloqueaban los receptores a dopamina reducían los síntomas psicóticos **(4)**. La DA es un neurotransmisor que se encuentra tanto en sistema nervioso central (SNC), como a nivel periférico. En el SNC la DA participa en la conducta motora, en la atención, en los procesos cognoscitivos, en las emociones, etc. El efecto periférico más importante es el control del flujo sanguíneo a nivel esplácnico y renal. Hay cinco subtipos de receptores de DA **(4)**. Los receptores dopaminérgicos que se han visto más involucrados en la esquizofrenia, han sido los tipos D2, D3 y D4; éstos dos últimos localizados principalmente en el sistema mesolímbico **(5)**. Las bases dopaminérgicas de la esquizofrenia se apoyan principalmente en una estrecha correlación entre la eficacia clínica de los medicamentos antipsicóticos y su potencial para antagonizar la unión a sus receptores de dopamina **(4)**.

Por otro lado el paciente pre-esquizofrénico o vulnerable para desarrollar esquizofrenia presenta, desde la infancia, signos y síntomas sutiles de la enfermedad que podrían detectarse para evitar o retrasar la aparición del primer episodio psicótico y con ello tener un mejor pronóstico **(6,7)**. Los signos y síntomas sutiles pre-esquizofrénicos se presentan incluso antes de la fase prodrómica, lo que hace muy difícil su identificación, sin embargo es necesario buscarlos en los individuos vulnerables para presentar esquizofrenia. Estos signos y síntomas pre-esquizofrénicos son los síntomas negativos y cognoscitivos que se han observado en los pacientes con esquizofrenia, pero en menor intensidad, medidos a través de las escalas que se han realizado para dicho fin **(8,9)** La determinación confiable del porcentaje de los pacientes pre-esquizofrénicos que desarrollarán el padecimiento es compleja y continúa siendo una incógnita. Por lo tanto la prescripción de medicamentos antipsicóticos a estos individuos no se justifica, no está aprobada por la FDA, ni por ninguna de las asociaciones psiquiátricas a nivel internacional **(10)**.

Es por ello que se requiere de un marcador biológico sensible, confiable y estandarizado que justifique el tratamiento preventivo del trastorno psiquiátrico más devastador e incapacitante.

Actualmente el diagnóstico de esquizofrenia se realiza con la descripción del comportamiento y la información sintomática; la medida de un marcador periférico puede hacer más simple, rápido y exacto el diagnóstico y monitoreo.

En recientes años se ha encontrado que en linfocitos de sangre humana periférica existen varios receptores a dopamina (D3, D4 y D5) usando técnicas de biología molecular e inmunoanálisis, esto ha sugerido que estos receptores a dopamina encontrados en los linfocitos pueden reflejar los receptores encontrados en el cerebro.

Se ha establecido una alta afinidad hacia ligandos dopaminérgicos así como la presencia de RNAm en varios subtipos de receptores a dopamina (D3, D4 y D5) en linfocitos de sangre periférica humana. No obstante, la significancia de los receptores a dopamina así como otros receptores de neurotransmisores en los linfocitos aún no es del todo clara, se ha sugerido que estos receptores pueden reflejar a los receptores correspondientes en el cerebro. Varios estudios han demostrado aumento de antagonistas de dopamina en los linfocitos de pacientes esquizofrénicos respecto a pacientes sanos. (18).

En el presente estudio, se determinó la densidad de RNAm para receptores de dopamina subtipo D3 (DR-D3) en linfocitos de sangre humana periférica en pacientes esquizofrénicos, familiares de primer grado y controles sanos, con la finalidad de cuantificar la asociación entre estatus diagnóstico y presencia excesiva de RNAm para DR-D3. Con esto se explorará la utilidad de esta variable como un posible marcador biológico para la esquizofrenia. Discutiéndose los estudios que un futuro serían necesarios para descartar o utilizar esta variable como marcador biológico.

MARCO TEORICO

EPIDEMIOLOGIA

La esquizofrenia es un trastorno neuropsiquiátrico que afecta aproximadamente al 1% de la población (11). La tasa de incidencia es de 0.2 a 0.4 por 1000 personas, afectando a hombres y mujeres, la media de inicio de la enfermedad en los hombres es de 20 años mientras que en las mujeres es de más de 20 años, en los hombres, la edad de inicio más frecuente es a comienzos de la tercera década de la vida, mientras que en las mujeres lo es a los finales de la tercera y principios de la cuarta. Afecta con la misma frecuencia a ambos sexos. (39). Sus manifestaciones clínicas son diversas y cambian en el transcurso de la enfermedad, englobando un amplio espectro de alteraciones de la percepción, el pensamiento, la afectividad, la motivación y la actividad motora, en consecuencia, el comportamiento. Así la esquizofrenia es una enfermedad en que se combinan episodios de alteración mental grave con un comportamiento de discapacidad global. El nivel de discapacidad va desde una ligera

disminución de los recursos para afrontar el estrés de la vida cotidiana, hasta una discapacidad profunda para realizar capacidades básicas, lo cual puede llevar a los pacientes a ser incompetentes para cuidar de sí mismos (37).

PATOGENESIS

La patogénesis es desconocida, aunque se acepta que una hiperfunción dopaminérgica en el sistema mesolímbico, principalmente el núcleo accumbens y el hipocampo, podrían jugar un papel importante (12).

GENETICA Y VARIABLES BIOLÓGICAS, SOCIALES Y DEMOGRAFICAS COMO FACTORES DE RIESGO.

Diversos estudios genéticos refieren que el riesgo de padecer esquizofrenia es mucho más alto en familiares de personas que tienen la enfermedad, lo anterior no sucede en personas adoptadas, lo cual apoya la teoría del riesgo genético. El riesgo de padecer esquizofrenia se incrementa en un 50% cuando ambos padres lo padecen y en 60 a 84% cuando se trata de gemelos monocigóticos. Siendo una herencia poligenética. (39, 40). Se ha determinado que el peso específico que tiene la herencia en la aparición del trastorno es de un 81%, en tanto que se ha calculado, con menos evidencias que el peso de los aspectos ambientales es de 11%. (41). No solo los antecedentes familiares de esquizofrenia son significativos como factores de riesgo, si no que otros padecimientos psiquiátricos en especial trastorno afectivos en familiares aumentan el riesgo esquizofrenia (42). Los estudios en gemelos, adoptados y árboles genealógicos han fortalecido esta observación (26,27). Sin embargo el hecho de que la enfermedad no tenga un tipo de transmisión mendeliana, que los estudios de ligamiento y de asociación genéticos no hayan dado una conclusión sobre el cromosoma o gen responsables, han ocasionado que se piensen en los factores ambientales, biológicos y sociales como coadyuvantes de la transmisión genética.

Dentro de estos factores ambientales son mas fuertemente asociados los biológicos como lo son aquellos que se relacionan con el embarazo y las alteraciones metabólicas, el periodo perinatal y posnatal, entre ellos se encuentran la Influenza o rubéola materna, mala nutrición de la madre durante el segundo y tercer trimestre del embarazo, estrés intenso en el mismo periodo, consumo de tabaco durante el embarazo o las complicaciones obstétricas asociadas sobre todo a hipoxia neonatal, así como la hemorragia previa o durante el parto, la incompatibilidad de grupo Rh, la preeclampsia, una cesárea de urgencia, la atonía uterina, así como el peso al nacer menor de 2.5Kgs o de mas de 4Kgs. (28,29,43,44,41,45,46,47,48). Se han asociado aspectos sociodemográficos como bajo nivel socioeconómico o nacer en zonas urbanas, sin encontrarse diferencias importantes entre los diversos orígenes étnicos (39, 40, 50). Se ha encontrado que las madres de esquizofrénicos tienen índices de masa corporal mayores, lo cual aumenta la tasa de esquizofrenia a 1.24 y significa el 24% de incremento de padecer el trastorno (52). Otro factor de riesgo asociado es el retraso en el desarrollo neuromotor, aquellos que presentaron uno o más signos neurológicos tenían un índice de probabilidad de riesgo mayor de 4.6 para un trastorno esquizofreniforme (44). Estudios

longitudinales de cohorte al nacimiento y de alto riesgo han identificado déficit leve en la función social, motora y cognoscitiva durante la niñez y la adolescencia que pueden representar características de la enfermedad. **(33)**. Sutiles anormalidades motoras durante la infancia y déficit en funcionamiento social, capacidad organizacional y funcionamiento intelectual a las edades de 16 a 17 años se han reportado que se asocian con la posterior aparición de esquizofrenia **(34)**. El antecedente de daño cerebral también se asocia como un factor coadyuvante para padecer esquizofrenia **(53)**. Un estudio que se realizó en pacientes mexicanos concluyó que entre más factores asociados a la enfermedad tuviera un individuo, el riesgo de padecerla se incrementa de manera significativa **(30)**.

Se han desarrollado dos entrevistas diagnósticas para evaluar los criterios de riesgo en Australia de manera prospectiva: La Evaluación Comprensiva de Estados Mentales de Riesgo (The Comprehensive Assessment of At-Risk Mental State) y la Entrevista Estructura para Síntomas Prodrómicos (Structured Interview for Prodromal Symptoms). Los síntomas prodrómicos tempranos se evalúan con la escala de Bonn de evaluación de síntomas básicos permitiendo diferenciar a aquellos sujetos que desarrollaran o no una esquizofrenia. **(54)**.

EVOLUCIÓN

Se tiene evidencia de que muchos de los pacientes con esquizofrenia presentan una mala adaptación social y ligeras desviaciones de la capacidad cognoscitiva normal antes de su diagnóstico. Al estudiar los acontecimientos que preceden a un primer cuadro psicótico y las diferentes áreas del funcionamiento psicosocial y formativos debería ser posible detectar factores de vulnerabilidad y quizás instaurar intervenciones en la prevención primaria y secundaria. **(31)**.

La mayor parte de los pacientes alternan los episodios psicóticos agudos con fases de remisión total o parcial. Son frecuentes los síntomas residuales entre los episodios. Así, esta enfermedad, que a menudo es de tipo crónico puede caracterizarse por fases que se fusionan unas con otras sin tener límites claros y absolutos entre ellas. Estas fases forman la estructura para integrar los enfoques terapéuticos. La mayor parte de los estudios longitudinales de la esquizofrenia sugieren que su curso es variable; existen algunos pacientes que no presentan nuevos episodios, mientras que la mayoría se presentan exacerbaciones y remisiones, y en una pequeña parte persiste un estado psicótico grave en forma continua. La remisión completa (el restablecimiento de la función previa a la aparición del trastorno) no es frecuente en esta enfermedad. De los pacientes que continúan afectados, algunos parecen mantener un curso relativamente estable mientras que otros presentan un empeoramiento progresivo asociado a una discapacidad grave. Las tasas de recuperación o remisión completa varían entre un 12 y 33%. Si las tasas de mejoría y remisión parcial se suman a las de remisión completa, la tasa general de mejoría en un intervalo de 5 a 15 años de seguimiento no sería inferior al 30% y llegaría quizás al 50%. **(32)**.

Son necesarias ciertas condiciones para que se desarrolle la psicosis. Estas son: los factores ambientales y la vulnerabilidad del sujeto para desarrollar la psicosis. Esta vulnerabilidad es probablemente genética pero no se manifiesta hasta la adolescencia tardía; se expresa por medio de un déficit neurobiológico y hasta ahora se desconoce con precisión cuales son los factores que hace que se manifiesta en esta época de este ciclo vital **(38)**.

DIAGNÓSTICO Y TIPOS DE DATOS

El diagnóstico de la esquizofrenia requiere una sintomatología de 6 meses de duración y muy frecuentemente se dificulta por la heterogeneidad de los síntomas, principalmente durante el primer episodio, cuando el tratamiento temprano es fundamental en el curso del padecimiento **(13)**.

Los principales datos clínicos que se obtienen de un paciente con esquizofrenia son producto de la mera observación del fenómeno. Siendo la mayoría de los síntomas subjetivos, sin embargo existen los datos más “duros” (Como las alucinaciones, el lenguaje desorganizado, los delirios, etc.) y otros más blandos (como los síntomas afectivos). Lo que se conoce como esquizofrenia en la actualidad es una mezcla de síntomas duros y blandos, cuya combinación es la que ha mostrado el mejor valor predictivo **(55)**. Si bien hay datos mas objetivos y más “duros” que es posible obtener mediante estudios de imagen, pruebas neurofisiológicas y pruebas neuropsicológicas, el valor predictivo de estos datos aún no es de suficiente magnitud como para ser incluidos en los criterios diagnósticos.

MODELOS DE POSIBLES MARCADORES BIOLÓGICOS

Hoy en día no hay estudios de imagen, pruebas neurofisiológicas, neuropsicológicas o cognitivas ni pruebas biológicas, que confirmen la psicosis de forma objetiva. Se carece de un marcador biológico efectivo para identificar y manejar la enfermedad en etapas iniciales. Los marcadores biológicos en los que se ha hecho mayor énfasis han sido los estudios neurofisiológicos como la valoración de los movimientos sacádicos, los potenciales evocados y recientemente la prueba de P50 que, sin embargo han resultado poco sensibles para el diagnóstico de esquizofrenia **(14-16)**.

Estudios con tomografía y emisión de positrones en cerebros *postmortem* indican incrementos en los niveles del receptor de dopamina tipo D2 (D2, D3 y D4) en el núcleo accumbens de pacientes con esquizofrenia, comparado con los de pacientes no esquizofrénicos, lo que sugiere el uso del receptor tipo D2 como un marcador para la enfermedad, preferentemente en tejidos accesibles **(17)**.

Un número de anomalías físicas menores como variaciones en la longitud y ángulo de los miembros, patrones en las huellas dactilares, están presentes en un subgrupo de pacientes. Estas pueden detectarse también en un subgrupo de población con riesgo genético aumentado. Todas estas características, no obstante, son tenues en severidad y tienen poca validez predictiva como marcadores individuales **(35, 36)**.

En la actualidad se sigue considerando la disfunción dopaminérgica como la patogénesis principal del trastorno, siendo este neurotransmisor uno de los más estudiados en los últimos años. Se ha demostrado que los linfocitos sanguíneos periféricos expresan las diferentes subclases de receptores de dopamina y que podrían ser un reflejo de los receptores cerebrales; específicamente, la expresión del receptor D3 en linfocitos de pacientes con esquizofrenia ha sido correlacionada, mediante técnicas de biología molecular, como una posible prueba diagnóstica.

Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central.

Las catecolaminas son compuestos formados por un núcleo catecol (un anillo de benceno con dos hidroxilos) y una cadena de etilamina o alguno de sus derivados. Las catecolaminas, dopamina, adrenalina y noradrenalina actúan como mensajeros químicos en el Sistema Nervioso de los mamíferos, es el transmisor catecolaminérgico más importante del Sistema Nervioso Central (SNC), donde participa en una gran variedad de funciones que incluyen la actividad locomotora, la afectividad, la regulación neuroendócrina y la ingestión de agua y alimentos **(56,57)**.

En el Sistema Nervioso Periférico, la dopamina es un modulador de la función cardíaca y renal, del tono vascular y de la motilidad gastrointestinal. La función de los sistemas dopaminérgicos del SNC se ha convertido en foco de gran interés, debido a que diversas alteraciones en la transmisión dopaminérgica han sido relacionadas, directamente, con trastornos severos del SNC, tales como la enfermedad de Parkinson, trastornos psicóticos que incluyen a la esquizofrenia y la dependencia a drogas como la amfetamina y la cocaína **(58, 59)**.

La evolución de la investigación sobre la transmisión dopaminérgica puede remontarse a la década de los 50's, cuando la dopamina fue reconocida como un neurotransmisor, siendo detectada por vez primera en el SNC en 1958 **(59)**. En la década de los 60's se generaron las primeras evidencias del vínculo existente entre alteraciones en la transmisión dopaminérgica y la enfermedad de Parkinson y algunos desórdenes psiquiátricos, en particular la esquizofrenia. En los años 70's se estudió la distribución de los receptores para dopamina y se planteó la existencia de dos tipos de receptores dopaminérgicos, denominados D1y D2 **(60)**, aunque no fue hasta 1988 cuando se clonó el primer receptor dopaminérgico, el subtipo D2. **(61)**.

Los últimos años se han caracterizado por el uso de diferentes estrategias experimentales para el estudio in situ e in vitro de los sistemas dopaminérgicos, así como de las características farmacológicas y moleculares de los diferentes receptores para el neurotransmisor **(59)**.

SISTEMAS DOPAMINERGICOS.

En el SNC de la rata existe un número importante de células dopaminérgicas, de 15,000 a 20,000 para cada una de las mitades del mesencéfalo, región donde se encuentran los grupos más importantes de ellas **(62)**. Los sistemas dopaminérgicos han sido estudiados principalmente mediante técnicas de fluorescencia e inmunocitoquímica, y los grupos neuronales han sido denominados desde A8 hasta A17 de acuerdo a la clasificación de Fuxe elaborada en 1965 **(63)**.

Las neuronas dopaminérgicas y sus proyecciones pueden agruparse en 3 sistemas principales **(62)**.

1. Sistemas ultracortos. Un primer sistema está formado por las células dopaminérgicas del bulbo olfatorio (A16), en tanto que un segundo sistema lo componen las neuronas interflexiformes (similares a las amácrinas) presentes entre las capas plexiformes interna y externa de la retina grupo (A17).

2. Sistemas de longitud intermedia. Incluyen: a) El sistema tuberohipofisiario, con origen en las células dopaminérgicas localizadas en los núcleos hipotalámicos arqueado y periventricular (grupo A12), cuyos axones terminan en el lóbulo intermedio de la hipófisis y en la eminencia media; b) neuronas localizadas en el hipotálamo dorsal y posterior (A13 y A14), que envían proyecciones al hipotálamo dorsal anterior y a los núcleos septo laterales; y c) el grupo periventricular medular, que incluye a las neuronas dopaminérgicas localizadas en la periferia de los núcleos del tracto solitario y motor dorsal del nervio vago, así como a las células dispersas en la prolongación tegmental de la materia gris periacueductal (A15).

3. Sistemas largos. Este grupo incluye a las neuronas de la región retrorubral (A8), del area tegmental ventral (A10) y de la sustancia negra compacta (A9), las que envían proyecciones a tres regiones principales: el neostriado (núcleos caudado y putamen), la corteza límbica (entorrinal, prefrontal medial y cíngulo) y otras estructuras límbicas (el septum, el tubérculo olfatorio, el núcleo accumbens, la amígdala y la corteza piriforme). Dentro de este grupo se encuentran dos de las vías dopaminérgicas más importantes, la vía nigroestriatal y la vía mesolímbica.

SÍNTESIS DE LA DOPAMINA

La síntesis del neurotransmisor tiene lugar en las terminales nerviosas dopaminérgicas donde se encuentran en alta concentración las enzimas responsables, la tirosina hidroxilasa (TH) y la descarboxilasa de aminoácidos aromáticos o L DOPA descarboxilasa **(62,64)**. Los trabajos de Nagatsu y cols. **(65)** y de Levitt y cols. **(66)** demostraron que la hidroxilación del aminoácido L-tirosina es el punto de regulación de la síntesis de catecolaminas en el SNC y que en consecuencia la TH es la enzima limitante de la síntesis de la dopamina, la noradrenalina y la adrenalina. La TH es un péptido de 498 aminoácidos presente de manera predominante en la fracción citosólica de las terminales catecolaminérgicas **(67)**. La enzima es una oxidasa que utiliza L-tirosina y oxígeno como sustratos y tetrahidro biopterina como cofactor para adicionar un grupo hidroxilo al aminoácido para formar L-DOPA (L-3,4-dihidroxifenilalanina). La función de la TH requiere también de la presencia de hierro.

REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE LA DOPAMINA

1.- Regulación por sustrato y por producto.

La TH soluble es inhibida por L-tirosina; sin embargo, este efecto sólo se produce con concentraciones del aminoácido superiores a 120 μM , por lo que no constituye un mecanismo relevante en la regulación de la actividad enzimática **(68,69)**. Los productos metabólicos de la síntesis del neurotransmisor (L-DOPA y dopamina) inhiben la actividad de la TH en homogenados de tejido cerebral **(70,71)**. La rápida acción de la descarboxilasa hace que la concentración de L-DOPA sea extremadamente baja y que no sea por lo tanto de relevancia para disminuir la actividad enzimática, en tanto que la inhibición por dopamina puede ser un mecanismo relevante para la regulación de la TH, si bien se requieren concentraciones elevadas para observar dicho efecto **(72)**.

2. Regulación de la TH por fosforilación.

La actividad de la TH depende críticamente de su estado de fosforilación **(68)**. La adición de grupos fosfato a la enzima provoca un importante aumento de su actividad catalítica que se debe sobre todo a la reducción de la K_m por el cofactor tetrahidrobiopterina (BH₄), y en menor medida a una disminución de la inhibición por producto, incrementando a constante de inhibición (K_i) de la dopamina **(67,71)**. La TH es un sustrato importante de diversas cinasas de pro-teína **(70,71,73)** entre las que se encuentran la cinasa A que depende de AMPc (PKA), la cinasa II dependiente de Ca^{2+} y de calmodulina (CaMKII) y la cinasa C (PKC).

3. Regulación por autorreceptores

Diversos estudios tanto in vivo como in vitro han mostrado que los agonistas dopaminérgicos disminuyen la síntesis del neurotransmisor **(74,75)**, actuando sobre autorreceptores localizados en las terminales dopaminérgicas. El efecto inhibitorio es bloqueado por antagonistas dopaminérgicos y se

encuentra mediado por receptores pertenecientes a la familia D2 cuya activación inhibe también la liberación de dopamina **(76-77)**. Reportes recientes indican que dentro la familia D2, el subtipo D3 podría ser el autorreceptor responsable de a regulación de la síntesis y liberación de dopamina **(78,79)**. La acción de los autorreceptores parece deberse a dos efectos principales: a) a la modulación de canales iónicos activados por voltaje, inhibiendo corrientes de Ca (a través de proteínas Go) o facilitando la apertura de canales de K mediante proteínas Gxi3 **(80,81)**, y b) en menor medida, a la activación de proteínas G (Gxi), que inhiben la formación de AMPc y por lo tanto el estado de fosforilación debido a la PKA **(82)**.

4. Regulación por heterorreceptores

Otros neurotransmisores pueden también modular la síntesis de la dopamina activando receptores presentes en las terminales nerviosas dopaminérgicas. Ejemplos de esta modulación son: para la estimulación de la actividad de la TH, receptores A2 para adenosina **(83)** y receptores NMDA para glutamato **(83,84)**, y para la inhibición de la síntesis, los receptores para GABA. **(85,86)**.

LIBERACION DE LA DOPAMINA

En las terminales dopaminérgicas el neurotransmisor es sintetizado en el citoplasma de donde puede ser liberada directamente al espacio sináptico o bien ser transportada al interior de las vesículas sinápticas para ser liberada por exocitosis.

Liberación por exocitosis.

En este proceso la dopamina contenida en vesículas es liberada al exterior al fusionarse la membrana vesicular con la membrana de la terminal presináptica. Este mecanismo está constituido por varias etapas. Primeramente las vesículas transportan el neurotransmisor a su interior mediante una proteína transportadora con 12 dominios transmembranales que utiliza un gradiente electroquímico generado por bomba (ATPasa) de protones (H⁺). **(87)**. La mayor parte de las vesículas sinápticas (90%) que contienen al neurotransmisor no están libres en el citoplasma sino que se encuentran unidas al citoesqueleto de la terminal presináptica mediante la interacción de proteínas presentes en la membrana de la vesícula (sinapsinas I y II) con proteínas del citoesqueleto. Característicamente las sinapsinas son fosforiladas por diversas cinasas de proteína que incluyen a la cinasas I y II dependientes de iones de Ca²⁺ y de la proteína calmodulina (CaMK I, II) y por la cinasa dependiente de AMPc (PKA). Cuando un potencial de acción alcanza la terminal nerviosa, el cambio en el potencial de membrana activa a canales de Ca²⁺. Debido al gradiente electroquímico se genera un influjo de iones de Ca²⁺ los que en conjunto con la calmodulina activan a las cinasas CaMK I y CaMK II, las que fosforilan a la sinapsina I (CaMK I y CaMK II) y a la sinapsina II (CaMKII). La adición de un grupo fosfato a las sinapsinas debilita la unión de las vesículas sinápticas al citoesqueleto, facilitando así su transporte a la zona activa. Una vez transportadas a la zona activa las vesículas se fijan a la misma (anclaje o

“docking”), donde experimentan un proceso que las hace competentes para la exocitosis (maduración o “priming”).

Liberación independiente de Ca^{2+} .

Este segundo tipo de liberación de dopamina es característicamente inhibido por fármacos que bloquean el transportador de dopamina presente en la membrana de la terminal sináptica y cuya función es terminar la acción del neurotransmisor, capturándolo hacia el interior de la terminal. Bajo ciertas condiciones el transportador opera en sentido inverso liberando dopamina al exterior **(88)**.

Síntesis de dopamina y liberación.

Se ha observado que la dopamina que se libera de manera preferente en respuesta a estimulación sináptica es la recién sintetizada. El neurotransmisor parece así encontrarse en dos pozas metabólicas, ambas vesiculares; una que contiene a la dopamina recién sintetizada y una segunda que correspondería a una poza que funciona como almacén. Es probable la existencia de la una tercera poza metabólica abastecida por los transportadores y que sería la fuente de la liberación de dopamina por transporte reverso **(58,89)**.

REGULACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE DOPAMINA.

1. Regulación por autorreceptores .

Como se mencionó anteriormente, las terminales dopaminérgicas poseen autorreceptores pertenecientes a la familia D2 cuya activación reduce la liberación de la dopamina **(76-77)**. De manera semejante a lo descrito para la regulación de la síntesis, el efecto se debe principalmente a la inhibición de la formación de AMPc y de la apertura de canales de Ca^{2+} . La reducción en la formación de AMPc disminuye la actividad de la PKA que fosforila a las sinapsinas I y II **(90)**, por lo que las vesículas tienden a estar unidas al citoesqueleto. De manera más importante, la inhibición de canales de Ca^{2+} activados por voltaje reduce la entrada del catión que ocurre en respuesta a los potenciales de acción que llegan a la terminal sináptica disminuyendo la probabilidad de fusión de las vesículas **(45)**.

2. Regulación por heterorreceptores.

Se ha demostrado que las terminales dopaminérgicas poseen receptores para GABA, glutamato, acetilcolina y serotonina **(88,92,93)**. Estudios in vitro e in vivo han mostrado que la liberación de dopamina es estimulada por la activación de receptores glutamatérgicos NMDA **(94,95)**, GABA A **(96,97)** y colinérgicos **(98)**, en tanto que se observa inhibición de la liberación al estimular receptores GABA B **(99,100)**.

TERMINO DE LA ACCIÓN DE LA DOPAMINA

Los transportadores constituyen el principal mecanismo para la terminación de la transmisión sináptica en el SNC. Una vez liberada al espacio sináptico la dopamina se une a receptores pre y postsinápticos. Aunque existen enzimas extraneuronales que la catabolizan, la terminación del efecto del neurotransmisor se debe principalmente a la captura del mismo por las propias terminales nerviosas que la liberaron **(62)**. El transportador para dopamina pertenece a la familia de proteínas transportadores que dependen de Na⁺ y Cl⁻, que tienen 12 dominios transmembranales **(101)** y que presentan varios sitios de fosforilación **(102)**. Esta familia incluye también a los transportadores de GABA, noradrenalina, serotonina, taurina, glicina, betaína y prolina. La estequiometría del transportador indica que la dopamina es cotransportada al interior de la terminal con 2 iones de Na⁺ y un ion Cl⁻ **(58)**.

CATABOLISMO DE LA DOPAMINA

La dopamina recapturada es convertida por la enzima monoamino-oxidasa, en particular por la forma A (MAO-A), presente en el interior de la terminal nerviosa, en ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) el cual es liberado al exterior de la terminal para ser convertido en ácido homovanílico (HVA) por la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT). La dopamina no capturada por la terminal dopaminérgica es metabolizada en HVA por la acción secuencial de las enzimas COMT y MAO-A **(58, 62,72)**. La actividad funcional de las vías dopaminérgicas puede también estimarse de manera más precisa determinando la relación de concentraciones o contenido del HVA y de la propia dopamina (HVA/dopamina) **(58)**.

RECEPTORES DOPAMINERGICOS

El concepto de que los transmisores químicos (hormonas y neurotransmisores) y la gran mayoría de las drogas producen su efecto biológico por interacción con sustancias receptoras presentes en las células blanco fue introducido por Langley en 1905, basándose en observaciones de la potencia y especificidad con la que algunas drogas mimetizaban (agonistas) o bloqueaban (anta-gonistas) ciertas respuestas biológicas. Más tarde Hill, Gaddum y Clark describieron de manera independiente las características cuantitativas de la interacción entre agonistas y antagonistas en combinación con receptores específicos utilizando preparaciones intactas **(62)**.

Actualmente, los receptores se definen como moléculas o arreglos moleculares que pueden reconocer selectivamente a un ligando (agonista o antagonista) y ser activados por el ligando con eficacia intrínseca (agonista) para iniciar un evento celular **(103)**. Los receptores para dopamina pertenece a la superfamilia de receptores (con más de 100 miembros) acoplados a proteínas G. En esta familia de receptores, el reconocimiento del neurotransmisor y la molécula efectora (típicamente una enzima que produce un segundo mensajero difusible) son entidades diferentes, acopladas entre sí

por una proteína con capacidad para unir nucleótidos de guanina (proteína G) **(104)**.

ESTRUCTURA DE LOS RECEPTORES DOPAMINERGICOS

El primer receptor dopaminérgico clonado fue el subtipo D2 **(61, 105 ,106)**. Todos los receptores dopaminérgicos poseen 7 dominios transmembranales, de 20 a 25 residuos hidrofóbicos cada uno, y están acoplados a sistemas de transducción intracelulares mediante proteínas G **(67)**. Los 7 dominios intramembranales están conectados de forma alterna por asas citoplasmáticas (i1, i2, i3) y extracelulares (e1, e2, e3) y la región amino terminal corresponde a un dominio extracelular glicosilado.

El tercer dominio citoplasmático exhibe diferencias entre los diferentes tipos de receptores, lo que parece ser la base de la interacción selectiva con un tipo o familia particular de proteínas G, lo que se traduce en diferentes señales intracelulares. El asa citoplasmática i3 y la región carboxiloterminial (también intracelular) interactúan con las proteínas G responsables de los efectos de la activación del receptor **(108)**. Los receptores D1y D5 se caracterizan por tener un asa i3 corta y una región carboxilo terminal grande, que se acoplan a proteínas Gs. En contraste, una estructura inversa (i3 larga y un extremo carboxilo terminal corto) se observa en los receptores D2, D3 y D4, acoplados a proteínas Gi.

El extremo carboxilo de los receptores de la familia D1 es rico en residuos de serina, treonina y cisteína, lo que no se observa en los receptores de la familia D2 **(106)**. La diferencia estructural entre las dos familias obedece a la ausencia de intrones en los RNA mensajeros (RNAm) que codifican los receptores D1 y D5, y a su presencia en los UNAM correspondiente a los subtipos D2, D3 y D4 **(107)**.

FAMILIAS Y SUBTIPOS DE RECEPTORES DOPAMINERGICOS

La acción de la dopamina sobre las células blanco depende del tipo de receptor presente en ellas. Con base en sus características moleculares se han descrito 5 subtipos de receptores para dopamina, los cuales han sido agrupados en 2 familias farmacológicas denominadas D1y D2, a partir del efecto de agonistas y antagonistas selectivos. La clasificación actual tiene su origen en la propuesta por Keabian y Calne en 1979 **(60)** y de manera característica los receptores de la familia D1 estimulan a la enzima adenilil ciclasa conduciendo a la producción de AMPc, en tanto que la activación de los receptores pertenecientes a la familia D2 inhibe su formación **(109-111)**.

Las dos familias de receptores dopaminérgicos muestran también diferencias importantes en sus características moleculares. Existe así una alta homología de secuencias entre los dos miembros de la familia D1 (subtipos D1y D5), como existe a su vez entre los miembros de la familia D2, donde se

ubican los receptores D2, D3 y D4 **(105,109,110)**. En contraste, la homología entre subtipos de familias diferentes corresponde a 42-46% **(57,105,112)**. Los subtipos D1 y D5 muestran una homología el 80%; la homología entre los receptores D2 y D3 alcanza el 75% y entre los subtipos D2 y D4 corresponde a 53% **(105)**.

Existen también diferencias en la distribución en el SNC de los diferentes receptores dopaminérgicos. La presencia de los distintos subtipos ha sido determinada mediante la combinación de técnicas de unión de radioligandos ("bin-ding"), que detecta a las proteínas receptoras, y de hibridación in situ, que detecta a los diferentes RNA mensajeros que codifican la síntesis de los subtipos de receptores dopaminérgicos **(113)**.

FAMILIA D1

Está conformada por dos subtipos, denominados D1 y D5. Estos receptores tienen una región carboxilo terminal que es aproximadamente 7 veces más larga que la correspondiente a los receptores de la familia D2. Además, esta región muestra abundantes residuos de serina y de treonina, susceptibles de fosforilación por cinasas como la PKA y la KC **(57)**. En el caso del receptor adrenérgico 2, el más estudiado de los receptores acoplados a proteínas G, la fosforilación del segmento carboxilo terminal es responsable de la desensibilización que experimenta el receptor en respuesta a la estimulación continua por agonistas **(114-115)**.

RECEPTORES D1

Tanto en el ser humano como en las ratas los receptores D1 son cadenas de 446 residuos de aminoácidos. Características estructurales de este subtipo son una región i3 corta y un extremo carboxilo largo de 113-117 aminoácidos **(57)**.

DISTRIBUCIÓN

El subtipo D1 es el receptor dopaminérgico más abundante en el SNC **(57,67,105)**. Niveles altos del receptor se encuentran en el túbulo olfatorio, el neostriado, el núcleo accumbens, las islas de Calleja, la amígdala, el núcleo subtalámico, la sustancia negra (reticulada y compacta) y el cerebelo (capa molecular). Niveles moderados han sido detectados en la corteza cerebral (frontal, entorrinal y el cíngulo), el tálamo y el globo pálido. Los receptores D1 son escasos en la formación hipocámpal, la región septal, el hipotálamo, el área tegmental ventral y el colículo inferior **(57)**. El RNAm correspondiente al receptor D1 se observa en el neostriado, la corteza cerebral (frontal, prefrontal, piriforme y entorrinal), la formación hipocámpal, el túbulo olfatorio, el núcleo accumbens, el hipotálamo y el tálamo **(57,106)**, así como en el núcleo subtalámico. En otras áreas como el núcleo entopeduncular, el globo pálido la sustancia negra reticulada, es posible detectar a la proteína receptora pero no al RNAm, lo que indica que los receptores están presentes sólo en los axones provenientes del neostriado **(57)**.

RECEPTORES D5

Estos receptores son proteínas de 475 (rata) o 477 (humano) residuos e aminoácidos. El receptor humano tiene una homología de 49% con el receptor D1 de la misma especie y de 83% con el receptor D5 de la rata **(57)**.

DISTRIBUCIÓN

El receptor D5 se expresa con mucho menor intensidad que el subtipo D1 y su localización parece restringirse al hipocampo y a los núcleos lateral mamilar y parafascicular del tálamo **(113)**. En el SNC la expresión del RNAm se ha demostrado en el hipocampo, el tálamo, el neocórtex, el hipotálamo y la corteza cerebral en sus regiones frontal y temporal (117,116).

FAMILIA D2

Conformada por 3 subtipos denominados D2, D3 y D4, los que muestran como característica una región i3 muy larga de 101 a 166 aminoácidos, dependiendo del subtipo y de la especie. En contraste, la misma región está conformada por 57 y 50 residuos en los receptores D1 y D5 respectivamente **(57)**. Las regiones i3 largas parecen ser típicas de los receptores que inhiben a la adenilil ciclasa (y por lo tanto la formación de AMPc) mediante la activación de proteínas G_i. Dicha región es también rica en residuos de serina y de treonina, mismos que pueden ser fosforilados por diversas cinasas de proteína, regulando así el acople a la proteína G correspondiente **(118 y 119)**.

RECEPTORES D2

Existen 2 formas generadas por procesamiento alternativo ("splicing") del RNAm generado por un gen único. La forma corta (D2S) está formada por 414 aminoácidos en el humano y 415 en la rata, mientras que la forma larga (D2L) tiene 443 y 444 aminoácidos respectivamente. La diferencia en residuos aminoácidos se observa sobre todo en la región i3, conformada por 29 aminoácidos más en las formas largas del receptor **(57)**. Dado que la región i3 es crítica para el acople a proteínas G, es probable que la variación en longitud de dicha región resulte en diferencias tanto en los procesos de transducción de señales como en la regulación de la activación de proteínas G. Sin embargo, no se han demostrado de manera fehaciente las supuestas diferencias funcionales.

DISTRIBUCIÓN

El receptor D2 ha sido detectado en alta densidad en el neocórtex (neuronas GABAérgicas estriado-palidales), el tubérculo olfatorio, la capa molecular de la formación hipocámpal, el núcleo accumbens, las islas de Calleja y el área tegmental ventral. Se encuentra también en moderadas cantidades en la sustancia negra reticulada, y la sustancia negra compacta (donde es expresado por las neuronas dopaminérgicas como autorreceptor

somatodendrítico), la corteza cerebral (regiones prefrontal, entorrinal y cíngulo), el globo pálido, la amígdala, el tálamo y el hipotálamo **(57)** así como en el núcleo subtalámico. En la hipófisis el receptor D2 es expresado por los melanotopos y por los lactotopos, donde regula la neurosecreción al modular la apertura de canales de Ca^{2+} activados por voltaje mediante la activación de proteínas Go **(80,105,120)**.

La distribución del RNAm es prácticamente paralela a la descrita para el receptor, con la excepción de la sustancia negra reticulada en la que se han determinados niveles intermedios del receptor, pero muy bajos o indetectables del RNAm **(57)**, indicando que en esta región el receptor se encuentra localizado en las terminales sinápticas de las vía aferentes y en las dendritas de las neuronas dopaminérgicas de la SNc que se extienden a la SNr. Cabe destacar que en general la distribución del RNAm de las dos formas (corta y larga) del receptor coincide con la distribución del RNAm total para ambas formas. Sin embargo, regiones donde se ha observado una distribución diferencial incluyen al neocórtex y la hipófisis, donde se observa una mayor presencia de la forma larga **(57,106)**.

RECEPTORES D4

Este subtipo fue clonado en 1991 **(122)** y es una cadena peptídica de 385-387 aminoácidos que muestra una significativa homología con los receptores D2 y D3 . Una característica interesante del receptor D4 es su alta afinidad por el neuroléptico clozapina, lo que generó un gran interés por sus posibles implicaciones fisiopatológicas y terapéuticas.

DISTRIBUCIÓN

El RNAm correspondiente al receptor D4 se encuentra presente en alta densidad en la corteza frontal, el bulboolfactorio, la amígdala, el meséncéfalo y la retina. Densidades intermedias se observan en el neocórtex, mientras que densidades bajas o apenas detectables han sido reportadas para el hipotálamo y el hipocampo **(57,113,123)**.

RECEPTORES D3

La existencia de este subtipo fue confirmada por clonación molecular en 1990 **(121)**. Su distribución en el SNC y sus características farmacológicas (en particular su sensibilidad a neurolépticos) son claramente diferentes de las correspondientes al receptor D2. En el ser humano el receptor consta de 400 aminoácidos, mientras que en la rata la cadena peptídica comprende 446 residuos, siendo la diferencia la extensión del asa i 3, conformada por 120 y 166 aminoácidos respectivamente **(57)**. El gen del receptor D3, localizado en el cromosoma 3, banda 3q13.3 **(124)**.

DISTRIBUCIÓN

La presencia del receptor D3 se ha estudiado mediante la determinación del RNAm, con niveles elevados en las islas de Calleja, la región septal, los núcleos geniculados medial y lateral del tálamo, el núcleo mamilar medial del hipotálamo y en las células de Purkinje del cerebelo (**57, 106**). Densidades intermedias se observan en la corteza parietal y temporal, la formación hipocampal, el bulbo olfatorio, el neocórtex, el núcleo accumbens, la amígdala, el núcleo subtalámico, la oliva inferior y los lóbulos anterior e intermedio de la hipófisis. Niveles mínimos se detectan en la sustancia negra compacta, el área tegmental ventral, la corteza frontal, el cíngulo y el globo pálido.

RELEVANCIA CLINICA Y ANTECEDENTES

Esquizofrenia

Los estudios sobre los posibles cambios en la densidad de receptores dopaminérgicos son difíciles de interpretar y de conciliar entre ellos. Por ejemplo, en algunos estudios el análisis post-mortem del cerebro de pacientes con esquizofrenia ha mostrado un aumento en la densidad de receptores de la familia D2 (**125**) y del subtipo D4, perteneciente a la misma familia, en los núcleos caudado y putamen. Sin embargo, otro estudio mostró en los mismos núcleos un aumento de los receptores de la familia D2 (**126**), sin cambio aparente en el subtipo D4, es decir, que el aumento correspondió a los subtipos D2 y D3. Por su parte, Schmauss y cols. reportaron en 1993 (**127**) una disminución del subtipo D3 perteneciente también a la familia D2, en la corteza cerebral. A pesar de estos datos, un estudio con tomografía de emisión de positrones no mostró relación entre la esquizofrenia y cambios en la densidad de receptores dopaminérgicos (**128**). Otros estudios han sido también dirigidos a establecer relación entre posibles alteraciones genéticas en la expresión de receptores dopaminérgicos y la aparición de esquizofrenia. Sin embargo, los resultados obtenidos hasta el momento no apoyan dicha relación (**105**). Finalmente, cambios en la función de los transportadores de dopamina podrían también modificar la función dopaminérgica y participar por lo tanto en la fisiopatología de la esquizofrenia. Sin embargo, dichos cambios no han sido observados (**125**).

Le Fur, Phan y Uzay, A. en 1980 empezaron a describir que había una gran afinidad de unión de la 3H-espiperona a los linfocitos en los seres humanos (**25**).

En estudios posteriores el mismo autor reportó una disminución de unión de la 3H-espiperona en los linfocitos de los pacientes con enfermedad de parkinson (**137**), pudiendo ser contada con un posible índice periférico de receptores dopaminérgicos del SNC. En la misma línea, 5 años después, Bondy y cols. (**138**) supusieron que los elementos celulares sanguíneos, como los linfocitos, son modelos accesibles y fáciles para analizar, para investigar las funciones de los receptores en el sistema nervioso central, llevando a cabo ensayos clínicos con ligando marcado radioactivamente en plaquetas, linfocitos y granulocitos para estudiar los parámetros de unión (binding). En un estudio de Bondy y cols. realizado se a través del

antagonista 3H-espiperona; teniendo una muestra de 43 pacientes esquizofrénicos no medicados, 25 esquizofrénicos medicados, 38 familiares de primero y segundo grado de los pacientes, 27 pacientes con otras enfermedades psiquiátricas y 40 controles sanos. La densidad de 3H-espiperona en los sitios de unión de los linfocitos fue significativamente mayor en todos los pacientes tanto agudos como crónicos de los esquizofrénicos, tanto aquellos sometidos a tratamiento neuroléptico como libres de este. Incremento que no fue observado en otros pacientes con otra enfermedad psiquiátrica, proponiendo este incremento como un posible marcador de vulnerabilidad. **(129)**. Datos que hablaban a favor de un posible marcador de “rasgo” para la esquizofrenia, determinado genéticamente, que revela menos la presencia de la enfermedad que la predisposición o la vulnerabilidad a contraerla. **(139)**.

En México en 1988, se realizó un estudio para corroborar estos datos, usando la misma técnica con 3H-espiperona en seis controles sanos, nueve pacientes con diagnóstico de esquizofrenia y diecinueve familiares de estos, encontrándose que los pacientes con esquizofrenia son diferentes a los controles sanos y similar al grupo de padres y hermanos. Esta diferencia se expresa únicamente en la variabilidad pero no en la tendencia central, es decir, no difieren en su media **(130)**.

En 1989 Itzchaky S, estudio la recaptura de 3H espiperona por los linfocitos en pacientes esquizofrénicos y controles sanos, sin poder replicar los hallazgos de Bondy, asociando lo al uso de pacientes crónicos y dificultades técnicas encontrando resultados controvertidos **(134)**.

En adición a lo anterior varios estudios demostraron que “espiperona” (antagonista D2) encontrado en linfocitos de sangre periférica es alto en pacientes que responden a medicamentos antipsicóticos en comparación con pacientes esquizofrénicos resistentes al tratamiento. **(140)**

Encontrándose posteriormente controversias en estos hallazgos por parte de Griffiths (1992), quien estudio a 25 pacientes esquizofrénicos, 40 de sus familiares, y 25 controles sanos, habiendo una alto secuestro de 3H espiperona en solo una pequeña proporción de pacientes esquizofrénicos (13.6%) y sus familiares (5%), siendo un marcador de vulnerabilidad de uso limitado. **(131)**.

En 1994 nuevamente en México el Dr.Heinze y cols. Realizó un segundo estudio con el uso de 3H-espiperona (3HS) en 22 esquizofrénicos, 18 familiares no afectados y 8 controles sanos, no encontrando diferencias significativas en ambos grupos comparado con los controles, siendo poco significativo como marcador biológico y proponiendo ampliar la muestra. **(132)**. De igual manera los estudios de Wodarz al estudiar la unión de (3HS) en células mononucleares periféricas en pacientes esquizofrénicos, trastornos afectivos tipo bipolar y sujetos sanos, no existiendo diferencias significativas en la unión entre todos los grupos de pacientes psiquiátricos en comparación con los sujetos sanos, ni en los subtipos de esquizofrenia, ni entre los que respondieron al tratamientos y los que no. **(135)**.

Laufer (1999) estudio la unión de 3HS en pacientes esquizofrénicos vírgenes al tratamiento neuroléptico y los posibles efectos del fármaco en la unión, no encontrando diferencias significativas antes y después del tratamiento neuroléptico en los pacientes esquizofrénicos, o entre los pacientes y sus familiares y controles sanos **(133)**.

Se estableció una alta afinidad hacia ligandos dopaminérgicos así como la presencia de RNA en varios subtipos de receptores a dopamina (D3,D4,D5) en linfocitos de sangre periférica humana **(142)**.

En 1999 Amenta F. y Cols. en su estudio de los receptores dopaminérgicos D2 en linfocitos sanguíneos periféricos humanos con ensayos de unión a radioligandos y estudios inmunocitoquímicos, demostraron en sus estudios anteriores con estas diferentes técnicas que los receptores dopaminérgicos D2 en linfocitos pertenecía al subtipo de receptores D3 y D4. La estandarización de técnicas inmunocitoquímicas para la detección de receptores dopaminérgicos en linfocitos sanguíneos periféricos humanos pueden contribuir a clarificar la función de los linfocitos como un marcador periférico del estado del sistema dopaminérgico **(136)**.

Aún es imposible determinar con la suficiente precisión el número y la localización de los receptores de la dopamina en el cerebro de los pacientes esquizofrénicos vivos. En el 2001 Sara Fuchs y Tal Ilani, del Departamento de Inmunología del Instituto Weizmann, proponen una forma de estudiar el problema, dado que la identificación de los receptores de la dopamina en la superficie de los linfocitos es extremadamente complicada, el equipo se ha centrado en un estadio temprano de la formación del receptor (concretamente, en la fase en la que el RNA mensajero transporta la información genética precisa para crear los receptores de la dopamina desde el núcleo celular a los ribosomas). Los linfocitos humanos periféricos tienen alta afinidad de ligandos dopaminérgicos, así como la presencia de RNAm de los receptores tipo D2 (D3 y D4), los cuales reflejan la densidad en el núcleo accumbens de los receptores D3. Ilani y cols. mostraron una alta correlación entre los niveles del RNAm del receptor D3 en linfocitos de 14 pacientes con esquizofrenia al compararlo con 14 individuos sanos del mismo sexo y del mismo grupo de edad, descubrieron que los esquizofrénicos contienen de media, 3.6 veces más moléculas de RNA mensajero de receptores de dopamina de una determinada clase, denominada D3, que la sangre de las personas sanas, y que tanto los pacientes que tomaban medicamentos como quienes no los tomaban mostraron tendencia a tener al menos el doble de receptores D3 que los que no padecían de esquizofrenia, proponiendo que el receptor D3 del RNA mensajero (DRD3 RNAm) en los linfocitos podría ser el marcador para identificar y estudiar la esquizofrenia. **(18)**. En el mismo año Kanzig S, encontró resultados semejantes a los de Tal Ilani. **(24)**.

Kwak y cols. encontraron mayor incremento de DRD3 RNAm en un grupo de 28 pacientes esquizofrenicos libres de tratamiento antipsicótico por 90 días o más, al compararlos con 15 pacientes esquizofrenicos que nunca habían tomado drogas antipsicóticas, 44 pacientes esquizofrenicos que estaban tomando antipsicóticos y 31 individuos sanos **(19)**.

Vogel y cols. Reportaron una correlación entre la elevación de los niveles de DRD3 RNAm en pacientes esquizofrénicos con síntomas negativos **(20)**.

Mismas investigaciones se han venido haciendo con otros padecimientos psiquiátricos y enfermedades neurologicas. Nagai y cols. reportaron una disminución en los niveles de RNAm del receptor D3 de dopamina en linfocitos de 45 pacientes con enfermedad de Parkinson, y la magnitud de la disminución DRD3 RNAm tenía correlación con la severidad de la enfermedad, sugiriendo que podría servir como un marcador para monitorizar la progresión de la enfermedad **(21)**.

Barbanti y cols. reportaron un incremento en la expresión de los receptores de dopamina D1-D2 en linfocitos sanguíneos periféricos de 50 pacientes con enfermedad de Parkinson idiopático al compararlos con 36 individuos con otras enfermedades neurodegenerativas y 26 individuos sanos **(22)**. En un segundo estudio mostraron un incremento en la densidad de DRD3 en linfocitos de 25 pacientes con Migraña al compararlos con 20 individuos sanos, concluyendo que el incremento de la expresión DRD3 en linfocitos periféricos de pacientes con migraña puede reflejar la hipersensibilidad de los receptores de dopamina central y/o periféricos debido a hipofunción dopaminérgica **(23)**.

Similar correlación ha sido demostrada en enfermedad de Alzheimer, estudiando los receptores muscarínicos, estando estos reducidos tanto en cerebro como en linfocitos **(143)**. Estos últimos hallazgos proveen otro ejemplo de que una afección en el SNC puede ser reflejada en linfocitos de sangre periférica.

En el presente estudio, se determinó la densidad de RNAm para receptores de dopamina subtipo D3 (DR-D3) en linfocitos de sangre humana periférica en pacientes esquizofrénicos, familiares de primer grado y controles sanos, con la finalidad de cuantificar la asociación entre estatus diagnóstico y presencia excesiva de RNAm para DR-D3. Con esto se explorará la utilidad de esta variable como un posible marcador biológico para la esquizofrenia. Discutiéndose los estudios que un futuro serían necesarios para descartar o utilizar esta variable como marcador biológico.

JUSTIFICACIÓN.

Explorar la utilidad de la densidad de RNAm para DR-D3 en linfocitos sanguíneos como posible marcador biológico para facilitar una detección temprana e intervención terapéutica oportuna. La detección de un marcador biológico conseguirá, en un futuro, una mejor evolución y pronóstico de los pacientes con esquizofrenia.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Es posible encontrar diferencias significativas en los niveles de RNAm para DRD3 en pacientes esquizofrénicos como un marcador biológico diagnóstico para esquizofrenia.

HIPOTESIS

La densidad del RNAm de los receptores dopamina D3 en linfocitos de pacientes con esquizofrenia está incrementada en comparación con el grupo de sujetos sanos. Los individuos vulnerables también muestran niveles diferentes a los observados en el grupo control y similares a los de los pacientes con esquizofrenia.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

1.- Determinar la expresión y comparar la densidad de receptor de dopamina (D3) RNAm en linfocitos de sangre periférica comparando a los pacientes esquizofrénicos, familiares de primer grado y controles sanos.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

1.- Determinar la densidad del RNAm DRD3 en los individuos vulnerables (familiares de primer grado de pacientes con esquizofrenia con o sin otros factores de riesgo).

2.- Determinar la densidad del RNAm DRD3 en pacientes esquizofrénicos y la de controles sanos.

3.- Describir características demográficas de la muestra.

4.- Describir la característica demográfica por cada subgrupo.

5.- Describir diferencias significativas en cuanto al sexo en los subgrupos.

6.- Describir si existen diferencias significativas de los resultados de PCR en los subgrupos.

7.- Describir si existe asociación entre el grupo de pacientes esquizofrénicos con tratamiento y positividad a prueba de PCR.

METODOLOGÍA

DISEÑO DE ESTUDIO:

Observacional, transversal y comparativo.

ESPECIFICACIÓN DE VARIABLES:

Variables independientes:

- Edad: Numérica, escalar.
- Sexo: categórica, dicotómico.
- Grupo diagnóstico (esquizofrenia, control sano y familiar de esquizofrénico): categórico, nominal.
- Tratamiento con Antipsicótico: categórica, nominal.

Variable dependiente:

Resultado de la medición de RNAm DRD3 en linfocitos periféricos.
Categórica, Dicotómica.

INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN

Técnica rtPCR

1. Separación de linfocitos:

Se obtuvo 10 ml de sangre, en tubos heparinizados, se diluyó con un volumen igual de regulador de fosfatos (PBS) y se separarán los linfocitos por gradiente de concentración con Ficoll /paquet centrifugando por 30 minutos, a 3000 rpm. El concentrado linfocitario se separó y se lavaron 2 veces en PBS, congelándose inmediatamente a -80°C , hasta la obtención del RNA.

2. Separación del RNA y retrotranscripción

El total de RNA de linfocitos se separó utilizando el método de guanidiniotiocitato y la cantidad y calidad de RNA se determinó utilizando espectrofotometría y electroforesis en geles de agarosa al 2%. 2 μg del RNA total serán retro- transcritos usando poli dt-base y 20 unidades de virus de la leucemia transcriptasa inversa moloney murina. Dos μl del producto DNAC se utilizarán para la amplificación por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en un volumen final de 25 μl .

3. Amplificación

Se realizó con los oligonucleótidos del receptor D3 y β actina (como control de gen constitutivo). Se sometieron a 23 ciclos (β -actina) y 38 ciclos (D3), con una temperatura de alineación de 65°C. La amplificación se realizó entre 30 y 40 ciclos para D3 y entre 19 y 25 para β -actina.

Los productos del PCR fueron corridos en geles de agarosa al 2% y cuantificados por analizador de imágenes por densitometría.

4. Análisis de resultados

Se evaluó la relación de la densidad óptica de mRNA β actina/D3, en las diferentes muestras; obteniéndose un promedio de esta razón por individuo. Se clasificaron en categoría dicotómica de RNAm por PCR en positivo y negativo estableciendo el punto de corte en una razón de 2 (es decir, una densidad óptica de RNAm para DR-D3 dos veces mayor que la densidad óptica de RNAm para β -actina).

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

-Pacientes con diagnóstico de Esquizofrenia según los criterios diagnósticos del DSM IV.

-Familiares de primer grado (padres y hermanos) de pacientes con esquizofrenia con o sin otros factores de riesgo.

-Edades entre 18 a 60 años.

-Ambos sexos.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

-Abuso y dependencia a alcohol y sustancias ilícitas de acuerdo a los criterios del DSMIV-TR.

-En los pacientes con esquizofrenia comorbilidad con otras enfermedades psiquiátricas del eje I.

-En los familiares con pacientes de esquizofrenia sin criterios diagnósticos para esquizofrenia u otras psicosis.

-En los pacientes, familiares y en los controles sanos no tener criterios para migraña ni enfermedad de parkinson.

MUESTRA

Universo de trabajo:

Todos los pacientes que son atendido en el tercer piso tanto consulta externa como hospitalización del Hospital Psiquiátrico Fray Bernardino Álvarez con el Diagnostico de Esquizofrenia y sus familiares de primer grado.

Tamaño de la muestra:

Se tomara una muestra de 21 pacientes que presenten el diagnostico clínico de Esquizofrenia según criterios diagnósticos del DSMIV, y 22 familiares de primer grado de éstos. Además se tomara una muestra de 17 pacientes sanos sin antecedentes de enfermedad mental pareados con la edad y sexo.

ANALISIS ESTADISTICO:

Se realizaron medidas de tendencia central y porcentajes para la descripción de los datos. En el caso de las variables numéricas se practicó prueba de análisis de varianza de un sentido (ANOVA). Para las variables categóricas se practicaron Chi cuadradas (considerando cuando apropiado la prueba exacta de Fisher). Para comparar la prueba PCR entre grupos diagnóstico (controles, esquizofrénicos y familiares) se realizó un modelo de regresión logística utilizando la prueba como variable dependiente y el grupo diagnóstico como independientes estableciendo al grupo de controles como contraste y ajustando para edad y tratamiento antipsicótico. Se estableció nivel de significancia a un valor de p de menos de 0.05.

PARTICIPACIÓN DE OTRA INSTITUCIÓN

-Hospital Psiquiátrico Fray Bernardino Álvarez.

-Laboratorio de Genética y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigación de Biomédicas de la UNAM.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Se cumplieron de manera íntegra los principios de la declaración de Helsinki y revisiones posteriores. Los participantes leyeron y comprendieron el consentimiento informado que les presento el investigador principal.

PROCEDIMIENTO

Se incluyeron 21 pacientes esquizofrénicos que cumplan los criterios del DSM-IV (141) evaluados por dos psiquiatras de la clínica de esquizofrenia del Hospital Fray Bernardino Álvarez. Se formó un segundo grupo con 22 familiares de primer grado de estos pacientes y un tercer grupo control de 17 personas sanas sin antecedentes familiares de padecimientos psicóticos. Se les solicitó un consentimiento informado. El estudio fue aprobado por el comité de investigación y de Ética del Hospital Fray Bernardino Álvarez. Los participantes firmaron consentimiento informado según lo establecido en la convención de Helsinki. Se colectaron datos demográficos y clínicos. Posteriormente el químico farmacobiólogo tomó las muestras de sangre en el laboratorio del Hospital Psiquiátrico Fray Bernardino Álvarez. Las muestras se enviaron al laboratorio de Genética y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM y se almacenaron en forma ciega para su análisis químico por parte de una QFB con doctorado en ciencias. Los datos recabados fueron manejados por medio del programa estadístico SPSS (Statist version 10.0.1, 1999).

Resultados

La muestra estuvo compuesta por 60 sujetos, de los cuales se dividieron en tres grupos: esquizofrénicos 35%, familiares de primer grado 36.7% y sujetos sanos 28.3%. (Ver tabla 1).

tabla 1.- Relación con esquizofrenia

	Frecuencia	Porcentaje
enfermo	21	35.0
sano	17	28.3
familiar	22	36.7
Total	60	100.0

La edad promedio de la muestra total fue de 34.35 con una desviación estándar de 9.12. Por grupos, se encontró un promedio de edad de 34.33 años para los pacientes con esquizofrenia, 33.82 para el grupo comparativo sano y de 34.77 para los familiares de primer grado de pacientes esquizofrénicos. No se encontró diferencias estadísticamente significativas para la edad entre los tres grupos ($F=0.50$ con $p=0.951$).

Tabla 2.- Descripción de edad de la muestra.

	N	Mínima	Máxima	Media	Desviación Estándar
edad	60	21	48	34.35	9.12
Valid N (listwise)	60				

Tabla 2.1 Descripción de edad para cada subgrupo

edad

Relación con esquizofrenia	Media	N	Desviación Estándar
enfermo	34.33	21	9.02
sano	33.82	17	9.19
familiar	34.77	22	9.56
Total	34.35	60	9.12

El 53.3% de la muestra total eran hombres. Por grupos 47.1% de los controles sanos, 52.4% de los esquizofrénicos y 59.1% de los familiares fueron hombres. La distribución de mujeres y hombres por grupos se encuentra descrita en la tabla 3. No existieron diferencias de sexo en los diferentes grupos (Chi cuadrada=0.570 con $p=0.752$).

Tabla 3.-Género y relación con esquizofrenia

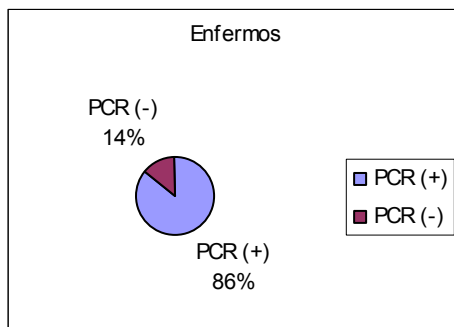
Count		Relación con esquizofrenia			Total
		enfermo	sano	familiar	
género	Femenino	10	9	9	28
	Masculino	11	8	13	32
Total		21	17	22	60

La PCR resultó positiva para el 86% de los enfermos, el 36% de los familiares y el 18% de los sanos. (ver tabla 4 y gráficas 1, 2 y 3). Encontrándose una diferencia estadísticamente significativa para estas proporciones (Chi cuadrada=19.423 g.l.=2 $p<0.001$).

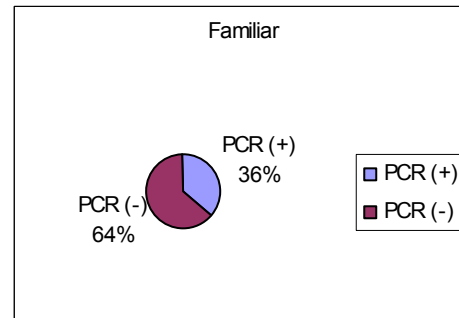
Tabla 4.- Relación entre subgrupos y PCR.

Count		PCR		Total
		positivo	negativo	
Relación con esquizofrenia	enfermo	18	3	21
	sano	3	14	17
	familiar	8	14	22
Total		29	31	60

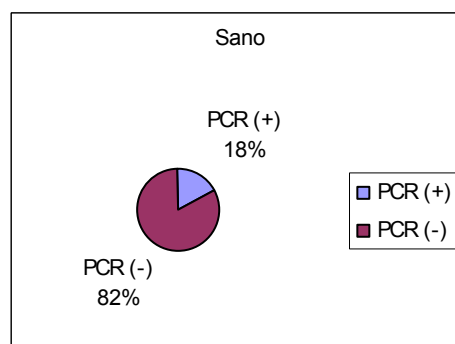
Gráfica 1.- PCR en esquizofrénicos.



Gráfica 2.- PCR en Familiares.

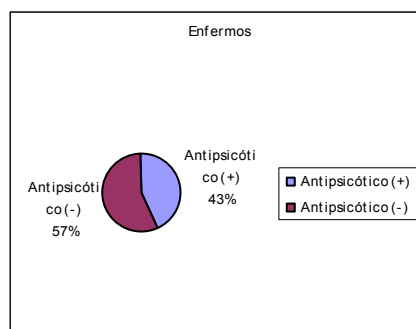


Gráfica 3.- PCR en sanos.



De los sujetos con esquizofrenia, 12 no se encontraban con tratamiento a base de antipsicóticos al momento de la toma de muestra sanguínea, los 9 restantes sí (ver gráfica 4). En este grupo diagnóstico, no se encontraron diferencias entre uso de antipsicóticos y positividad a prueba de PCR (89% vs 83% Prueba exacta de Fisher con $p=0.612$).

Gráfica 4.- Enfermos y antipsicóticos.



Comparando a los grupos con los controles sanos, tenemos que los pacientes con esquizofrenia fueron 23.33 veces más probables de contar con prueba de PCR positiva (razón de momios= 27.98; intervalo de confianza 95% 4.88-160.36); mientras que los familiares de esquizofrénicos fueron 2.66 veces más probables de tener la prueba positiva (razón de momios=2.66, intervalo de confianza 0.58-12.18). Esta asociación fue independiente de edad y uso de antipsicóticos; además de ser significativa en la comparación de esquizofrénicos versus sanos ($p<0.001$) y no significativa en la comparación familiares versus sanos ($p=0.20$). Mientras que comparado con los familiares, los esquizofrénicos fueron ocho veces más probables de tener una prueba positiva (razón de momios=8.75 intervalo de confianza 1.52-50.30 con $p=0.015$).

DISCUSIÓN:

El estudio demostró que la densidad de RNAm para receptores de dopamina del subtipo D3 está incrementada en pacientes esquizofrénicos comparado con familiares de primer grado y controles sanos. Dicha asociación no parece estar determinada por el sexo del paciente, su edad o el uso de antipsicóticos. Por su parte los familiares de primer grado de pacientes con esquizofrenia mostraron una mayor densidad que los controles sanos, aunque esta asociación no mostró significancia estadística.

Este estudio replica los hallazgos de Tal Ilani (18) y colaboradores del 2001. En este estudio se compararon directamente los niveles de RNAm para DR-D3 en linfocitos periféricos en 14 pacientes esquizofrénicos contrastándolo con 11 sujetos controles sanos. Los autores encontraron que los pacientes con esquizofrenia mostraban al menos un incremento dos veces mayor en la densidad de RNAm DR-D3 comparado con sujetos sanos. A su vez, también descartaron un efecto del uso de medicamentos en esta asociación.

Por su parte, Kwak y cols. encontraron mayor incremento de DRD3 RNAm en un grupo de 28 pacientes esquizofrenicos libres de tratamiento antipsicótico por 90 días o más, al compararlos con 15 pacientes esquizofrenicos que nunca habían tomado drogas antipsicóticas, 44 pacientes esquizofrenicos que estaban tomando antipsicóticos y 31 individuos sanos **(19)**.

Hasta donde sabemos, se trata de la primera reproducción de estos estudios en pacientes mexicanos. Confirmándose que los hallazgos de una diferencia en la expresión de RNAm de DR-D3 es además independiente de etnicidad de la muestra. Específicamente en población mexicana, otros estudios en esquizofrénicos y DR-D3 han mostrado dicha asociación, pero utilizando técnicas de radioligando en lugar de expresión de RNAm (Heinze y colaboradores **(130)** **(132)**). Lo cual a su vez reafirma esta técnica como válida para el estudio de diferencias en receptores de dopamina subtipo 3 entre pacientes esquizofrénicos y controles sanos.

Como se ha propuesto en estudios anteriores, las diferencias en expresión de ya sea de RNAm para DR-D3 o el propio receptor para D3 puede ser un paralelo o reflejo de lo que sucede a nivel central. Por lo que, los cambios en la densidad de RNAm para D3 observados en este estudio pueden reflejar un desbalance sistémico en los receptores D3. Otras patologías del SNC con relación a dopamina han sido estudiadas con este modelo. Nagai y cols. reportaron una disminución en los niveles de RNAm del receptor D3 de dopamina en linfocitos de 45 pacientes con enfermedad de Parkinson, y la magnitud de la disminución DRD3 RNAm tenía correlación con la severidad de la enfermedad, sugiriendo que podría servir como un marcador para monitorizar la progresión de la enfermedad **(21)**. Barbanti y cols. reportaron un incremento en la expresión de los receptores de dopamina D1-D2 en linfocitos sanguíneos periféricos de 50 pacientes con enfermedad de Parkinson idiopático al compararlos con 36 individuos con otras enfermedades neurodegenerativas y 26 individuos sanos **(22)**. En un segundo estudio mostraron un incremento en la densidad de DRD3 en linfocitos de 25 pacientes con Migraña al compararlos con 20 individuos sanos, concluyendo que el incremento de la expresión DRD3 en linfocitos periféricos de pacientes con migraña puede reflejar la hipersensibilidad de los receptores de dopamina central y/o periféricos debido a hipofunción dopaminérgica **(23)**. Similar correlación ha sido demostrada en enfermedad de Alzheimer, estudiando los receptores muscarínicos, estando estos reducidos tanto en cerebro como en linfocitos **(143)**. Estos últimos hallazgos proveen otro ejemplo de que una afección en el SNC puede ser reflejada en linfocitos de sangre periférica.

Aunque resulta prematuro suponer que los hallazgos del presente estudios confirman una utilidad como marcador biológico para la esquizofrenia, si apuntan a la necesidad de realizar otros estudios, con muestras mayores y seguimientos longitudinales, para esclarecer el posible uso de esta variable de biología molecular como indicador de riesgo o de factor pronóstico. El realizar seguimientos a largo plazo en sujetos con un riesgo mayor de desarrollar esquizofrenia (i.e. familiares de primer grado); podría esclarecerse

su utilidad como marcador biológico para detección de pacientes en estado premórbido. Por otra parte el evaluar a pacientes esquizofrénicos y describir su evolución longitudinal y los cambios posibles en la expresión del RNAm para DR-D3, podrían determinar la utilidad de esta variable biológica como indicador de evolución, factor pronóstico y/o de respuesta clínica.

Es imposible mediante una exploración transversal y de muestra pequeña el concluir en uso como prueba diagnóstica y dicha exploración sale del alcance del presente estudio. Sin embargo, el estudio aporta nuevos datos a la creciente base de información que asocian la expresión de receptores D3 y la esquizofrenia.

LIMITACIONES:

Podemos enumerar varias limitantes al estudio realizado. Por ejemplo el tamaño de la muestra es pequeña y no reflejan una verdadera muestra representativa de la población total. Por otra parte se valoró a través de una entrevista no estructurada a los familiares y controles sanos; al no evaluar mediante una entrevista estructurada o semi-estructurada a los familiares y controles resulta imposible descartar por completo la presencia de psicopatología y de historia familiar de psicopatología. Esto último pudo haber introducido un sesgo de información al clasificar como sujetos control a pacientes esquizofrénicos o familiares de esquizofrénicos. A su vez, no se contó con una evaluación objetiva del estatus sintomático del paciente con esquizofrenia (i.e. PANSS); ya que como ha sido descrito en los antecedentes, se ha visto una mayor correlación entre DR-D3 y síntomas negativos de la esquizofrenia; por lo que no podemos afirmar que la asociación descrita en este estudio dependa exclusivamente de un predominio síntomas negativos en la muestra clínica. El uso de la técnica de rt-PCR no permite cuantificar directamente los niveles de RNAm, para ello se requiere el uso de PCR en tiempo real, pero dicha técnica resulta más problemática realizar y por los fondos para este estudio, no se pudo utilizar.

CONCLUSIONES:

Los hallazgos sugieren fuertemente que los pacientes con esquizofrenia presentan una mayor probabilidad de expresar una densidad óptica elevada de RNAm para receptor de dopamina de subtipo 3 en linfocitos periféricos comparado con controles. Este hallazgo subraya la necesidad de realizar estudios subsecuentes sobre esta variable; de esta forma, se podría en un futuro esclarecer su utilidad como marcador de riesgo, pronóstico, evolución y respuesta a tratamiento.

REFERENCIAS:

1. Wynne L, Singer M. Thought disorder and family relations of schizophrenics. *Arch Gen Psychiatry*, 1964; 12:201-212.
2. Wu EQ, Birnbaum HG, Shi L, Ball DE, Kessler RC, Moulis M, Aggarwal J. The Economic burden of Schizophrenia in the United States in 2002. *J. Clin. Psychiatry*. 2005 Sep; 66 (9):1122-9.
3. Larsen T, Johannessen J, Opjordsmoen S. First-episode schizophrenia with long duration of untreated psychosis. *Br J Psychiatry* 1998; 172 (Suppl 33) 40-45.
4. Davis KL, Kann RS, Ko G, Davidson M. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry*, 1991; 148:1474-1486.
5. Jankovic SM, Milovanovic D, Mitrovic M, Dukic-Dejanovic S. Dopamine receptor subtypes. *Med Pregl*, 49:281-305, 1996.
6. Fish B. Infant predictors of the longitudinal course of schizophrenia development. *Schizophr Bull* 1987; 13:395-409.
7. Fish B, Marcus J, Hans S, Auerbach J, Perdue S. Infants at risk for schizophrenia: sequelae of a genetic neurointegrative defect. *Arch Gen Psychiatry*, 1992; 49:221-235.
8. Walker E, Lewine R. Prediction of adult-onset schizophrenia from childhood home-movies of the patients. *Am J Psychiatry*, 1990; 147:1052-1056.
9. Cornblatt B, Obuchowski M, Schnur D, O'Brien J. Hillside study of risk and early detection in schizophrenia. *Br J Psychiatry* 1998;172 (Suppl, 33): 26-32.
10. Tsuang M, Williams S, Faraone S: Toward reformulating the diagnosis of schizophrenic. *Am J. Psychiatry*, 2000; 157 (7):1041-1050.
11. Jones P, Cannon M. The new epidemiology of schizophrenia. *The Psychiatric Clinics of North Am*, 1998; 21:1-25.
12. Chua SE, McKenna PJ. Schizophrenia-a brain disease? A critical review of structural and functional cerebral abnormality in the disorder. *Br. J. Psychiatry*, 1995; 166:563-582.
13. Buckley PF, MD. Esquizofrenia. *The Psychiatric Clinics of North America*, 1998; 21:2-86.

14. Holzman P, Kringlen E, Levy D, Proctor L, Haberman S, Yassilo N. Abnormal pursuit eye movement in schizophrenia: evidence for a genetic indicator. *Arch Gen Psychiatr*, 1977; 34:802-805.
15. Litman R, Torrey E, Hommer D, Radant A, Pickar D, Weinberg D. A quantitative analysis of smooth pursuit eye tracking in monozygotic twins discordant for schizophrenia. *Arch Gen Psychiatr*, 1997; 54:417-426.
16. Clementz B, Mc Dowell J, Brenner C, Coon H, Byerley W. Measures of eye movement performance for identifying unaffected gene carriers in schizophrenia pedigrees. *Am J Med Genet*, 1997; 74:595-596.
17. Buckley PF, Friedman L. Magnetic resonance spectroscopy: Bridging the neurochemistry and neuroanatomy of schizophrenia. *Br J Psychiatry*, 2000; 176:203-205.
18. Tal Llani, Dorit Ben-Shachar, RaelD. Straus, Marina Mazor, Ala Sheinkman, Mosne Kotler, Sara Funchs. A peripheral marker for schizophrenia increased levels of D3 dopamine receptor in blood lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001; 98:625-628.
19. Kwak YT, Koo MS, Choi CH, Sunwoo IN: Change of Dopamine receptor mRNA expression in lymphocyte of schizophrenic patients. *BMC. Med. Genet.* 2001; 2:3, 1471-2350 /2/3.
20. Matthias Vogel, Silvia Pfeifer, Rainer T. Shaub, Hans-Jürgen Grave, Suen Barnow, Harald J. Freyberger, Ingolf Cascorbi: Decreased Levels of dopamine D3 receptor mRNA in schizophrenic and bipolar Patients. *Neuropsychobiology* 2004; 50: 305-310.
21. Nagai Y, MD; S. Ueno, MD; Y. Saeki, MD; F. Soga, MD; M. Hirano, MD; and T. Yanagihara, MD: Decreased of the dopamine receptor mRNA expression in lymphocytes from patients with Parkinson's disease. *Neurology* 1999;46:791-795.
22. Barbanti P, Fabbri G, Ricci A, Cerbo R, Bronzetti E, Caronti B, Calderaro C, Felici L, Stocchi F, Meco G, Amenta F, Lenzi GL: Increased expression of dopamine receptors on lymphocytes in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 1999 sep; 14 (5): 764-71.
23. Barbanti P, Fabbri G, Ricci A, Paola Pascali M, Bronzetti E, Amenta F, Lenzi GL, Cerbo R: Migraine patients show an increased density of dopamine D3 and D4 receptor on lymphocytes. *Cephalalgia*, 2000, 20, 15-19.
24. Kanzig S. A Peripheral marker for schizophrenia: Increased levels of D3-receptor-RNA in blood lymphocytes. *Psychiatr Prax.* 2001. Jul;28(5):251-2.

25. Le Fur G, Phan T, Uzan A: *Identification of stereospecific (3H) spiperidol binding sites in mammalian lymphocytes. Life Sci, 2:1139-1148, 1980.*
26. De Lisi L. A critical overview of recent investigations into the Genetics of schizophrenic. *Curr Opin Psychiatry, 1999; 12 (1): 29-39.*
27. Cardno a. Marshall E. Coid B. Macdonal A. Ribchester T. Davis N. Heritability estimates for psychotic disorders. *Arch Gen Psychiatry, 1999; 56:162-168.*
28. Ketty S. Wender P. Jacobsen B. Ingraham L. Janson L. Faber B. Kinney D. Mental illness in the biological and adoptive of schizophrenic adoptees: Replication of the Copenhagen study in the rest of Denmark. *Arch. Gen Psychiatry, 1994; 51:442-449.*
29. Tsuang M. Genes, Environment and mental health wellness. *Am J. Psychiatry, 2000, 157: 489-491.*
30. Aviña C, Garnica R. Factores de riesgo asociados a esquizofrenia. *Tesis de Especialidad en Psiquiatría, Instituto Nacional de Neurología. México, 2001, p 5.*
- 31.-Jablensky A: *Evolución y pronóstico de la esquizofrenia. Tratado de Psiquiatría; Psiquiatría Editores 2003. 728-738.*
32. Díaz Martínez A. Ortega Soto H. *Guía para el diagnóstico y manejo del paciente esquizofrénico. Facultad de Medicina 2006. p 5.*
33. Jones P: *The early origins of schizophrenia. Brit Med Bull 1997; 53:135-155.*
34. Davidson M, Reichenberg A, Rabinowitz J, Weiser M, Kaplan Z, Mark M: *Behavioral and intellectual markers for schizophrenia in apparently healthy male adolescents. Am J psychiatry 199; 156:1328-1335.*
35. McGlashan TH: *Early detection and intervention in schizophrenia research. Schizophr Bull. 1996; 22:327-345.*
36. Young AR, McGorry PD. *The prodromal phase of first episode schizophrenia: past and current conceptualizations. Schizophr Bull; 1996. 22:353-370.*
37. Liddle P. Psychiatric neuroimaging research. Contemporary strategies. *British Journal of Psychiatry 2003; 183:84-85.*
38. Hoffman RE & McGlashan TH (1993) parallel distributed processing and the emergence of schizophrenic patients II: Two years relapse rate. *Archives of General Psychiatry, 31, 603-608.* b v.

- 39.-Mueser K, McGurk S: schizophrenia. *The Lancet* 2004; 363:2063-2072.
40. Cannon M, Caspi A: Evidence for early-childhoodm, pandevelopmental impairment specific to schizophrenia disorder, results from longitudinal birth cohort. *Arch Gen Psychiatry* 2002; 59:449-456.
41. Sullivan P, Kendler K: Schizophrenia as a complex trait, evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry* 2003; 60: 1197-1192.
- 42.-Byrne M, Agerbo E: Family history of psychiatry disorders and age at first contact in schizophrenia: An epidemiological study. *British Journal of Psychiatry* 2002; 181 suppl 43: 19-25.
- 43.-Mueser K, McGurk S; Schizophrenia. *The Lancet* 2004; 363:2063-2072.
- 44.-Cannon M, Caspi A: Evidence for Early childhood, pandevelopmental impairment specific to schizophrenia disorder, result from a longitudinal birth cohort. *Arch Gen Psychiatry* 2002. 59: 449-456.
- 45.-Dalman Ch, Thomas H: Signs of asphyxia at birth and risk of schizophrenia: Population-baset case-control-stade. *British Journal of Psychiatry*. 2001; 179:403-408.
- 46.- McGrath J: Gaining traction on the epidemiologic landscape schizophrenia. *Am J Epidemiol* 2003; 158:301-304.
47. Van Erp T, Saleh P. Contributions of genetic risk and fetal hypoxia to hippocampal volumen in patients with schizophrenia or schizoaffective disorder, their unafeected siblings, and healthy unrelated volunteers. *Am J Psychiatry* 2002. 159 (9); 1514-1520.
48. Brown A, Beggs M. Serologic evidence of prenatal influenza in the etiology of schizophrenia. *Arch General of Psichiatriy* 2004; 61: 774-780.
49. Singh SM, McDonald P: Incidental nuerodevelopmental episodes in the etiology of schizophrenia: An expanded model involving epigenetics and development. *Clin Genet* 2004; 65:435-440.
50. Jim Van O, CArsten P: Confirmation of synergy between urbanicity and familial liability in the causation of psichosis. *Am J Psichiatriy* 2004; 161 (12): 2312-2314.
51. Harrison P, Owen M: Genes for schizophrenia? Recent findings and their pathophysiological implications. *The Lancet* 2003; 361: 417-419.
52. Kawai M, Minabe Y: Poor maternal care an high maternal body mass index in pregnancy as a risk factor for shicozphrenia in offspring. *Acta Psychiatr Scand* 2004; 110: 257-263.

53. Abdelmalik P, Husted J; Childhood head injury and expression of schizophrenia in multiply affected families. *Arch Gen Psychiatry* 2003; 60: 231-236.
54. Miller TJ, McGlashan TH, Rosen JL, et al: Prospective diagnosis of the initial prodrome for schizophrenia based on the structured interview for prodromal syndromes: Preliminary evidence of interrater reliability and predictive validity. *Am J Psychiatry* 2002; 159(5): 853-865.
55. Jäger M, Bottlender R, Strauss A, Möller HJ: On the descriptive validity of ICD-10 schizophrenia: Empirical analyses in the spectrum of non-affective functional psychoses. *Psychopathology* 2003; 36:152-159.
56. Fibiger HC. Mesolimbic dopamine: an analysis of its role in motivated behavior. *Semin Neurosci* 1993; 5:321- 27.
57. Jackson DM, Westlind-Danielsson A. Dopamine receptors: molecular biology, biochemistry and behavioral aspects. *Pharmacol Ther* 1994; 64: 291-369.
58. Feldman RS, Meyer JS, Quenzer LF. Principles of neuropsychopharmacology. Sunderland, Sinauer, 1997: 277-344.
59. Robbins-Trevor W. Milestones in dopamine research. *Semin. Neurosci.* 1992; 4:93-7.
58. Feldman RS, Meyer JS, Quenzer LF. Principles of neuropsychopharmacology. Sunderland, Sinauer, 1997: 277-344.
60. Keabian JW, Calne DB. Multiple receptors for dopamine. *Nature* 1979; 277:93-6.
61. Bunzow JR, Van Tol HHM, Grandy DK, Albert P, Salon J, Christie M, Machida CA, Neve KA, Civelli O. Cloning and expression of a rat D2 dopamine receptor cDNA. *Nature* 1988; 336:783-7.
62. Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. The biochemical basis of neuropharmacology. 7th. Ed. New York/Oxford, Oxford University Press, 1996:293-351.
63. Fuxe K. Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. IV. Distribution of monoamine nerve terminals in the central nervous system. *Acta Physiol Scand* 1965; 64, (Suppl. 247): 37-85.
64. Freund TF, Powell JF, Smith AD. Tyrosine hydroxylase-immunoreactive boutons in synaptic contact with identified striatonigral neurons, with particular reference to dendritic spines. *Neurosci* 1984; 13:1189-215.

65. Nagatsu T, Levitt M, Uderfriend S. Tyrosine hydroxylase: the initial step in norepinephrine biosynthesis. *J Biol Chem* 1964; 239:2910-7.
66. Levitt M, Spector S, Sjoerdsma A, Udenfriend S. Elucidation of the rate-limiting step in norepinephrine biosynthesis in the perfused guinea-pig heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1965; 23:1493-501.
67. Weiner N, Molinoff PB. Catecholamines. En: Siegel GJ, Agranoff B, Albers RW, Molinoff PB eds. *Basic Neurochemistry*. 4 Ed. New York: Raven Press; 1989. p. 233-51.
68. Kaufman S. The enzymology of the aromatic amino acid hydrolases. En: Kaufman S ed. *Amino acids in health and disease: new perspectives*. New York: Alan R. Liss, 1987:205-232.
69. Kaufman S. Properties of pterin-dependent aromatic amino acid hydrolases. En: Kaufman S ed. *Aromatic amino acids in the brain*. Amsterdam: Elsevier; 1974. p. 108-15.
70. Fujisawa H, Okuno S. Regulation of tyrosine hydroxylase activity by its products and cyclic AMP- dependent protein kinase. En: Kaufman S ed. *Amino acids in health and disease: new perspectives*. New York: Alan R. Liss; 1987. p. 245-66.
71. Fujisawa H., Okuno S. Regulation of the activity of tyrosine hydroxylase in the central nervous system. *Adv Enzym Reg* 1987; 28:93-110.
72. McGeer PL, Eccles JC, McGeer EG. *Molecular neurobiology of the mammalian brain*. 2nd. New Yor: Plenum Press; 1987. p. 265-317.
73. Zigmond, MJ, Schwarzschild MA, Rittenhouse AR. Acute regulation of tyrosine hydroxylase by nerve activity and by neurotransmitters via phosphorylatio. *Ann Rev Neurosci* 1989; 12:415-61.
74. Hetey L, Kudrin V, Shemanov A, Rayevsky K, Delssner V. Presynaptic dopamine and serotonin receptors modulating tyrosine hydroxylase activity in synaptosomes of nucleus accumbens of rats. *Eur J Pharmacol* 1985; 43: 327-30.
75. Onali P, Olianias MC. Involvement of adenylate cyclase inhibition in dopamine autoreceptor regulation of tyrosine.hydroxylase in rat nucleus accumbens. *Neurosci Lett* 1989; 102:91-6.
76. Dwonskin LP, Zhaniser NR. Robust modulation of [3 H]-dopamine release from striatal slices by D 2 –dopamine receptors. *J Pharm Exp Ther* 1986; 239:442-53.

77. Onali P, Olanas MC, Bunse B. Evidence that adenosine A2 receptors and dopamine autoreceptors antagonistically regulate tyrosine hydroxylase activity in rat striatal synaptosomes. *Brain Res* 1988; 456:302-9.
78. Gobert A, Lejeune F, Rivet J-M, Cistarelli L, Millan MJ. Dopamine D 3 (auto)receptors inhibit dopamine release in the frontal cortex of freely moving rats in vivo. *J Neurochem* 1996; 66: 2209-12.
79. Whetzel SZ, Shih YH, Georgic LM, Akunne HC, Pugsley TA. Effects of the dopamine D 3 antagonist PD.58491 and its interaction with the dopamine D 3 agonist PD 128907 on brain dopamine synthesis in rat. *J Neurochem* 1997; 69:2363-68.
80. Lledo PM, Homburger V, Bockaert J, Vincent J-D. Differential G protein-mediated coupling of D 2 dopamine receptor to K + and Ca 2+ currents in rat anterior pituitary cells. *Neuron* 1992; 8:455-63.
81. Akaoka H, Charley P, Saunier CF, Buda M, Chouvet G. Inhibition of nigral dopamine neurons by systemic and local apomorphine: possible contribution of dendritic autoreceptor. *Neuroscience* 1992; 49:879-91.
82. El Mestikawy S, Hamon M. Is dopamine-induced inhibition of adenylate cyclase involved in the autoreceptor-mediated negative control of tyrosine hydroxylase in striatal dopaminergic terminals? *J. Neurochem* 1986; 47:1425-33.
83. Chowdhury M, Fillenz M. Presynaptic adenosine A2 and N-methyl-D-aspartate receptors regulate dopamine synthesis in rat striatal synaptosomes. *J Neurochem* 1991; 56:1783-88.
84. Arias-Montaña JA, Martínez-Fong D, Aceves J. Glutamate stimulation of tyrosine hydroxylase is mediated by NMDA receptors in the rat striatum. *Brain Res.* 1992; 569:317-22.
85. Arias-Montaña JA, Martínez-Fong D, Aceves J. Gamma-aminobutyric acid (GABA B) receptor-mediated inhibition of tyrosine hydroxylase activity in rat striatum. *Neuropharmacol.* 1991; 30:1047-51.
86. Arias-Montaña JA, Martínez-Fong D, Aceves J. GABA B receptor activation partially inhibits N-methyl- D-aspartate-mediated tyrosine hydroxylase stimulation in rat striatal slices. *Eur J Pharmacol* 1992; 218:335-8.
87. Receptor and ion channel nomenclature. *Trends Pharmacol Sci* 1998.
88. Raiteri M, Marchi M, Maura G. Presynaptic muscarinic receptors increase striatal dopamine release evoked by "quasi-physiological" depolarization. *Eur J Pharmacol* 1982; 83:123-9.

89. Leviel V, Gobert A, Guibert B. Direct observation of dopamine compartmentation in striatal nerve terminals by 'in vivo' measurement of the specific activity of released dopamine. *Brain Res* 1989; 499:205-13.
90. Südhof TC. The synaptic vesicle: a cascade of protein- protein interactions. *Nature* 1995; 375:645-53.
91. Valentijn JA, Vaudry H, Cazin L. Multiple control of calcium channel gating by dopamine D 2 receptors in frog pituitary menotrophs. *Ann NY Acad Sci* 1993; 37:211- 28.
92. Roberts P, McBean G, Sharif NA, Thomas E. Striatal glutamatergic function modifications following specific lesions. *Brain Res* 1982; 235: 83-91.
93. Raiteri M, Leardi R, Marchi M. Heterogeinity of presynaptic muscarinic receptors regulating neurotrans- mitter release in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 228:209-14.
94. Cheramy A, Romo R, Godeheu G, Baruch P, Glowinski J. In vivo presynaptic control of dopamine release in the cat caudate nucleus-II. Facilitatory or inhibitory influence of L-glutamate. *Neurosci* 1986; 19:1081-90.
95. Martínez-Fong D, Rosales MG, Góngora-Alfaro JL, Hernández S, Aceves J. NMDA receptor mediates dopamine release in the striatum of unanesthetized rats as measured by brain microdialysis. *Brain Res* 1992; 595:2 309-15.
96. Giorguieff MF, Le Flo'h ML, Glowinski J, Besson MJ. Stimulation of dopamine release by GABA in rat striatal slices. *Brain Res* 1978; 139:115-30.
97. Starr MS. GABA potentiates potassium-stimulated 3H- dopamine release from rat substantia nigra and corpus striatum. *Eur J Pharmacol* 1978; 48:325-8.
98. Lehmann J., Langer SZ. Muscarinic receptors on dopamine terminals in the cat caudate nucleus: neuromodulation of [3 H]dopamine release in vitro by endogenous acetylcholine. *Brain Res* 1982; 248:61-9.
99. Bowery NG, Hill DR, Hudson AL, Doble A, Middlemiss DN, Shaw J, et al. (-)Baclofen decreases neurotransmitter release in the mammalian CNS by an action at a novel GABA receptor. *Nature* 1980; 283: 92- 4.
100. Reimann W. Inhibition by GABA, baclofen and GABApentine of dopamine release from rabbit caudate nucleus: are there common or different sites of action. *Eur J Pharmacol* 1983; 94:341-4.

101. Attwell D, Mobbs P. Neurotransmitter transporters. *Curr Opin Neurobiol* 1994; 4:353-9.
102. Shimada S, Kitayama S, Lin CL, Patel A, Nanthakumar E. Cloning and expression of a cocaine-sensitive dopamine transporter complementary DNA. *Science* 1991; 254:576-8.
103. Humphrey PPA. The characterization and classification of neurotransmitter receptors. *Ann New York Acad Sci* 1997; 182:1-13.
104. Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM. Principles of neural science. 3rd Ed., New York: Apleton and Lange, 1991. p. 120-269
105. Missale C, Russel NS, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 1998; 78:189-225.
106. O'Dowd BF. Structure of dopamine receptors. *J Neurochem* 1993; 60:804-16.
105. Missale C, Russel NS, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 1998; 78:189-225.
107. Schwartz J-C, Giros B, Martres M-P, Sokoloff P. The dopamine receptor family: molecular biology and pharmacology. *Semin. Neurosci.* 1992; 4: 99-108.
108. Dixon RAF, Sigal IS, Rands E, Register RB, Candelore MR, Blake AD, et al. Ligand binding to the α -adrenergic receptor involves its rhodopsin-like core. *Nature* 1987; 326:73-77.
109. Zhou Q-Z, Grandy DK, Thambi L, Kushner JA, Van Tol HHM, Cone R, et al. Cloning and expression of human and rat D 1 dopamine receptors. *Nature* 1990; 347:76-80.
110. Sunahara RK, Niznik HB, Weiner M, Stormann TM, Brann MR, Kennedy JL, et al. Human dopamine D 1 receptor encoded by an intronless gene on chromosome 5. *Nature* 1990; 347:80-3.
111. Sibley DR, Leff SE, Creese I. Interactions of novel dopaminergic ligands with D-1 and D-2 dopamine receptors. *Life Sci* 1982; 31:637-45.
112. Giros B, Martres MP, Sokoloff P, Schwartz JC. cDNA cloning of the human dopaminergic D 3 receptor and chromosomes identification. *CR Acad Sci Paris* 1990; 311: 501-8.
113. Jaber M, Robinson S, Missale C, Caron MG. Dopamine receptors and brain function. *Neuropharmacology* 1996; 35:1503-19.

114. Huganir RL, Greengard P. Regulation of neurotransmitter receptor desensitization by protein phosphorylation. *Neuron* 1990; 5:555-67.
115. Ferguson SG, Barak LS, Zhang J, Caron MG. G- protein-coupled receptor regulation: role of G-protein- coupled receptor kinases and arrestins. *Can J Physiol Pharmacol* 1996; 74:1095-110.
116. Tiberi M, Jarvie KR, Silvia C, Falardeau P, Gingrich JA, Godinot N, et al. Cloning, molecular characterization and chromosomal assignment of a gene encoding a second D 1 dopamine receptor subtype: Differential expression pattern in rat brain compared with the D 1A receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:7491-5.
117. Jackson DM, Westlind-Danielsson A. Dopamine receptors: molecular biology, biochemistry and behavioral aspects. *Pharmacol Ther* 1994; 64: 291-369.
118. Arias-Montaña JA. Proteínas G y transducción de señales celulares. *Boletín Soc Mex Ciencias Fisiológicas* 1994; 1:11-7.
119. Soria LE, Guerrero MG, Arias-Montaña JA. Adrenoceptores: estructura, farmacología y mecanismos de transducción de señales. *Rev Biomed* 1996; 7:105-19.
120. Gómora JC, Avila G, Cota G. Ca²⁺current expression in pituitary melanotrophs of neonatal rats and its regulation by D2 dopamine receptors. *J Physiol* 1996; 492:763-73.
121. Schwartz, J.-C, Diaz J, Bordet J, Griffon N, Perachon S, Pilon C, et al. Functional implications of multiple dopamine receptor subtypes: the D 1 /D 3 receptor coexistence. *Brain Res Rev* 1998; 26:236-42.
122. Van Tol HHM, Bunzow J, Gusn HC, Sunahara RK, Seeman P, Nizik HB, et al. Cloning of the gene for a human dopamine D 4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature* 1991; 350:610-4.
123. Mansour A, Meador-Woodruff J, Burke S, Bunzow J, Akil H, Van Tol HM, et al. Differential distribution of D 2 and D 4 dopamine receptor mRNAs in the rat brain: an in situ hybridization study. *Soc. Neurosci Abstr* 1991; 17:599.
124. Beth L: The D3 Dopamine Receptor: Neurobiology and potential clinical relevance. *Journal Watch Psychiatry* 1997; vol 49 (3): 231-252
125. Seeman P, Nizkik HB. Dopamine receptors and transporters in Parkinson's disease and schizophrenia. *FASEB J* 1990; 4: 273-744.

126. Reynolds GP, Mason SL. Are striatal dopamine D 4 receptors increased in schizophrenia? *J Neurochem* 1994; 63:1576-7.
127. Schmauss C, Haroutunian V, Davis KL. Selective loss of dopamine D3-type receptor mRNA expression in parietal and motor cortices of patients with chronic schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:8942- 6.
128. Farde L, Wiesel FA, Stone-Elander S, Halldin C, Norstrom AL, Hall H, et al. D2 dopamine receptors in neuroleptic-naïve schizophrenic patients: a positron emission tomography study with [¹¹C]raclopride. *Arch Gen Psychiatr* 1990; 47:213-19.
129. Bondy B, Ackenheil M. 3H Spiperone binding sites lymphocytes as possible vulnerability marker in schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 1987;21(4):521-9.
130. Heinze, Gerhard ; Ortega, Héctor ; Benítez-King, Gloria ; Forray, Carlos ; Huerto-Delgadillo, Lourdes ; Galván, Gisela ; De la Fuente, Juan Ramón ; Salas, Carlos: Densidad de probables receptores dopaminérgicos en los linfocitos de los pacientes con esquizofrenia paranoide. Resultados preliminares. *Salud Mental Vol: 11 (4)*: 1 - 5 , Diciembre , 1988.
131. Griffiths RS, Chung-a-on KO, Griffiths KD, Payne JW, Davies JI. The Sequestration of 3H spiperone by lymphocytes in schizophrenia and theirs first degree relatives: a limited vulnerability marker? *J. Psychiatr Res.* 1992. Jan; 26(1):77-84.
132. Heinze G, King GB, Huerto L, Ortega H, Cortes J, Ariza JR. The binding of 3H-spiperone to lymphocytes in patients with schizophrenia and first-degree relatives: in search of a genetic marker *Gac Med Mex.* 1994 Jul-Aug;130(4):241-245.
133. Laufer N, Spivak B, Holdengreber V, Zipser J. 3H Spiperone binding to lymphocytes in neuroleptic-naïve schizophrenia and the effect of neuroleptic treatment. *Clin. Neuropharmacol* 1999 marz-abr; 22 (2): 110-115.
134. Itzchaky S, Lerer B, Ebstein RP: Uptake of 3H spiperone by lymphocytes in schizophrenia. *J. Psychiatry Res.* 1989 23 (3-4): 221-7.
135. Wodarz N, Fritza J, Riederer P: 3H-spiperone binding to peripheral mononuclear cells in psychiatry in-patients. *Prog. Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1996 Apr: 20 (3): 459-470.
136. Amenta F, Bronzetti E, Felici L, Ricci A, Tayebati SK: Dopamine D2-like receptors on human peripheral blood lymphocytes: a radioligand binding assay and immunocytochemical study. *J. Auton Pharmacol.* 1999 Jun; 19 (3): 151-9.

137. Le Fur G, Phan T, Gerard A, Baulac M, Uzan A: Decreased in lymphocyte (3H) spiperidol binding sites in parkinsonism. *Life Sci.* 27:1587-1591, 1980.
138. Bondy B, Ackenheil M, Birelew: Family investigation with Respect to Altered (3H) Spiperone Binding to Lymphocytes to Schizophrenia patients, Burrows G.D y Cols. (Eds), 1985.
139. Hippus H, Muller-Spahn F: Los marcadores biológicos de la esquizofrenia y otras psicosis. *Salud Mental* 10 (3):35-41, 1987.
140. Grodzicki J, Pardo M, Schved G, Schlosberg A, Fuchs H, Kanety H. *Biol. Psychiatry.* 1990;27:1327-1330.
141. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 4th Ed. Washington, DC: Am. Psychiatric. Assoc.: 1994.
142. Ricci A, Bronzetti E, Felici L, Tayebati S K, Amenta F. *Neurosci Lett.* 1997;229:130-134.
143. Ferrero P, Rocca P, Eva C, Benna P, Rebaudengo N, Ravizza L, Genazzani E, Bergamasco B. *Brain.* 1991;114:1759-1770.

ANEXOS:**CONSENTIMIENTO INFORMADO****TÍTULO “DENSIDAD DE RNA MENSAJERO PARA RECEPTORES DE DOPAMINA D3 EN LINFOCITOS DE PACIENTES ESQUIZOFRENICOS y FAMILIARES”**

Usted está invitado a participar en un estudio de investigación que se realizara en el Hospital Fray Bernardino Álvarez y el Programa Especifico de esquizofrenia de la Secretaría de Salud. Esperando contar con la colaboración de los pacientes de la clínica de esquizofrenia y sus familiares.

Es probable que el presente formulario de consentimiento contenga palabras que usted no entiende por favor, pídale al médico del estudio o al personal del estudio que le expliquen todas las palabras o la información que no comprenda con claridad.

OBJETIVO: Su médico a diagnosticado a usted o a su familiar una condición médica caracterizada por síntomas que pueden incluir alucinaciones, delirios, interferencia con el pensamiento y retraimiento social. El propósito de este ensayo consiste en evaluar la utilidad diagnóstica del estudio de linfocitos de sangre periférica y sus receptores D3 como marcadores biológicos de la enfermedad. Se realizará la extracción de 5 ml. de sangre con todas las indicaciones de asepsia y antisepsia en pacientes esquizofrénicos y de sus familiares que acepten ser donadores voluntarios, así como de controles sanos. Si usted decide participar en esta investigación se le dará una cita para la entrevista y al día siguiente se realizará la toma de muestra sanguínea. En esta primera cita (llamada visita 0) se leerá este consentimiento y se determinará si usted es candidato al estudio y si usted acepta participar en él.

Previamente el médico del estudio le habrá informado el día y las condiciones para asistir a la toma de muestra sanguínea y la orientación correspondiente. El día de la toma de muestra se tomarán presión, pulso y temperatura; calculando el familiar y el paciente una permanencia de dos a tres horas en el hospital por cada visita.

Si usted acepta participar en este estudio, debe firmar el presente formulario del consentimiento que implica que usted ha leído el formulario y que su doctor y el personal del estudio han respondido a todas sus preguntas. Este formulario debe ser llenado antes de llevar a cabo cualquier evaluación.

RIESGOS Y EFECTOS COLATERALES: Todo procedimiento invasivo conlleva un riesgo, dado que se trata de una herida punzocortante limpia en donde se maneja equipo estéril (nuevo) y se realiza una adecuada técnica de aseo con personal altamente capacitado para este procedimiento aún así la extracción de sangre puede presentar dolor, contusiones, y con menor frecuencia infección.

Se debe evitar el consumo de alcohol o drogas de abuso mientras participa en este estudio debido a potenciales interferencias con el análisis de las muestras sanguíneas.

NUEVOS HALLAZGOS SIGNIFICATIVOS: Se le informará todo progreso o nueva información obtenidos durante el estudio, y usted o su representante legal serán informados acerca de los resultados tan pronto como sea posible.
BENEFICIOS POTENCIALES: Al participar en este estudio usted estará ayudando a investigar una posible prueba diagnóstica para esquizofrenia, su participación puede ser beneficiosa para usted, sus familiares y otros pacientes en el futuro; dado que en la actualidad no se cuenta con un estudio paraclínico que haga diagnóstico de esta enfermedad en pacientes con sintomatología esquizofrénica o que detecte a los familiares de personas con esquizofrenia vulnerables a la enfermedad aún sin presencia de sintomatología.

INDEMNIZACIÓN: El Hospital Fray Bernardino Álvarez se compromete a brindar atención médica únicamente de los riesgos antes mencionados que pueda conllevar la extracción de sangre. De presentarse alguna alteración de este tipo comuníquese con los doctores: Miguel Herrera Estrella, Carlos Aviña, al 3er piso del Hospital Fray Bernardino Álvarez (Clínica de esquizofrenia).

Al firmar este formulario usted no renuncia a ninguno de sus derechos legales que usted normalmente tendría como participante en este estudio de investigación.

CONFIDENCIALIDAD: A menos que lo requiera la ley sólo el equipo participante en la investigación, el comité de ética y las autoridades regulatorias (agencias gubernamentales) tendrán acceso a los datos confidenciales que lo identifiquen a usted por su nombre. Al firmar este formulario usted acepta esto. Tanto los resultados como toda otra información de este estudio pueden ser presentados a las autoridades regulatorias a nivel nacional o internacional para su aprobación, sin embargo, usted será identificado sólo por sus iniciales y su número de participación. Usted no estará identificado en ningún informe o publicación resultante de este estudio.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA: Su participación en este estudio es voluntaria. Su rechazo a participar no perjudicará sus tratamientos o beneficios futuros en este centro. Usted es libre de dejar de participar en este estudio en cualquier momento sin perjuicio o pérdida de la atención médica en este hospital o de su doctor.

El médico del estudio puede dar por terminada su participación en el estudio aún si usted desea continuar, si él considera que no es seguro para usted seguir con el estudio, si usted no cumple debidamente con los procedimientos del estudio.

PREGUNTAS ACERCA DE LA INVESTIGACIÓN: En el caso de que usted tenga alguna pregunta con respecto a la investigación o experimenta un problema relacionado con la investigación, comuníquese con su médico tratante. Si usted tiene alguna pregunta relativa a sus derechos como participante en este estudio, comuníquese con los doctores: Miguel Herrera Estrella, Carlos Aviña, al 3er piso del Hospital Fray Bernardino Álvarez (Clínica de esquizofrenia).

CONSENTIMIENTO:

Mediante mi firma certifico que he leído el formulario, que entiendo todos sus contenidos y he pedido y recibido una respuesta satisfactoria a cada pregunta que tengo con respecto al estudio de investigación y estoy de acuerdo en participar.

Entiendo que recibiré una copia de este formulario de consentimiento. Mediante mi firma en este formulario, no he renunciado a ninguno de los derechos jurídicos que yo normalmente tendría como participante en un estudio de investigación.

Si usted decide no participar en este estudio, esta decisión no tendrá ninguna repercusión en la atención que reciba en esta institución.

FIRMAS:

Fecha

Firma del participante.

Fecha

Firma del responsable legal.

Fecha

Firma del investigador.

Fecha

Firma del testigo.
