



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS**  
**ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**"BÚSQUEDA DE ASOCIACIÓN ENTRE EL GEN QUE CODIFICA PARA EL *DRD3* Y  
PACIENTES MEXICANOS CON ESQUIZOFRENIA"**

**TESIS**  
**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE.**  
**DOCTOR EN CIENCIAS MÉDICAS**

**PRESENTA:**  
**NORA ALICIA URRACA GUTIÉRREZ.**

**TUTOR: DR. HUMBERTO NICOLINI SÁNCHEZ.**  
**FACULTAD DE MEDICINA**

**MIEMBROS DEL COMITÉ TUTORAL:**  
**DR. ROGELIO APIQUIÁN GUITART Y DR. LORENA OROZCO OROZCO.**  
**FACULTAD DE MEDICINA**

**MÉXICO, D.F. NOVIEMBRE DE 2012**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**A mis padres por su incondicional apoyo y amor.**

## INTRODUCCIÓN

Se han realizado enormes esfuerzos en el campo de la Psiquiatría para conocer las causas de las enfermedades mentales, como la esquizofrenia. Una de las características observadas en esta enfermedad es su alta heredabilidad, por lo que se han utilizado diversas metodologías para identificar los factores genéticos que condicionan a la enfermedad. La esquizofrenia ha planteado un gran reto para los análisis genéticos porque en la mayoría de los casos, es el resultado del efecto predisponente de diferentes alelos de un número desconocido de genes y de la influencia del medio ambiente.

En este sentido, la finalización del Proyecto del Genoma Humano ha permitido determinar la secuencia de pares de bases del ADN en el humano, por un lado, además de determinar que solo del 1.1 al 1.5% del genoma codifica para las proteínas, del 40 al 46% es ADN no codificante y hasta un 10% son transposones. Más interesante aún es que existe un 99.99% de homología genómica entre un individuo y otro. La aplicación de este conocimiento del genoma humano a la práctica de la Medicina se le conoce como Medicina Genómica. La genómica, a diferencia de la genética que estudia un solo gen, estudia todos los genes en el genoma, incluyendo su función, interacción y su papel en las enfermedades comunes (como la esquizofrenia).

Es la era de la Medicina Genómica la que ha permitido la realización de estudios a gran escala y la identificación de algunos loci de riesgo para desarrollar esquizofrenia. Estudios recientes apoyan la hipótesis que la alta heredabilidad es el resultado de la combinación de alelos comunes de efecto menor y alelos raros con un relativo efecto mayor.

### **Esquizofrenia.**

Es una enfermedad mental, grave e incapacitante. Su incidencia anual es baja (1 en 100,000 por año), sin embargo su prevalencia es alta, ya que aproximadamente el 1% de la población general desarrolla esquizofrenia durante su vida. Esta enfermedad afecta tanto a hombres como a mujeres y los primeros síntomas son observados en la adolescencia o alrededor de los 20 años en hombres y entre los 20 y 30 años en mujeres<sup>1</sup>. La esperanza de vida de los sujetos que la padecen se ve disminuída de 12 a 15

años. Se caracteriza por una discapacidad cognitiva, social y emocional acompañada de síntomas psicóticos como delirios y alucinaciones. Para la realización del diagnóstico clínico se consideran los criterios establecidos en el Manual Diagnóstico y Estadístico de las Enfermedades Mentales (anexo 1). Es necesaria la presencia de síntomas positivos y/o negativos característicos de la enfermedad (tabla 1) que se presentan de forma continua y un deterioro en la actividad social, laboral e interpersonal. Este deterioro y los síntomas característicos de la enfermedad deben estar presentes de forma continua durante al menos 6 meses.

Tabla 1. Definición de síntomas positivos y negativos en la Esquizofrenia.

<b>Sintoma</b>		<b>Definición</b>
<b>Positivos</b>	Alucinación	Percepción sensorial sin la presencia de un estímulo que la origine.
	Ideas delirantes	Creencia falsa de la realidad
	Trastorno formal del pensamiento	Incoherencia, alteraciones en el lenguaje o la falta de lógica.
	Comportamiento desorganizado	Conducta activa, no constructiva y sin objetivos.
<b>Negativo</b>	Alogia	Disminución en la cantidad o contenido del lenguaje.
	Aplanamiento afectivo	Inexpresividad facial, tono de voz monótono
	Anhedonia	Falta de placer.
	Abulia o Apatía	Disminución en la habilidad para iniciar o continuar con planes.

En el tratamiento de la esquizofrenia se usan antipsicóticos (también llamados neurolépticos) que reducen los síntomas psicóticos. Los antipsicóticos son el mejor tratamiento disponible pero no curan la esquizofrenia ni aseguran que no existirán futuros episodios psicóticos. Los neurolépticos se clasifican en típicos y atípicos, los prototipos son el haloperidol y clozapina, respectivamente. La división está dada principalmente por el menor riesgo de efectos extrapiramidales con el uso de antipsicóticos atípicos<sup>2</sup>.

Los antipsicóticos tienen como blanco principal de acción a la dopamina y la mayoría de los típicos tienen alta afinidad por los receptores a dopamina 2, 3 y 4<sup>3</sup>.

### **Fisiopatología y Etiología.**

A pesar de los avances en la nosología psiquiátrica, epidemiología y genética, hasta el momento no existe un consenso sobre la etiología de la enfermedad. Se ha considerado

que la enfermedad tiene un origen multifactorial, en donde se destacan algunos factores de índole genético, neuroanatómico, neuroquímico y ambiental.

### ***Neuroanatomía.***

El hallazgo neurobiológico más confirmado es la dilatación del sistema ventricular en pacientes esquizofrénicos en comparación con sujetos sanos<sup>4</sup>. También se ha encontrado disminución en el volumen de los lóbulos frontales, la amígdala, el hipocampo, el tálamo y los lóbulos temporales<sup>5,6</sup>.

Diversos estudios realizados con tomografía por emisión de positrones (PET) han encontrado anomalías en el flujo cerebral en la región frontal, tálamo y cerebelo en pacientes esquizofrénicos. La reducción del flujo cerebral en el área prefrontal se ha relacionado con una disminución en la capacidad del sujeto para la realización de tareas cognitivas y con una disminución de la actividad dopaminérgica<sup>7,8</sup>.

### ***Neuroquímica.***

Durante muchos años la explicación más aceptada sobre la fisiopatología de los síntomas de la esquizofrenia fue la hipótesis dopaminérgica, que sugería que los síntomas se deben principalmente a una hiperactividad del sistema dopaminérgico. Esta hipótesis se sustenta en la eficacia de diversos antipsicóticos empleados para el manejo de la esquizofrenia, los cuales actúan principalmente como bloqueadores de los receptores a dopamina. De forma inversa, se ha reportado que los agonistas dopaminérgicos, como las anfetaminas y la cocaína, potencializan los síntomas psicóticos.

Un aumento de actividad en la vía mesolímbica se propone específicamente como el mediador de los síntomas positivos, como las alucinaciones e ideas delirantes. Y existe la hipótesis que una baja de actividad en la vía mesocortical es la mediadora de los síntomas negativos, cognitivos y afectivos de la esquizofrenia.

Sin embargo, no solo al sistema dopaminérgico se le ha relacionado con la esquizofrenia, también al sistema serotoninérgico y al glutamatérgico, los principales hallazgos reportados en la literatura se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Hallazgos neuroquímicos en la esquizofrenia (Miyamoto<sup>9</sup>).

Neurotransmisor	Hallazgo
<b>Dopamina</b>	
Receptores D2 estriado	Aumentados
Metabolismo de dopamina	Aumentado
Receptores corticales D1	Disminuidos
Receptores corticales D3	Aumentados
<b>Serotonina</b>	
Receptores corticales 5-HT <sub>2A</sub>	Disminuidos
Receptores corticales 5-HT <sub>1A</sub>	Aumentados
<b>Glutamato</b>	
Expresión de receptores no-NMDA en la corteza temporal y el hipocampo	Disminuida
Expresión de algunas subunidades del receptor NMDA	Aumentada

***Factores Ambientales.***

Se ha estimado que algunos factores ambientales aumentan el riesgo para la aparición de la esquizofrenia entre ellos, como se muestra en la figura 1, están las complicaciones en el embarazo y en el parto<sup>10,11</sup>, la exposición materna a influenza, rubéola u otros virus y los nacimientos en el invierno. Otros factores relacionados son un bajo coeficiente intelectual<sup>12</sup>, la inmigración<sup>13</sup> y el uso de drogas, como la marihuana<sup>14</sup>.

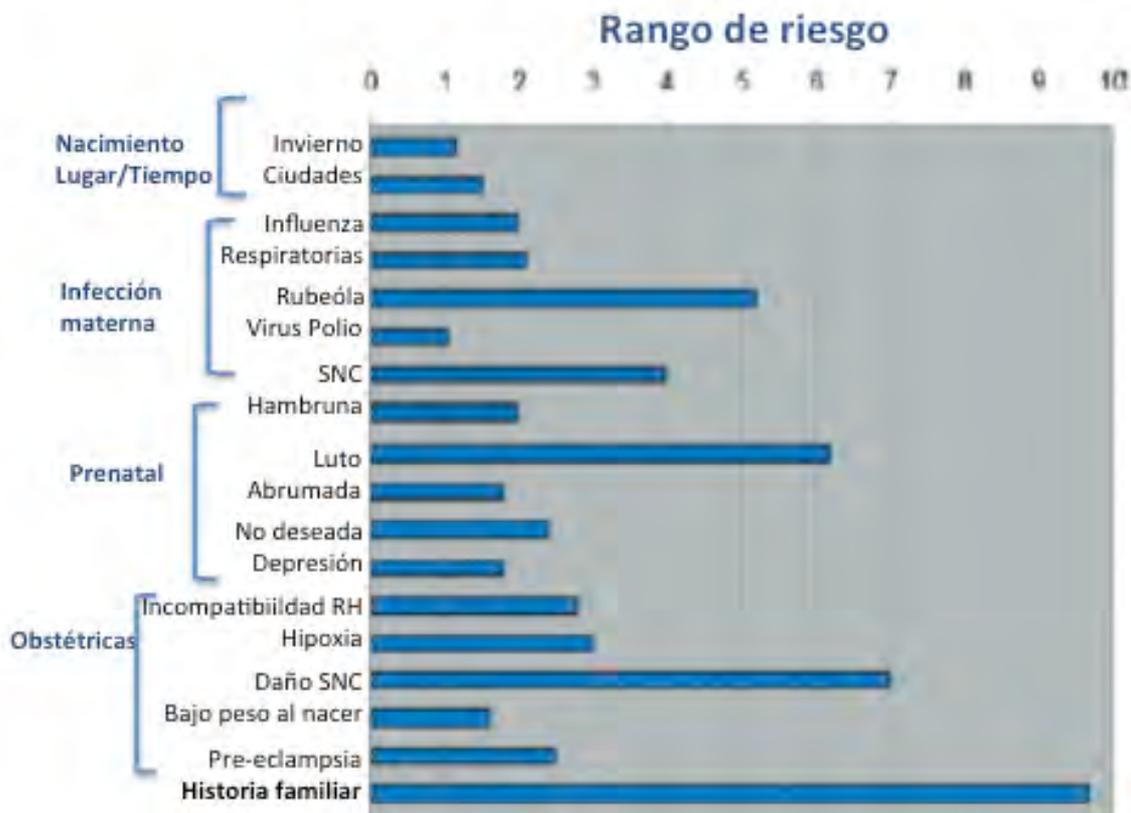


Figura 1. Riesgo de padecer esquizofrenia por diferentes factores ambientales (Sullivan<sup>15</sup>).

Por otro lado existe la teoría que la edad paterna avanzada (>50 años) aumenta el riesgo de padecer esquizofrenia en la descendencia<sup>16</sup>. Esto debido a que ocurren mutaciones *de novo* esporádicas en la línea germinal, así el riesgo es mayor en los casos esporádicos que en aquellos con historia familiar de esquizofrenia y psicosis<sup>17</sup>.

### Genética.

Existen varias teorías, que han tratado de explicar los mecanismos genéticos asociados a la etiología de la esquizofrenia. Una de ellas propone que la esquizofrenia tiene un genotipo homogéneo pero con efecto pleiotrópico. Otro abordaje se basa en una heterogeneidad genética y a los casos esporádicos (sin antecedentes familiares) los considera fenocopias debidas a factores ambientales. Finalmente la teoría más aceptada es que la enfermedad es el resultado del efecto aditivo de múltiples genes y factores ambientales.

### ***Epidemiología Genética.***

El riesgo de padecer esquizofrenia es mayor entre los familiares de un sujeto afectado que en la población general. Los riesgos aumentan cuando el grado de parentesco es más cercano, como se muestran en la tabla 3. Los estudios en gemelos demuestran una mayor concordancia de padecer esquizofrenia entre los gemelos monocigóticos (MZ) que en los gemelos dicigóticos (DZ). La concordancia en gemelos MZ es del 48 al 53% en comparación con el 4 al 15% en los gemelos DZ<sup>18,19</sup>. La heredabilidad que se refiere a la varianza del fenotipo atribuible a factores genéticos, ha sido estimada del 80% y lo restante de la varianza está explicado por factores ambientales específicos de cada individuo<sup>20</sup>. Los estudios de adopción corroboran que existe un mayor riesgo de padecer esquizofrenia entre los familiares de primer grado de un sujeto afectado. En un estudio danés, encontraron que el 7.9% de los sujetos dados en adopción y que tenían un familiar en primer grado con esquizofrenia desarrollaron la enfermedad, en comparación con el 0.9 % de los adoptados sin antecedentes de esquizofrenia<sup>21</sup>.

Tabla 3. Riesgo de esquizofrenia en familiares de pacientes esquizofrénicos (Tsuang<sup>22</sup>).

Parentesco	Genes compartidos (%)	Riesgo (%)
Gemelos monocigóticos	100	48
<b>Primer grado</b>	50	
Padres		6
Hermanos		9
Hijos		13
Hermanos con un padre afectado		17
Gemelos dicigóticos		17
<b>Segundo grado</b>	25	
Tíos		2
Sobrinos		4
Nietos		5
Medios hermanos		6
<b>Tercer grado</b>	12.5	
Primos		2

### ***Aberraciones cromosómicas.***

Ocasionalmente se han encontrado aberraciones cromosómicas en pacientes con esquizofrenia o síntomas que semejan a la esquizofrenia (psicosis), las cuales pueden ser herramientas poderosas para encontrar genes de riesgo.

Sin duda la alteración cromosómica más frecuentemente encontrada y por ello estudiada es la deleción 22q11.2 o síndrome velo-cardio-facial. Esta microdeleción tiene una frecuencia del 0.016% en la población, del 2% en adultos esquizofrénicos y del 6% en pacientes esquizofrénicos de inicio temprano<sup>23,24</sup>. El síndrome se caracteriza por defectos cardiacos, paladar hendido o insuficiencia velo-palatina, dismorfias faciales y problemas de aprendizaje. Además, estos pacientes tienen un riesgo 25 veces mayor de padecer esquizofrenia en comparación con la población en general<sup>25</sup>. Únicamente presentan un riesgo mayor los hijos con madre y padre esquizofrénicos y el co-gemelo de un individuo afectado<sup>26</sup>.

Por otro lado Blackwood y colaboradores<sup>27</sup>, describieron una familia con una translocación balanceada (1;11)(q42;q14.3) que co-segrega con trastornos psiquiátricos y la cual interrumpe dos genes de expresión cerebral (DISC1 y DISC2). Esta translocación genera un LOD score de 3.6 para esquizofrenia, de 4.5 para trastornos afectivos y 7.1 cuando se abarca depresión mayor, trastorno bipolar o esquizofrenia.

También de manera aislada se han reportado translocaciones<sup>28,29</sup>, inversiones<sup>30</sup>, duplicaciones<sup>31</sup> y deleciones<sup>32,33</sup> en pacientes con esquizofrenia.

### ***Estudios de ligamiento y escaneos del genoma.***

Los estudios de ligamiento en familias buscan identificar genes de efecto mayor en las enfermedades, como exitosamente se encontraron en la enfermedad de Huntington y en la Fibrosis quística. Este tipo de estudios tienen la ventaja de que no dependen de ningún tipo de conocimiento sobre la fisiopatología de la enfermedad. En estos estudios se calcula la puntuación LOD o LOD score, que afirma si existe o no ligamiento significativo entre el gen de la enfermedad y el marcador estudiado. El mayor LOD score reportado (6.5) en esquizofrenia, se obtuvo de un estudio en 22 familias canadienses en donde varios sujetos estaban afectados con esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo, encontrando ligamiento en 1q22<sup>34</sup>, región que se encontró también en familias europeas, aunque con un LOD score de 3.2<sup>35</sup>. Los resultados de la búsqueda de

gene(s) en las enfermedades complejas no son definitivos, pero las regiones que se replicaron en diferentes estudios de ligamiento en esquizofrenia son: 6p, 8p, 10p, 13q y 22q<sup>22</sup>.

Se han realizado escaneos genéticos que buscan variaciones (polimorfismos) a lo largo del genoma humano para identificar loci de riesgo en las enfermedades. La figura 2 muestra los resultados de tres estudios, donde el tamaño de muestra es grande: 353, 382 y 409 pares de hermanos estudiados

Faraone y sus colaboradores<sup>36</sup> estudiaron 606 familias chinas encontrando la región 10q22 con un LOD score de 2.88. Existen dos estudios en donde se incluyeron familias mexicanas para el escaneo del genoma humano: en el primero se analizaron 99 familias<sup>37</sup> y el fenotipo de estudio fue la psicosis, encontrando ligamiento en 1pter-1q36 (LOD score=3.42). En el segundo se analizaron 134 familias<sup>38</sup> con esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo encontrando ligamiento en 17q21 (LOD score=3.33).

Hasta la fecha se han implicado algunos loci con significancias estrictas en estudios de escaneo del genoma humano, como se muestra en la tabla 4. Como en otras enfermedades comunes los riesgos encontrados son pequeños y estos loci solo explican una muy pequeña proporción del riesgo genético asociado a la esquizofrenia.

Tabla 4. Genes asociados en esquizofrenia (Doherty<sup>39</sup>).

<b>Locus</b>	<b>Gen</b>	<b>Probabilidad</b>
2q32.1	<i>ZNF804A</i>	1.08-1.38
18q21.1	<i>TCF4</i>	1.20-1.30
11q24	<i>NRGN</i>	1.13-1.19
6p21.3	<i>CMH</i>	1.13-1.36
12p13.3	<i>CACNA1C</i>	1.13-1.15
3p21	<i>PBRM1</i>	1.30

ZNF804A=Proteína 804A dedo de cinc, TCF4=Factor de transcripción 4, NRGN=Neurogranina, CMH=Complejo mayor de histocompatibilidad, CACNA1C=canal de calcio tipo 1C, PBRM1= Polibromo 1.

Algunas debilidades que las técnicas de escaneo completo del genoma humano presentan, son las siguientes:

- a) Tienen poco poder al contribuir múltiples genes en la aparición de la enfermedad.

- b) No tienen la capacidad para detectar variaciones entre múltiples genes que interactúan y que afectan el fenotipo ya sea de forma lineal (aditiva) o no lineal (epistasia) o de ambas formas<sup>40</sup>.

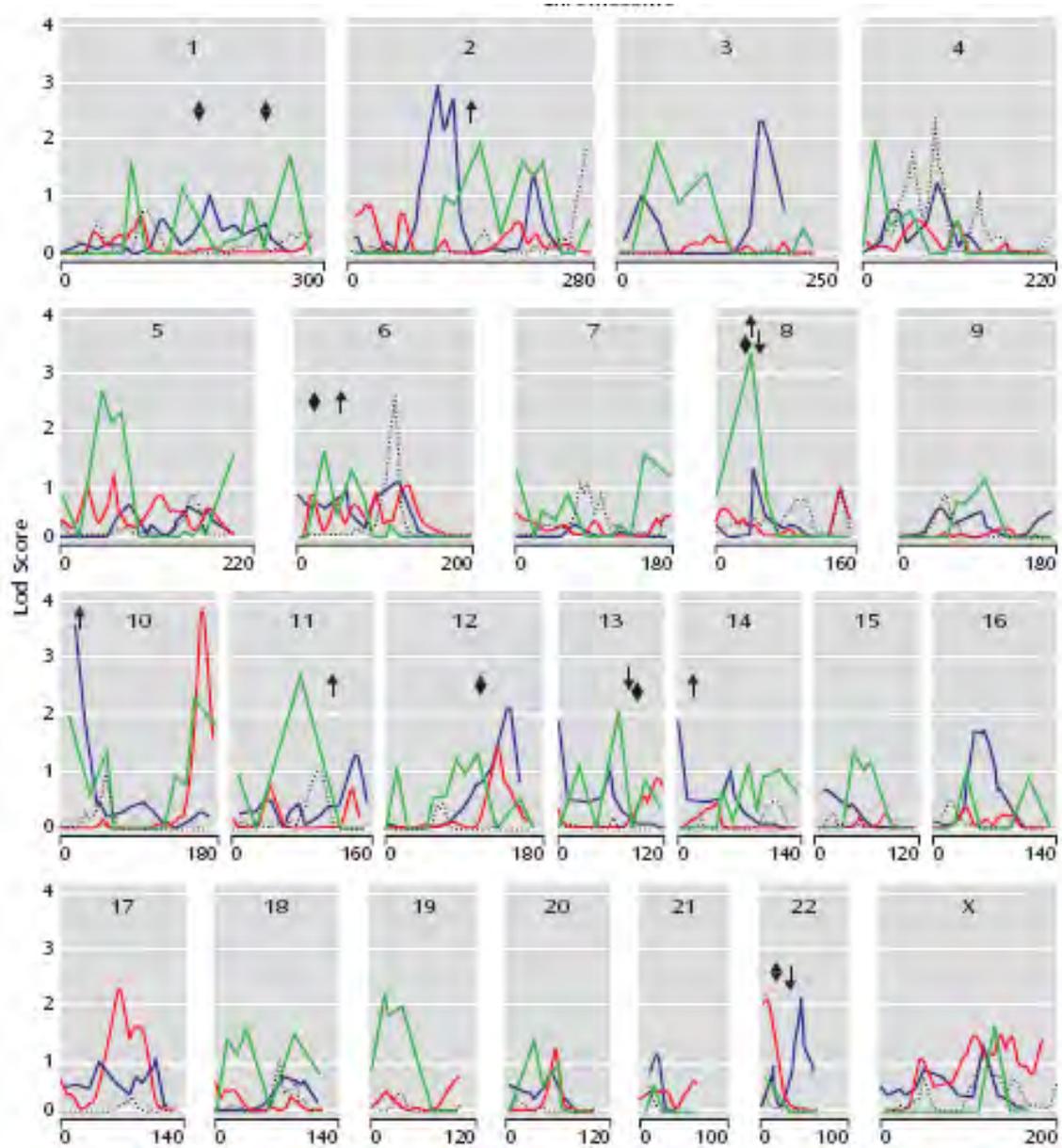


Figura 2. Comparación de tres estudios de ligamiento en esquizofrenia (Crow T, 2007<sup>41</sup>). En el eje de las “Y” se identifica el LOD score y cada recuadro en el eje de las “X” representa los autosomas y el cromosoma X. En verde se esquematiza el reporte de 409 pares de hermanos<sup>42</sup> en el que se encontró ligamiento en 8p23.3-p21.2 y sugestivo en 11p13.1-q14.1; las gráficas en azul son del estudio de 382 pares de hermanos<sup>43</sup> donde el mayor pico se ubica en 10p15-p13 (LOD =3.6) y una región sugestiva de ligamiento en el centrómero del cromosoma 2 y en rojo se ejemplifica el estudio de 353 pares de hermanos<sup>44</sup> con ligamiento en 10q25-q26.3 (LOD score=3.87) y en 17p11.2-q25.1 (LOD score=3.35).

- c) La variación podría ser epigenética, como la metilación en la secuencia del ADN, la fosforilación y acetilación asociada a las histonas, más que en la secuencia del ADN y por ello no se detecta por ligamiento<sup>41</sup>.

### ***Variaciones en el número de copias.***

La delección o duplicación de segmentos de ADN submicroscópicos, conocidos como variaciones en el número de copias (CNV, por sus siglas en inglés), son fuentes importantes de variaciones genómicas entre los individuos<sup>45</sup>. Además de su papel en varios síndromes raros también se les ha implicado en enfermedades comunes. Algunos estudios han encontrado que CNVs raros y mayores de 100 kb se encuentran más frecuentemente en sujetos con esquizofrenia que en la población general<sup>46</sup>. Los loci implicados incluyen 1q21.1, 15q11.2, 15q13.3, 16p11.2, 16p13.1 y 22q11.2<sup>46-48</sup>. Este tipo de variaciones tienen una frecuencia mucho menor (<0.001) que los polimorfismos de cambio de una sola base (SNPs por sus siglas en inglés). Aunque con penetrancia incompleta, en conjunto, se estima que confieren un riesgo de 3 a 20 veces más para desarrollar la esquizofrenia<sup>39</sup>.

### ***Estudios de asociación.***

En términos generales, existe asociación entre dos características si ocurren más frecuentemente que lo esperado por el azar en un mismo individuo. Para hablar de una asociación en genética, estas dos características son el fenotipo (o enfermedad) y un alelo específico. Por lo tanto observamos asociación genética si un alelo específico se encuentra más frecuentemente representado en un grupo de individuos afectados con la enfermedad (o fenotipo estudiado), que en un grupo de individuos no afectados (sin el fenotipo). Sin embargo, este tipo de estudios tiene el riesgo de generar resultados inciertos si se comparan dos poblaciones con diferente bagaje genético, lo que se conoce como sesgo por estratificación poblacional o confusor por etnicidad. Una forma de minimizar este sesgo es diseñando otro tipo de estudio, como son los estudios de asociación basados en familias. El principio es comparar estadísticamente los alelos transmitidos contra los alelos no transmitidos. Es decir, evalúa si la proporción de los alelos transmitidos de un progenitor heterocigoto a su hijo(a) afectado(a) se desvía del 50% esperado por las leyes de Mendel. Una de las ventajas de los estudios de asociación es que tienen mayor poder para encontrar genes de efecto menor que los estudios de ligamiento.

Se han realizado varios estudios de asociación buscando los diferentes genes que aumentan el riesgo de padecer la esquizofrenia y solo tres genes han sido los más consistentes hasta hace unos años<sup>49</sup>: el gen que codifica para el receptor de serotonina tipo 2A (HTR2A), el que codifica para la catecol-O-metiltransferasa (COMT) y el receptor de dopamina tipo 3 (DRD3). Sin embargo, en la tabla 5 se pueden observar genes candidatos que se han estudiado en la esquizofrenia.

Tabla 5. Posibles genes candidatos en la esquizofrenia (Sullivan, 2005)<sup>15</sup>.

Gen	Descripción	Locus	Anomalía cromosómica	Meta-análisis Escaneo genómico	Evidencia de ligamiento	Hallazgos de asociación
<i>AKT1</i>	V-AKT murine thymoma viral oncogene homolog 1	14q32.33	No	No	No	Estudios 2+ & 1-
<i>COMT</i>	Catechol-O-metiltransferasa	22q11.21	Si	Si	Si	Algunos estudios
<i>DISC1</i>	Disrupted in schizophrenia	1q42.2	Si	No	Si	Múltiples estudios
<i>DRD3</i>	Dopamine receptor D3	3q13.3	No	No	Inconsistente	Meta-análisis +
<i>DTNBP1</i>	Dystrobrevin binding protein 1	6p22.3	No	Si	Si	Múltiples estudios
<i>HTR2A</i>	Serotonin receptor 2 <sup>a</sup>	13q14.2	No	No	Inconsistente	Meta-análisis +
<i>NRG1</i>	Neuregulin	8p12	No	Cercano	Si	Múltiples estudios
<i>PRODH</i>	Proline dehydrogenase 1	22q11.2	Si	Si	Si	
<i>RGS4</i>	Regulator of G-protein signaling 4	1q23.3	No	Si	Si	Múltiples estudios
<i>SLC6A4</i>	Serotonin transporter	17q11.2	No	Cercano	Inconsistente	Meta-análisis +
<i>ZDHHC8</i>	Zinc finger/DHHC domain protein 8	22q11.21	Si	Si	Si	Estudios 2+&1-

El primer estudio en reportar al *DRD3* como factor de riesgo, se realizó en casos y controles y se analizó el polimorfismo Ball (Ser9Gly) encontrando una mayor frecuencia de homocigotos entre los pacientes esquizofrénicos en comparación con los

sujetos sanos (OR: 2.6; IC 95% 1.60-4.26)<sup>50</sup>. Dos meta-análisis han confirmado el hallazgo con el mismo polimorfismo, en uno de ellos lo corroboraron estudiando tríos<sup>44</sup> y el otro se realizó en una muestra de sujetos caucásicos y de africanos<sup>51</sup>. Por otro lado, también existen estudios negativos; recientemente se publicó un estudio en población china en el cual no se encontró asociación al evaluar 329 pacientes esquizofrénicos y 288 controles, además tampoco encontraron asociación con el meta-análisis que hicieron<sup>52</sup>.

Debido a que esta asociación confiere un riesgo bajo para la esquizofrenia y que el polimorfismo *DRD3* Ser9Gly no se ubica en un dominio del receptor que pudiera estar involucrado con la unión a ligando, se han buscado otros polimorfismos con los que probablemente se encuentre en desequilibrio de ligamiento y sean los que confieren el riesgo para desarrollar esquizofrenia<sup>53-56</sup>.

Estos polimorfismos se han buscado en la región promotora del gen, porque esta región en teoría controla el nivel de producción del receptor, aunque no existen estudios de la funcionalidad de estos otros polimorfismos reportados. Uno de los polimorfismos estudiados es el *DRD3* -205 A/G, el cual ha sido asociado con esta enfermedad en tres estudios diferentes al analizarlo junto con el *DRD3* Ser9Gly. Ishiguro y colaboradores<sup>53</sup> encontraron al haplotipo -710C -203G Gly9 más frecuentemente en los controles, en cambio Staddon y colaboradores<sup>56</sup> estudiaron una comunidad española aislada encontrando más frecuentemente el haplotipo -205G Ser9 entre los esquizofrénicos. Sivagnansundaram y colaboradores<sup>54</sup> encontraron asociación con la esquizofrenia e individuos dobles heterocigotos, es decir heterocigotos para ambos polimorfismos.

Además, existe otro estudio en una muestra de caucásicos estadounidenses (331 casos vs 274 controles y 151 tríos) e hindúes (141 tríos) donde se analizaron 13 SNPs (figura 3). Se encontró asociación en cada una de las muestras, pero con diferentes SNPs, donde si hubo consistencia fue con el haplotipo rs324029-rs762582-rs324030-rs2134655-rs10934254 que se expande del intron 1 a la región 3' del gen<sup>57</sup>.

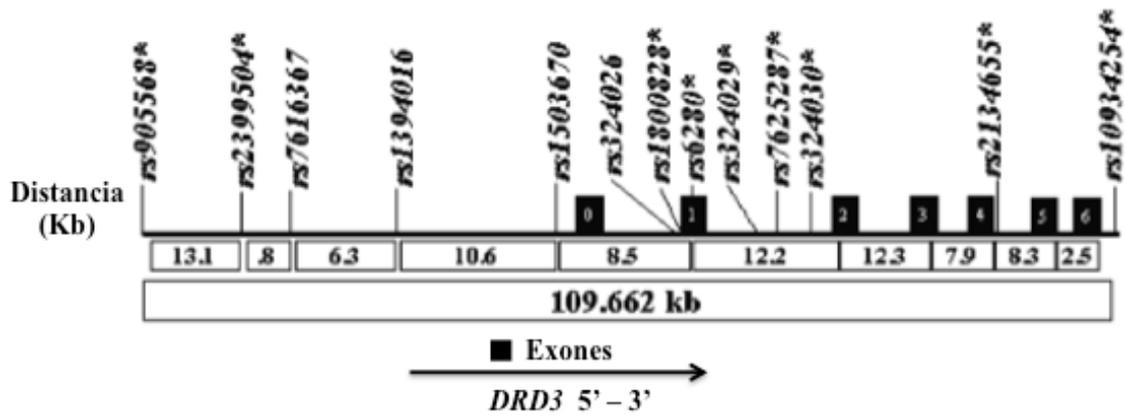


Figura 3. Organización del gen DRD3 y los polimorfismos analizados por Talkowski y colaboradores <sup>57</sup>.

### Receptor DRD3.

Los receptores a dopamina se clasifican en dos familias de acuerdo a su semejanza en la secuencia de aminoácidos, su unión al ligando, por los mecanismos de señales de transducción y por su organización genómica: la tipo D1 y la tipo D2.

El DRD3 pertenece a la familia D2, junto con el DRD2 y DRD4, que se caracterizan por inhibir a la adenilato ciclasa <sup>58</sup> (figura 4). El receptor se localiza principalmente en áreas límbicas del cerebro, asociadas a funciones cognitivas, emocionales y endocrinas. Suzuki localizó el RNA mensajero del *DRD3* en el lado ventral del globo pálido, región cerebral involucrada en el control motor <sup>59</sup>.

Estudios postmortem encontraron una reducción en la expresión del RNA mensajero del DRD3 en cerebros de pacientes con esquizofrenia crónica <sup>60</sup> y una elevación en pacientes sin tratamiento <sup>61</sup> lo que sugiere que los antipsicóticos pueden reducir los niveles del DRD3. Sin embargo, el único estudio que existe in vivo se realizó en pacientes con psicosis aguda comparados con controles y no se encontraron diferencias <sup>62</sup>.

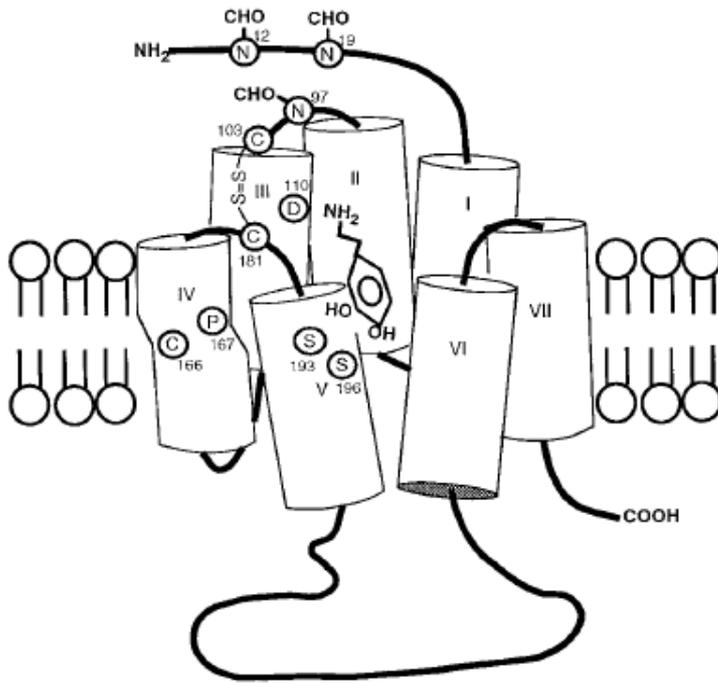


Figura 4. Esquema del DRD3 (Levant<sup>63</sup>). Receptor acoplado a proteína G, con siete dominios transmembrana (I-VII). El aminoácido A110 participa en la unión al grupo amino de las monoaminas. Los aminoácidos N 12, 19 y 97 son sitios probables de glicosilación postraduccional. C=Cisteína, D=ácido aspártico, N=Asparagina, P=prolina, S=Serina.

### Gen *DRD3*.

El gen humano que codifica para DRD3 se ha clonado y localizado en el cromosoma 3q13.3; está formado por 6 exones y abarca 40,000 pares de bases<sup>64,65</sup>. Se han descrito 934 SNPs. Como se muestra en la figura 5, el polimorfismo -205A/G se encuentra en la región promotora del gen y hasta la fecha no existen estudios para demostrar si es un polimorfismo funcional. El polimorfismo Ser9Gly, que se ha reportado en asociación con la esquizofrenia, se encuentra en el nucleótido 25, del exon 1 y da lugar a una sustitución de serina por glicina en el extremo extracelular amino-terminal del receptor. Esta sustitución, aunque no se encuentra en la región de unión a ligando, está involucrada con la funcionalidad del receptor presentando una mayor afinidad a dopamina la forma homocigota Gly/Gly en comparación con el receptor silvestre (Ser/Ser) y con el heterocigoto (Ser/Gly)<sup>66,67</sup>, pero no se han encontrado diferencias en la afinidad *in vivo*<sup>68</sup>. Por otro lado, un estudio “*in vitro*” en células CHO transfectadas encontró que en aquellas células con el receptor Ser9 en estado homocigoto, había una

reducción en la formación de AMPc y en las células con el receptor Gly9 existía una inhibición en la producción de prostaglandinas<sup>69</sup>.

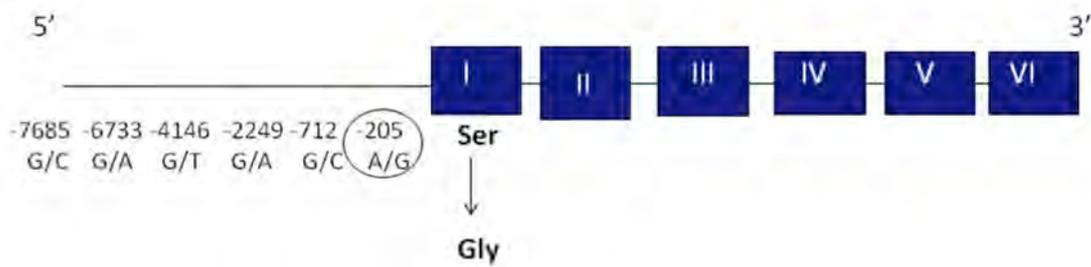


Figura 5. Esquema del Gen *DRD3*. Se ejemplifican algunos polimorfismos en la región promotora del gen, el polimorfismo -205A/G se distingue con un círculo. El polimorfismo Ser9Gly esta en el exón I.

## JUSTIFICACIÓN

La esquizofrenia es una enfermedad mental severa e incapacitante. El inicio en la adolescencia o durante la vida productiva del individuo, implica un gasto económico tanto para la familia como para la sociedad. Ante esta situación existe una extensa investigación para encontrar las bases biológicas que la condicionan.

El mayor factor de riesgo que existe para desarrollar la enfermedad es la presencia de un familiar de primer grado afectado. Los hallazgos en los estudios en familias, de gemelos y de adopción corroboran la existencia de un fuerte componente genético en la etiología de la enfermedad.

La dopamina es un neurotransmisor fuertemente involucrado en la fisiopatología de la enfermedad; de ahí que existan varios estudios enfocados en los genes dopaminérgicos para encontrar las bases genéticas de la enfermedad. Entre los genes dopaminérgicos de interés se encuentra el gen que codifica para el receptor de dopamina tipo 3 (*DRD3*) el cual es un gen candidato para su estudio en la esquizofrenia por la alta afinidad que los medicamentos antipsicóticos tienen por este receptor y por su abundancia en el sistema límbico. Por otro lado, el locus del *DRD3* en 3q13.3 se ha encontrado asociado a sujetos con esquizofrenia en estudios de ligamiento. Sin embargo los resultados en estudios de asociación y de ligamiento han sido contradictorios en diferentes poblaciones.

Existe la necesidad de estudiar los factores genéticos en cada población, porque los riesgos pueden variar de una población a otra. No existe ningún estudio realizado en población mexicana buscando la asociación entre el *DRD3* y la esquizofrenia. Por lo que es importante determinar si en nuestra población este gen es un factor de riesgo para presentar esquizofrenia, dado que la población mexicana tiene un bagaje genético distinto que el de las poblaciones estudiadas a la fecha.

Una de las estrategias para buscar genes de efecto menor, que contribuyen a la enfermedad, es utilizando estudios de asociación donde se elige a un gen candidato en base a la fisiopatología de la enfermedad. De esta forma decidimos estudiar dos polimorfismos del gen que codifica para el *DRD3* y para reducir la heterogeneidad

genética, se estudiaron casos familiares que tuvieran al menos uno o varios hermanos afectados con esquizofrenia.

## **OBJETIVOS**

### **Principal:**

Determinar si el gen del *DRD3* se encuentra asociado con la esquizofrenia en la población mexicana.

### **Secundarios:**

- 1) Conocer la frecuencia de los polimorfismos -205A/G y Ser9Gly del gen *DRD3* en pacientes mexicanos con esquizofrenia.
- 2) Determinar si los polimorfismos -205A/G y Ser9Gly del gen *DRD3* se encuentran asociados con la esquizofrenia en familias mexicanas.
- 3) Identificar si existen haplotipos entre los polimorfismos -205A/G y Ser9Gly del gen *DRD3* que se asocien con la esquizofrenia en familias mexicanas.
- 4) Determinar si los polimorfismos -205 A/G y Ser9Gly del gen *DRD3* tienen correlación con variables clínicas y demográficas (género, edad de inicio, violencia y síntomas positivos y negativos) presentes en pacientes mexicanos esquizofrénicos.

## **HIPÓTESIS**

- 1) El genotipo homocigoto Gly9Gly se encontrará en asociación con la esquizofrenia en familias con sujetos afectados.
- 2) Existirá un haplotipo de riesgo asociado con la esquizofrenia en familias mexicanas con sujetos afectados.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se realizó un estudio de asociación basado en familias, en donde se estudiaron familias con al menos dos hermanos con el diagnóstico de esquizofrenia.

Criterios de inclusión para familias con sujetos afectados con esquizofrenia:

1. Que aceptaran participar en el estudio y firmaron la carta de consentimiento informado.
2. Familias donde al menos dos hermanos tenían el diagnóstico clínico de esquizofrenia por el DSM-IV.
3. Familias mexicanas (probando con padres y abuelos mexicanos).

Criterios de exclusión para los esquizofrénicos:

1. Aquel paciente que después de aplicados los instrumentos, la esquizofrenia no era el diagnóstico principal.
2. Aquel paciente que presentó un trastorno neurológico concomitante.

Además, los pacientes fueron evaluados por Genética Clínica cuando los psiquiatras lo consideraron necesario. Se excluyeron aquellas familias donde se encontró una causa genética del padecimiento.

Se utilizó el programa estadístico QUANTO versión 0.5 para el cálculo de tamaño de muestra<sup>70</sup> basado en una frecuencia alélica del polimorfismo Ser9Gly en mexicanos sanos del 0.40 para el alelo menos frecuente<sup>71</sup> y definiendo a priori una potencia del 80%, un  $\alpha$  de 0.05. El programa estableció que se requerían estudiar 108 parejas de hermanos discordantes o 67 tríos. Nuestro estudio es de asociación basado en familias, así que se determinó que 60 familias era el tamaño adecuado para encontrar diferencias.

El estudio fue aprobado por los comités de investigación y de ética del Instituto Nacional de Psiquiatría. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los sujetos afectados y familiares que decidieron ingresar al estudio (anexo 2). Además para los sujetos afectados se obtuvo el consentimiento informado de al menos uno de los padres y firmado por un testigo, como medida de protección para los sujetos afectados.

## **Procedimiento.**

Todos los evaluadores que realizaron las entrevistas diagnósticas estaban ciegos al parentesco entre los sujetos. A los sujetos afectados se les realizó la Entrevista Diagnóstica para Estudios Genéticos (DIGS, por sus iniciales en inglés; anexo 3), para confirmar el diagnóstico de psicosis. También se les realizó la escala para la evaluación de síntomas negativos (SANS)<sup>72</sup> y la escala para la evaluación de los síntomas positivos (SAPS)<sup>73</sup>, que permitió evaluar cuantitativamente la gravedad de ambos síntomas en los sujetos con esquizofrenia. A un familiar no afectado se le realizó la entrevista para familiares en estudios genéticos (FIGS, por sus siglas en inglés). Para el diagnóstico de esquizofrenia, los evaluadores utilizaron la revisión del expediente clínico y las entrevistas realizadas (DIGS y FIGS). Para determinar si un sujeto esquizofrénico era violento, se realizó la escala de agresión explícita (EAE), que aunque es una escala que mide severidad, en nuestro estudio solo se determinó la presencia o ausencia de la variable y se estudió si existía asociación entre el gen del *DRD3* y la conducta violenta en sujetos esquizofrénicos de familias mexicanas. Otras variables dicotómicas analizadas fueron sexo, presencia de tabaquismo, alcoholismo y abuso de drogas. La edad de inicio del padecimiento también se evaluó como una variable dicotómica: temprana (antes de los 16 años) o tardía (mayor de 16 años).

## ***Escalas e instrumentos de evaluación clínica.***

### *Entrevista Diagnóstica para Estudios Genéticos (DIGS).*

Es una entrevista semiestructurada, desarrollada por el National Institute of Mental Health (NIMH), de Estados Unidos, para estudios genéticos de esquizofrenia y trastornos del estado de ánimo. Proporciona una evaluación detallada de psicosis, trastornos del estado de ánimo y relacionados con sustancias para un diagnóstico diferencial confiable.

### *Entrevista para Familiares en Estudios Genéticos (FIGS).*

Es una entrevista semiestructurada, válida y confiable para recolectar información diagnóstica de los familiares del probando y por lo tanto es adecuada utilizarla en estudios de genética de familias mexicanas con antecedentes familiares de esquizofrenia.

#### Escala para la evaluación de los síntomas positivos (SAPS).

Esta escala evalúa la gravedad de las alucinaciones, delirios, comportamiento bizarro y del trastorno formal del pensamiento. El rango de severidad de esta escala va de 0 a 5, en donde “0” es la ausencia del síntoma y “5” es la presentación más grave.

#### Escala para la evaluación de los síntomas negativos (SANS).

Son evaluados el aplanamiento afectivo, alogia, apatía, anhedonia y alteraciones en la atención. El rango de severidad de esta escala es idéntico a la SAPS.

#### Escala de Agresión Explícita (EAE).

Es un instrumento diseñado para evaluar la severidad de las conductas agresivas. Esta escala se administra con una entrevista clínica y evalúa cuatro áreas principales: 1) agresión verbal, 2) agresión contra objetos, 3) autoagresión y 4) agresión física heterodirigida. Para fines de nuestro análisis, aquellos sujetos con un puntaje en la escala EAE 0-6 se consideraron no violentos y de 7 o mayor como violentos<sup>74</sup>.

#### ***Métodos de Biología Molecular.***

De los sujetos afectados y familiares de primer grado (padres y/o hermanos) que aceptaron participar se obtuvo sangre periférica (10-20 ml), por punción endovenosa empleando tubos Vacutainer Becton-Dickinson con anticoagulante (EDTA) y se almacenó a -70°C hasta el momento de su procesamiento. La extracción de ADN se realizó por el método de Lahiri modificado<sup>75</sup>.

Se estudiaron los polimorfismos A-205G y Ser9Gly del gen *DRD3*, que se muestra en la figura 5.

Para la determinación del polimorfismo A-205G se utilizó la metodología por RFLPs descrita por Ishiguro y colaboradores<sup>53</sup>. Las secuencias de los oligonucleótidos que se utilizaron como secuencias iniciadoras fueron sintetizadas para uso comercial (Oligosys, USA): primer forward: 5' ATC TCC TCC AGG TCA AGA CTC AAT T 3' y primer Reverse: 5' CCT GTG AGG AGA CAG AAA ACA ATA T 3'

Condiciones de la reacción:

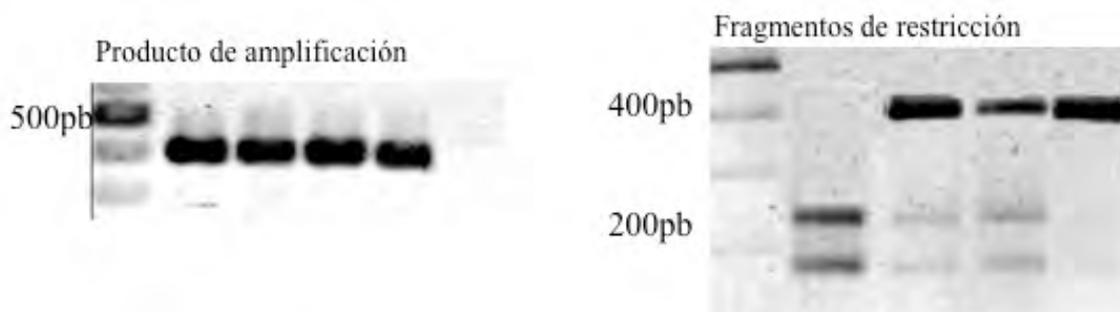
	$\mu\text{l}$	Concentración final
<b>DNA 50ng/<math>\mu\text{l}</math></b>	2	100 ng
<b>Buffer 10x (Perkin Elmer)</b>	1.25	1X
<b>MgCl<sub>2</sub> 25mM</b>	0.75	1.5 mM
<b>Primer F 10<math>\mu\text{M}</math></b>	0.75	0.6 $\mu\text{M}$
<b>Primer R 10<math>\mu\text{M}</math></b>	0.75	0.6 $\mu\text{M}$
<b>DNTPs 2mM</b>	1.25	0.2 mM
<b>AmpliTaq gold (5U/<math>\mu\text{l}</math>)</b>	2.0	0.8 U/ $\mu\text{l}$
<b>Volumen final</b>	<b>12.5</b>	

Las condiciones del PCR fueron: desnaturalización del ADN a 94 °C durante 5 minutos, seguido de 35 ciclos de:

- 1) 94 °C por 20 segundos                      Desnaturalización
- 2) 58 °C por 20 segundos                      Hibridación con los primers
- 3) 72 °C por 30 segundos                      Extensión.

Se finalizó la reacción en el paso de extensión a 72 ° C por 4 minutos

Se comprobó la amplificación por la presencia de una banda de 392 pares de bases, se visualizó en un gel de agarosa al 1.0% utilizando 2  $\mu\text{l}$  de producto de la muestra del PCR, la electroforesis se corrió a 80 voltios por 1 hora, teñido con bromuro de etidio. Posteriormente se digirió una alícuota (10  $\mu\text{l}$ ) del PCR durante toda la noche a 37°C con 2 unidades de la enzima de restricción, ApoI, en un volumen de 15  $\mu\text{l}$ . Se visualizaron los diferentes fragmentos en un gel de agarosa al 2%; los genotipos obtenidos se muestran de la siguiente manera:



<b>A/A</b>	<b>A/G</b>	<b>G/G</b>
223pb	392pb	392pb
169pb	223pb	
	169pb	

Para la determinación del polimorfismo Ser9Gly se utilizó la metodología de RFLPs descrita por Lannfelt y colaboradores<sup>76</sup>. Las secuencias de los oligonucleótidos que se utilizaron como secuencias iniciadoras fueron sintetizadas para uso comercial (Oligosys, USA):

primer forward: 5' GCT CTA TCT CCA ACT CTC ACA 3' y primer reverse: 5' AAG TCT ACT CAC CTC CAG GTA 3'

Condiciones de la reacción:

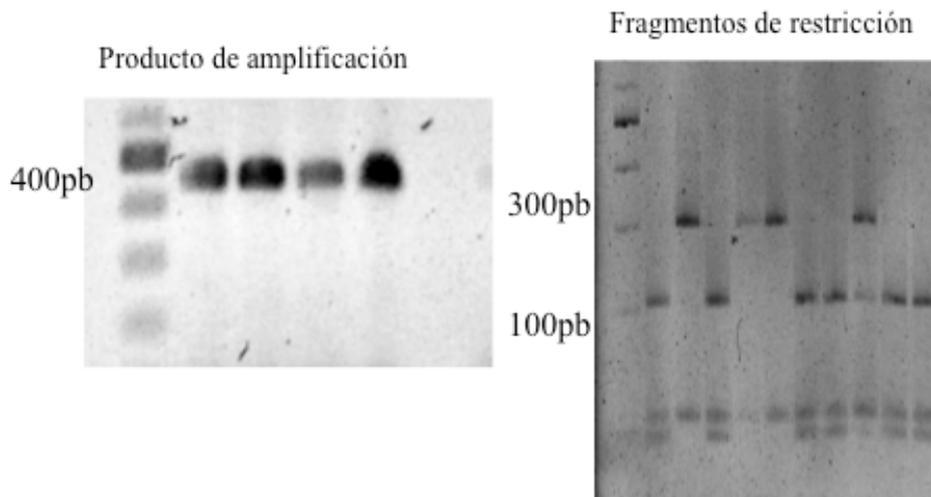
	<b>µl</b>	<b>Concentración final</b>
<b>DNA 50ng/µl</b>	4.0	200 ng
<b>Buffer 10x (Perkin Elmer)</b>	2.5	1X
<b>2% gelatina</b>	0.25	0.01%
<b>MgCl<sub>2</sub> 25mM</b>	2.0	2.0 mM
<b>Primer F 10µM</b>	1.5	0.6 µM
<b>Primer R 10µM</b>	1.5	0.6 µM
<b>DNTPs 2mM</b>	3.0	240 µM
<b>AmpliTaq gold (5U/µl)</b>	0.2	.04 U/µl
<b>Volumen final</b>	<b>25</b>	

Las condiciones del PCR fueron: desnaturalización del ADN a 95 °C durante 5 minutos, seguido de 35 ciclos de:

- 1) 95 °C por 20 segundos                      Desnaturalización
- 2) 56 °C por 20 segundos                      Hibridación con los primers
- 3) 72 °C por 20 segundos                      Extensión.

Se finalizó la reacción en el paso de extensión a 72 °C por 4 minutos.

Se comprobó la amplificación por la presencia de una banda de 462 pares de bases que se visualizó en un gel de agarosa al 3.0% utilizando 5 µl de producto de la muestra del PCR, la electroforesis se corrió a 100 voltios por 2 horas teñido con bromuro de etidio. Posteriormente se digirió una alícuota (10 µl) del PCR durante toda la noche a 37°C con 3 unidades de la enzima de restricción, MscI, en un volumen de 15 µl. Se visualizaron los diferentes fragmentos en un gel de agarosa de alta definición (MetaPhor) al 2% que nos permitió ver con facilidad productos menores a 200 pares de bases. Los genotipos obtenidos se muestran de la siguiente manera:



<b>Ser/Ser (1-1)</b>	<b>Ser/Gly (1-2)</b>	<b>Gly/Gly (2-2)</b>
304pb	304pb	206pb
111pb	206pb	111pb
47pb	111pb	98pb
	98pb	47pb
	47pb	

En caso de discrepancia en la segregación de alelos en las familias, se repitió la determinación del genotipo en todos los miembros de la familia. Además al azar se realizó la determinación del genotipo en el 10% de nuestra población para corroborar nuestros resultados.

Se utilizó el programa estadístico FBAT (Family –Based Association Tests) versión 5.5. para determinar si alguno de dos polimorfismos estaba asociado con la esquizofrenia. También se analizaron como variables dicotómicas: sexo, edad de inicio del padecimiento, violencia, tabaquismo, alcoholismo y abuso de sustancias. La edad de

inicio del padecimiento se dividió en temprana (< a 16 años) o tardía (>16 años). El programa FBAT también permite el uso de variables cuantitativas, por lo tanto se analizó de manera cuantitativa la gravedad de los síntomas positivos y negativos. También se analizaron diferentes haplotipos con la opción HBAT del mismo programa estadístico. En la comparación de pares de hermanos se realizó una  $X^2$  de McNemar por ser una muestra pareada entre hermanos concordantes y hermanos discordantes al probando para el diagnóstico de esquizofrenia. El nivel de significancia estadística establecido fue de  $p \leq 0.05$

## **RESULTADOS**

### **Descripción de las familias.**

Se estudiaron los polimorfismos -205A/G y Ser9Gly del gen que codifica para *DRD3* en 60 familias mexicanas. La mayoría de las familias (89%) tuvieron 2 hermanos esquizofrénicos, nueve (1.5%) con 3 hermanos afectados, una (0.2%) con 5 hermanos afectados y una (0.2%) con 2 hermanos y la madre afectada. El total de individuos estudiados fueron 245 de los cuales 131 eran esquizofrénicos y 114 eran familiares sin el diagnóstico de esquizofrenia.

### **Descripción de los pacientes.**

De los 131 sujetos con esquizofrenia 60 fueron mujeres (46%) y 71 hombres (54%) con una edad promedio de 32.8 años (D.E.=9) al momento del estudio. La mayoría de los pacientes estaban solteros (78.6%) y casi la mitad (47%) se encontraban desempleados. Para determinar la escolaridad se contaron el número de años estudiados a partir de primaria, el promedio de escolaridad fue de 9.2 años (D.E.=3.5); es decir nivel secundaria-preparatoria.

La edad promedio de inicio del padecimiento fue de 20.4 años (D.E.=5.5). Hubo algunos casos de presentación en niños, siendo la edad más temprana de presentación de los síntomas psicóticos a los 11 años y la más tardía a los 41 años. En promedio los pacientes tuvieron 3 hospitalizaciones, algunos pacientes jamás requirieron hospitalización y hubo un paciente con 17 internamientos.

En lo que se refiere a la comorbilidad, el 16.8% (n=22) fumaban; 19.1% (n=25) tuvieron abuso del alcohol y el 9.2% (n=12) utilizaron otras drogas ilícitas. Casi la mitad de los pacientes (48.5%; n=63) presentaron algún episodio violento. El promedio del total de la SAPS fue de 6 (D.E.=5; rango de 0-17) y para el SANS de 12 (D.E.=6; rango de 0-24).

### **Frecuencias alélicas y genotípicas.**

El cálculo de las frecuencias alélicas y genotípicas se basó en los 60 probandos de las familias estudiadas. Para el polimorfismo Ser9Gly ambos alelos se presentaron de manera equitativa en la población estudiada con una frecuencia del alelo 1 (Ser) del 0.51 y el alelo 2 (Gly) del 0.49. El genotipo más frecuente (0.55) fue el heterocigoto y los homocigotos 1/1 y 2/2 tuvieron una frecuencia de .23 y 0.22, respectivamente. Para

el polimorfismo -205 A/G, el alelo A fue el más frecuente con 0.052 y el alelo G tuvo una frecuencia del 0.48. En este polimorfismo el genotipo heterocigoto, también fue el más frecuente (0.48) y los genotipos homocigotos se presentaron con la misma frecuencia del 0.26. Las frecuencias de los genotipos en ambos polimorfismos se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0.05$ ).

### Estudio de asociación basado en familias.

#### *Análisis de los polimorfismos Ser9Gly y -205A/G.*

Se realizó el análisis entre las familias para buscar cual era el alelo que se presentaba más frecuentemente en los sujetos afectados de las 60 familias estudiadas. Únicamente 35 familias fueron informativas para el análisis, es decir cuando menos uno de los progenitores era heterocigotos para el polimorfismo estudiado para poder definir la segregación de los alelos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los dos polimorfismos, como se muestra en la tabla 6 para el polimorfismo Ser9Gly y en la tabla 7 para el polimorfismo -205 A/G.

Tabla 6. Análisis estadístico en búsqueda de asociación con el polimorfismo Ser9Gly en las familias. (35 nucleares; 149 individuos)

Marcador	Alelo	Frecuencia	Familias	S	E(S)	Z	P
DRD3	1	0.534	28	63	56.5	1.363	0.172
DRD3	2	0.466	28	57	63.5	-1.363	0.172

S=prueba estadística, E(S)=valor esperado de S bajo la Ho.

Tabla 7. Análisis estadístico en búsqueda de asociación con el polimorfismo -205A/G en las familias. (35 nucleares; 149 individuos)

Marcador	Alelo	Frecuencia	Familias	S	E(S)	Z	P
-205	A	0.453	29	69	61.5	1.627	0.103
-205	G	0.547	29	57	64.5	-1.627	0.103

S=prueba estadística, E(S)=valor esperado de S bajo la Ho.

### ***Análisis de ambos polimorfismos por subgrupos clínicos.***

Posteriormente para poder determinar si la segregación de alelos estaba asociada a alguna característica en particular, se analizó la muestra por subgrupos para ambos polimorfismos. Los subgrupos analizados fueron género, edad de inicio del padecimiento y presencia de violencia, este análisis estratificado tampoco mostró diferencias significativas. La muestra fue insuficiente, es decir solo había 10 familias informativas o menos para el análisis del tabaquismo y abuso de drogas. Los síntomas positivos y negativos se estudiaron de manera cuantitativa en ambos polimorfismos utilizando la escala de severidad SAPS para síntomas positivos y SANS para síntomas negativos y se encontró que es más frecuente que el paciente con el alelo 2 (Gly) para el polimorfismo Ser9Gly presente trastorno formal del pensamiento (tabla 8).

Tabla 8. Análisis estadístico en búsqueda de asociación con el polimorfismo Ser9Gly para síntomas positivos en las familias

Marcador	Alelo	Frecuencia	Familias	S	E(S)	Z	P
Ser9Gly	1	0.534	27	-47	-33	-2.2	0.027
Ser9Gly	2	0.466	27	-33	-47	2.2	0.027

S=prueba estadística, E(S)=valor esperado de S bajo la Ho.

### ***Análisis de haplotipos.***

También se estudiaron las diferentes combinaciones de alelos entre los dos polimorfismos, lo cual se llamó haplotipo, aunque no sabíamos si se segregaron juntos. Los cuatro haplotipos estudiados fueron : H1 (A-Ser), H2( G-Gly), H3 (G-Ser) y H4 (A-Gly), encontrándose asociación con el haplotipo 1 (p=0.28), como se muestra en la tabla 9.

Tabla 9. Análisis estadístico por haplotipos en las familias.

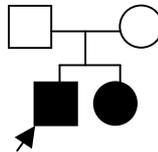
Alelo	Frecuencia	Familias	S	E(S)	Z	P
H1	0.393	20.6	56.1	48.1	2.193	0.028
H2	0.359	17.5	33.1	38.6	-1.54	0.122
H3	0.145	11.2	17.8	20.7	-1.28	0.199
H4	0.103	6.7	****			

S=prueba estadística, E(S)=valor esperado de S para la Ho.

### Análisis de hermanos concordantes y discordantes.

Basándonos en el principio de identidad por descendencia donde se espera que los hermanos compartan en teoría un alelo en el 50% de todo su genoma y los dos o ningún alelo en el 25%, se analizaron pares de hermanos concordantes (esquizofrenia-esquizofrenia) y discordantes (esquizofrenia-sano) para la esquizofrenia para el polimorfismo Ser9Gly. Existieron 61 parejas de hermanos concordantes y 49 discordantes para el diagnóstico de esquizofrenia. La tablas 10 y 11 muestran los resultados de los análisis estadísticos, respectivamente. Se realizó una  $\chi^2$  McNemar por ser muestras pareadas.

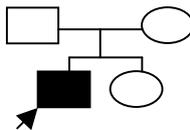
Tabla 10. Análisis de hermanos concordantes



	HERMANO AFECTADO		
		1-1	No 1-1
PRO-	1-1	6	7
BANDO	No 1-1	12	36

$\chi^2$  McNemar= 1.31 p>0.05

Tabla 11. Análisis de hermanos discordantes



	HERMANO NO AFECTADO		
		1-1	No 1-1
PRO-	1-1	4	4
BANDO	No 1-1	14	27

$\chi^2$  McNemar= 4.5 p<0.05

De la misma manera se analizaron los hermanos concordantes y discordantes para el polimorfismo -205A/G no encontrando diferencias estadísticamente significativas.

### **Evaluación por Genética Clínica.**

Se evaluó a una paciente femenina de 31 años de edad que inició con alucinaciones auditivas y visuales 5 meses antes de su ingreso al Instituto, donde se indicó tratamiento con haloperidol 1.25 mg dos veces al día, dosis que con la que se presentó remisión del cuadro psicótico. Reaparecieron los síntomas psicóticos porque no hubo adherencia al tratamiento, además por la presencia de síntomas extrapiramidales se cambió el medicamento por tioridazida 25mg/día y estuvo libre de síntomas por 2 años, requiriendo posteriormente un reajuste de dosis. En la consulta de Genética se encontró a exploración física: talla baja (1.39 metros), braquicefalia, asimetría facial, fisuras palpebrales hacia arriba, nariz en pico de loro, labios delgados, cuello corto, extremidades superiores con limitación a la supinación y pliegues palmares aberrantes. En la radiografía de manos se encontró una sinostosis del hueso grande y el ganchoso. Se le realizó un cariotipo con una resolución de 550 bandas. Se observó una deleción en 8q21: 46,XX,del(8)(q21.11q21.2). Con estos hallazgos la paciente no se incluyó en el estudio de familias., pero si enfatiza la importancia de realizar estudio citogenético en pacientes candidato.

### **DISCUSIÓN**

Esta es el primer estudio en mexicanos donde se buscó la asociación entre dos polimorfismos del gen *DRD3* y la esquizofrenia en 60 familias mexicanas con al menos dos hermanos afectados de esquizofrenia.

Sin duda por estudios de familias, de gemelos y de adopción sabemos que existe una importante contribución genética para el desarrollo de la esquizofrenia<sup>77</sup>. Sin embargo, el modo de herencia, como el de otras enfermedades comunes, es complejo y no mendeliano. En la mayoría de los casos la predisposición para presentar la enfermedad refleja probablemente la combinación de varios genes de efecto menor con diferentes contribuciones del medio ambiente y de factores epigenéticos<sup>1,78</sup>.

Aunque la base biológica de la esquizofrenia aun no se conoce, existe fuerte evidencia que sustenta la contribución de la dopamina. La hipótesis es que la interacción de

múltiples factores de riesgo ambientales y genéticos finalizan en una vía común con el aumento de la función dopaminérgica presináptica en el estriato<sup>79</sup>.

Aunque existe controversia en los niveles del DRD3 in vitro e in vivo<sup>61,62</sup>, el gen del *DRD3* continua siendo uno de los genes dopaminérgicos de interés, por su alta afinidad con los antipsicóticos y su localización en el sistema límbico.

Decidimos estudiar los polimorfismos -205A/G y Ser9Gly en el gen que codifica para DRD3. El polimorfismo -205A/G da lugar a una sustitución de Lys9Glu, sin embargo la función de este péptido no se conoce<sup>54</sup>. Se ha encontrado que la variante Gly-9, del polimorfismo Ser9Gly, confiere mayor afinidad a la dopamina in vitro<sup>67</sup> pero no in vivo<sup>68</sup>.

En nuestra población de estudio, las frecuencias alélicas encontradas para el polimorfismo Ser9Gly fueron concordantes con los resultados descritos previamente en población mexicana<sup>71</sup>; pero difieren de las encontradas en otras etnias. La frecuencia alélica de la variante 1 (serina), que en nuestra población fue del 0.51, en afroamericanos se reporta menor (0.35)<sup>80</sup>, mientras que en poblaciones de caucásicos es mayor, oscilando entre 0.64 a 0.71<sup>50,81, 82,83</sup>. La frecuencia en los japoneses<sup>84</sup> y chinos<sup>85</sup> es muy similar a la observada en los caucásicos: 0.68 y 0.71, respectivamente. También se encontraron diferencias en las frecuencias alélicas observadas en nuestro estudio para el polimorfismo -205A/G (A=0.52, G=0.48) con las frecuencias en otras poblaciones. En japoneses<sup>53</sup> y en una población aislada de España<sup>56</sup> se encontraron frecuencias similares de 0.70 para el alelo A, en cambio en un estudio de caucásicos<sup>55</sup> se encuentra invertida la proporción, y el alelo A tiene una frecuencia de 0.34. Nuestras frecuencias para los haplotipos también difieren de otras poblaciones, ya que mientras nosotros encontramos al haplotipo 1 (A/Ser) y al 2 (G/Gly) como los más frecuentes (0.39 y 0.35, respectivamente) en otras poblaciones el haplotipo 1 se presentó en mayor proporción (0.66)<sup>53,56</sup>.

Las variaciones en las frecuencias alélicas, genotípicas y de los haplotipos entre diferentes poblaciones nos confirman la heterogeneidad genética que existe entre las poblaciones y recalca la importancia de estudiar cada una de ellas. En especial nuestra población mexicana es mestiza con un alto grado de heterogeneidad que obliga a generar datos propios.

El estudio se realizó en familias para reducir la heterogeneidad que existe en la enfermedad, pero no se encontró asociación en el análisis de las 60 familias para ninguno de los polimorfismos. Esto podría ser porque ninguno de los dos polimorfismos confiere riesgo en nuestra población o que el efecto del gen en la enfermedad es tan pequeño que no se alcanzó el poder suficiente para encontrar esta significancia. Para realizar este tipo de análisis, es necesario que cuando menos un progenitor sea heterocigoto y solo 35 familias fueron informativas.

La esquizofrenia es una enfermedad heterogénea y en los estudios de genética molecular se ha utilizado como criterio diagnóstico el fenotipo de esquizofrenia para buscar los genes relacionados con la enfermedad. Pero en realidad este es un concepto muy amplio y podría explicar en parte los resultados inconsistentes tanto en los estudios de ligamiento como en los de asociación. Para tratar de reducir este problema se han analizado subtipos de la enfermedad o se ha estratificado por covariables par tener éxito en el estudio de enfermedades complejas<sup>86</sup>.

Con estas evidencias es que decidimos analizar nuestra muestra por subgrupos para determinar si existía asociación entre uno o ambos polimorfismos del *DRD3* y la esquizofrenia en población mexicana.

El análisis estratificado por género, edad de inicio del padecimiento y presencia de violencia, no mostró diferencias significativas. La muestra fue insuficiente para el análisis estadístico de los subgrupos de tabaquismo, alcoholismo y abuso de drogas. Es posible que en estos aspectos clínicos haya habido un sub-diagnóstico debido a que solo se investigaron estos datos por interrogatorio y no se utilizó una escala que diera mayor confiabilidad en las respuestas. Se estudió de manera cuantitativa la asociación de los síntomas positivos y negativos con ambos polimorfismos y se encontró una tendencia, donde es más frecuente que el paciente con el alelo 2 (Gly) para el polimorfismo Ser9Gly presente trastorno formal del pensamiento. Estudios previos en gemelos y en pares de hermanos sugieren que la desorganización (trastorno formal del pensamiento y/o comportamiento inapropiado) es de las características con mayor agregación familiar y por lo tanto útil para el análisis en los estudios genéticos<sup>87-89</sup>. Además la hipótesis dopaminérgica postula que los síntomas positivos se asocian con un exceso de dopamina subcorticalmente, lo cual apoya nuestro resultado. Serretini y colaboradores<sup>90</sup> encontraron como factor de susceptibilidad para esquizofrenia un polimorfismo del gen que codifica para el receptor de dopamina tipo 2 (*DRD2*), pero este mismo grupo de

investigadores<sup>91</sup> no encontró esta asociación en el polimorfismo Ser9Gly del gen que codifica al *DRD3*; por lo que son necesarios futuros estudios evaluando la sintomatología psicótica y el *DRD3*.

Se ha encontrado al alelo 2 del polimorfismo Ser9Gly, asociado al inicio temprano de la enfermedad<sup>92</sup> y particularmente en varones<sup>65</sup>. El genotipo 2-2 se ha encontrado más frecuentemente en pacientes con pobre respuesta a neurolépticos<sup>92</sup>. Szekeres y colaboradores<sup>93</sup> no encontraron ninguna diferencia al analizar a los pacientes en base a síntomas positivos y negativos, pero si encontraron al genotipo Ser/Ser asociado con una pobre respuesta al tratamiento. El alelo 1 (Ser) se encontró más frecuentemente en aquellos pacientes esquizofrénicos con historia familiar para la enfermedad que en el grupo control<sup>94</sup>. El mayor reto en el estudio de los padecimientos psiquiátricos es identificar aquellas características clínicas relevantes para el estudio de la caracterización de genes<sup>95</sup>.

Estudios en familia sugieren que las diferencias en las características clínicas entre los diferentes pacientes, pueden estar influenciadas por factores familiares<sup>96,97</sup>. Estas diferencias podrían deberse a genes modificadores, es decir genes que cambian las características clínicas de la enfermedad sin alterar la susceptibilidad para padecerla<sup>98</sup>. Por ello es probable que los hallazgos con los diferentes subtipos o características de la esquizofrenia estén causados por un gen modificador más que por un gen de susceptibilidad, pero se necesitan más estudios para afirmar esto. Fanous y colaboradores<sup>98</sup> decidieron realizar un escaneo del genoma humano para buscar posibles genes modificadores en la esquizofrenia, y analizaron algunas características clínicas únicamente en los individuos afectados de 270 familias. Desafortunadamente no encontraron ligamiento significativo con alguna región cromosómica, el más cercano fue de 2.26 en 6q23, con lo que concluyen que la idea de genes modificadores es una simple especulación hasta que no se tengan resultados positivos.

Los resultados contradictorios con el polimorfismo Ser9Gly en los diferentes estudios reportados, puede significar que en realidad este polimorfismo se encuentra en desequilibrio de ligamiento con otros marcadores que son los responsables de la susceptibilidad a la esquizofrenia. Por ello analizamos los haplotipos entre ambos polimorfismos en nuestra población y encontramos una asociación del haplotipo 1 (A/Ser) con la esquizofrenia en las familias estudiadas ( $p=0.028$ ). Staddon y cols

también encontraron asociación con ambos polimorfismos aunque con diferente haplotipo (haplotipo 3 = G/Ser) pero la significancia fue más fuerte cuando incluyó un tercer polimorfismo en la posición -710. Ishiguro y cols también estudiaron tres polimorfismos encontrando al haplotipo -710C -203G Gly9 más frecuentemente en los controles. Estos resultados sugieren que probablemente existen sinergia entre los polimorfismos o que se encuentra ligado con otro factor genético desconocido que contribuye a la enfermedad. Recientemente Talkowski y colaboradores<sup>57</sup> buscaron asociación entre la esquizofrenia y 18 genes candidatos en 150 tríos y 328 casos/501 controles y encontraron significancia con 4 genes, con los cuales propusieron un modelo para la esquizofrenia: donde el riesgo que confieren las variantes del gen del transportador de dopamina (SLC6A3) pueden estar modificadas por variantes en los genes DRD3, catecol-O-metiltransferasa (COMT) y/o transportador de membrana de la mono-amino-oxidasa (SLC18A2).

Decidimos analizar las parejas de hermanos afectados con esquizofrenia, basándonos en varios principios:

- a) Los estudios de gemelos son útiles para estimar y comparar la concordancia de una enfermedad entre los gemelos monocigóticos y los gemelos dicigóticos, lo que nos da una idea de la importancia de los factores genéticos en la enfermedad estudiada
- b) Los conceptos de identidad por estado y por descendencia son necesarios para cuantificar el grado en que los parientes con la misma patología comparten alelos en un locus determinado., donde de forma teórica se esperaría que los hermanos compartan el 50% de los alelos, con ello nosotros teóricamente esperábamos que los hermanos concordantes compartieran en mayor proporción el mismo alelo y los discordantes lo compartieran en menor proporción.

Comparamos al probando con su hermano(a) concordante para la esquizofrenia y con su hermano(a) discordante sano. Esta metodología evita el sesgo de estratificación poblacional. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los hermanos discordantes con el polimorfismo Ser9Gly, siendo más frecuente el genotipo 1/1(Ser/ser) en el hermano no afectado, resultado que apoya, aunque con otro tipo de análisis, el hallazgo de un grupo español<sup>99</sup> que estudió los haplotipos derivados de diferentes polimorfismos del DRD3 en los intrones, el de Ser9Gly y en la región 3' del

gen, en tres poblaciones diferentes con un total de 794 casos y 1,078 controles en donde encontró un haplotipo protector. En este haplotipo protector está presente el alelo 1(Ser) del polimorfismo Ser9Gly.

De la misma manera, comparando pares de hermanos concordantes y discordantes para la esquizofrenia, se analizó el otro polimorfismo -205A/G y no se encontró diferencia en las frecuencia de los genotipos entre los pares de hermanos.

El estudio integral de los pacientes psiquiátricos es importante para descartar si presentan la enfermedad como parte de un síndrome genético o de manera aislada. Se excluyó a la familia de la paciente con la delección en 8q21 del análisis, porque hubiera sido un sesgo si claramente se conocía la etiología. Pero es importante recalcar la importancia de realizar un estudio citogenético o microarreglos en todo paciente psiquiátrico que presente retraso mental y/o dismorfias mayores o menores. Al realizar un abordaje completo de los pacientes, se puede brindar un asesoramiento genético adecuado a la familia. Además, cuando se encuentra una aberración cromosómica en un paciente, esta puede ser otra estrategia para proponer genes candidatos en enfermedades complejas.

## **CONCLUSIONES.**

Este es el primer estudio de asociación basado en familias mexicanas con al menos dos hermanos afectados con esquizofrenia analizando al gen *DRD3*. Posiblemente por falta de poder, no se encontró una mayor frecuencia de alguno de los alelos estudiados en los familiares afectados que en los no afectados. En cambio, se identificó al haplotipo 1 (A-Ser), como de riesgo, por ello creemos que nuestro estudio apoya la posibilidad de que el gen *DRD3* o un locus en desequilibrio de ligamiento con el gen de este receptor pudieran estar involucrado con la transmisión de la esquizofrenia.

Muy probablemente con nuevos estudios en genética se pueda aumentar nuestro entendimiento de los mecanismos que causan la enfermedad, así como mejorar la clasificación de la enfermedad y por supuesto mejorar el tratamiento de los afectados y con ello su calidad de vida y la de sus familias.

## BIBLIOGRAFIA

1. Mueser, K.T., and McGurk, S.R. (2004). Schizophrenia. *Lancet* 363, 2063-2072.
2. Leucht, S., Wahlbeck, K., Hamann, J., and Kissling, W. (2003). New generation antipsychotics versus low-potency conventional antipsychotics: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 361, 1581-1589.
3. Sokoloff, P., Andrieux, M., Besancon, R., Pilon, C., Martres, M.P., Giros, B., and Schwartz, J.C. (1992). Pharmacology of human dopamine D3 receptor expressed in a mammalian cell line: comparison with D2 receptor. *European journal of pharmacology* 225, 331-337.
4. Wright, I.C., Rabe-Hesketh, S., Woodruff, P.W., David, A.S., Murray, R.M., and Bullmore, E.T. (2000). Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *The American journal of psychiatry* 157, 16-25.
5. Lawrie, S.M., and Abukmeil, S.S. (1998). Brain abnormality in schizophrenia. A systematic and quantitative review of volumetric magnetic resonance imaging studies. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science* 172, 110-120.
6. Byne, W., Buchsbaum, M.S., Mattiace, L.A., Hazlett, E.A., Kemether, E., Elhakem, S.L., Purohit, D.P., Haroutunian, V., and Jones, L. (2002). Postmortem assessment of thalamic nuclear volumes in subjects with schizophrenia. *The American journal of psychiatry* 159, 59-65.
7. Andreasen, N.C. (1997). Linking mind and brain in the study of mental illnesses: a project for a scientific psychopathology. *Science* 275, 1586-1593.
8. Buchsbaum, M.S., Someya, T., Teng, C.Y., Abel, L., Chin, S., Najafi, A., Haier, R.J., Wu, J., and Bunney, W.E., Jr. (1996). PET and MRI of the thalamus in never-medicated patients with schizophrenia. *The American journal of psychiatry* 153, 191-199.
9. Miyamoto, S., LaMantia, A.S., Duncan, G.E., Sullivan, P., Gilmore, J.H., and Lieberman, J.A. (2003). Recent advances in the neurobiology of schizophrenia. *Molecular interventions* 3, 27-39.
10. Hultman, C.M., Sparen, P., Takei, N., Murray, R.M., and Cnattingius, S. (1999). Prenatal and perinatal risk factors for schizophrenia, affective psychosis, and reactive psychosis of early onset: case-control study. *BMJ* 318, 421-426.
11. Jones, P.B., Rantakallio, P., Hartikainen, A.L., Isohanni, M., and Sipila, P. (1998). Schizophrenia as a long-term outcome of pregnancy, delivery, and perinatal complications: a 28-year follow-up of the 1966 north Finland general population birth cohort. *The American journal of psychiatry* 155, 355-364.
12. David, A.S., Malmberg, A., Brandt, L., Allebeck, P., and Lewis, G. (1997). IQ and risk for schizophrenia: a population-based cohort study. *Psychological medicine* 27, 1311-1323.
13. Hutchinson, G., Takei, N., Fahy, T.A., Bhugra, D., Gilvarry, C., Moran, P., Mallett, R., Sham, P., Leff, J., and Murray, R.M. (1996). Morbid risk of schizophrenia in first-degree relatives of white and African-Caribbean patients with psychosis. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science* 169, 776-780.
14. Andreasson, S., Allebeck, P., Engstrom, A., and Rydberg, U. (1987). Cannabis and schizophrenia. A longitudinal study of Swedish conscripts. *Lancet* 2, 1483-1486.
15. Sullivan, P.F. (2005). The genetics of schizophrenia. *PLoS medicine* 2, e212.
16. Byrne, M., Agerbo, E., Ewald, H., Eaton, W.W., and Mortensen, P.B. (2003). Parental age and risk of schizophrenia: a case-control study. *Archives of general psychiatry* 60, 673-678.
17. Sipos, A., Rasmussen, F., Harrison, G., Tynelius, P., Lewis, G., Leon, D.A., and Gunnell, D. (2004). Paternal age and schizophrenia: a population based cohort study. *BMJ* 329, 1070.
18. Kendler, K.S. (1983). Overview: a current perspective on twin studies of schizophrenia. *The American journal of psychiatry* 140, 1413-1425.
19. Onstad, S., Skre, I., Torgersen, S., and Kringlen, E. (1991). Twin concordance for DSM-III-R schizophrenia. *Acta psychiatrica Scandinavica* 83, 395-401.
20. Bray, N.J., and Owen, M.J. (2001). Searching for schizophrenia genes. *Trends in molecular medicine* 7, 169-174.
21. Kendler, K.S., Gruenberg, A.M., and Kinney, D.K. (1994). Independent diagnoses of adoptees and relatives as defined by DSM-III in the provincial and national samples of the Danish Adoption Study of Schizophrenia. *Archives of general psychiatry* 51, 456-468.
22. Tsuang, M. (2000). Schizophrenia: genes and environment. *Biological psychiatry* 47, 210-220.
23. Usiskin, S.I., Nicolson, R., Krasnewich, D.M., Yan, W., Lenane, M., Wudarsky, M., Hamburger, S.D., and Rapoport, J.L. (1999). Velocardiofacial syndrome in childhood-onset schizophrenia. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* 38, 1536-1543.
24. Botto, L.D., May, K., Fernhoff, P.M., Correa, A., Coleman, K., Rasmussen, S.A., Merritt, R.K., O'Leary, L.A., Wong, L.Y., Elixson, E.M., et al. (2003). A population-based study of the

- 22q11.2 deletion: phenotype, incidence, and contribution to major birth defects in the population. *Pediatrics* 112, 101-107.
25. Shprintzen, R.J. (2008). Velo-cardio-facial syndrome: 30 Years of study. *Developmental disabilities research reviews* 14, 3-10.
  26. Prasad, S.E., Howley, S., and Murphy, K.C. (2008). Candidate genes and the behavioral phenotype in 22q11.2 deletion syndrome. *Developmental disabilities research reviews* 14, 26-34.
  27. Blackwood, D.H., Fordyce, A., Walker, M.T., St Clair, D.M., Porteous, D.J., and Muir, W.J. (2001). Schizophrenia and affective disorders-- cosegregation with a translocation at chromosome 1q42 that directly disrupts brain-expressed genes: clinical and P300 findings in a family. *American journal of human genetics* 69, 428-433.
  28. Cordeiro, Q., Zung, S., Campanha, E.V., and Vallada, H. (2007). Chromosomal translocation t(1;4) (p21;p14) indicating possible susceptibility loci for schizophreniform disorder and mental retardation. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences* 19, 339.
  29. Idol, J.R., Addington, A.M., Long, R.T., Rapoport, J.L., and Green, E.D. (2008). Sequencing and analyzing the t(1;7) reciprocal translocation breakpoints associated with a case of childhood-onset schizophrenia/autistic disorder. *Journal of autism and developmental disorders* 38, 668-677.
  30. Mensah, A.K., De Luca, V., Stachowiak, B., Noor, A., Windpassinger, C., Lam, S.T., Kennedy, J.L., Scherer, S.W., Lo, I.F., and Vincent, J.B. (2007). Molecular analysis of a chromosome 4 inversion segregating in a large schizophrenia kindred from Hong Kong. *Schizophrenia research* 95, 228-235.
  31. Failla, P., Romano, C., Alberti, A., Vasta, A., Buono, S., Castiglia, L., Luciano, D., Di Benedetto, D., Fichera, M., and Galesi, O. (2007). Schizophrenia in a patient with subtelomeric duplication of chromosome 22q. *Clinical genetics* 71, 599-601.
  32. Babovic-Vuksanovic, D., Jenkins, S.C., Ensenauer, R., Newman, D.C., and Jalal, S.M. (2004). Subtelomeric deletion of 18p in an adult with paranoid schizophrenia and mental retardation. *American journal of medical genetics. Part A* 124A, 318-322.
  33. Caluseriu, O., Mirza, G., Ragoussis, J., Chow, E.W., MacCrimmon, D., and Bassett, A.S. (2006). Schizophrenia in an adult with 6p25 deletion syndrome. *American journal of medical genetics. Part A* 140, 1208-1213.
  34. Brzustowicz, L.M., Hodgkinson, K.A., Chow, E.W., Honer, W.G., and Bassett, A.S. (2000). Location of a major susceptibility locus for familial schizophrenia on chromosome 1q21-q22. *Science* 288, 678-682.
  35. Gurling, H.M., Kalsi, G., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Sherrington, R., Mankoo, B.S., Read, T., Murphy, P., Blaveri, E., McQuillin, A., et al. (2001). Genomewide genetic linkage analysis confirms the presence of susceptibility loci for schizophrenia, on chromosomes 1q32.2, 5q33.2, and 8p21-22 and provides support for linkage to schizophrenia, on chromosomes 11q23.3-24 and 20q12.1-11.23. *American journal of human genetics* 68, 661-673.
  36. Faraone, S.V., Hwu, H.G., Liu, C.M., Chen, W.J., Tsuang, M.M., Liu, S.K., Shieh, M.H., Hwang, T.J., Ou-Yang, W.C., Chen, C.Y., et al. (2006). Genome scan of Han Chinese schizophrenia families from Taiwan: confirmation of linkage to 10q22.3. *The American journal of psychiatry* 163, 1760-1766.
  37. Escamilla, M.A., Ontiveros, A., Nicolini, H., Raventos, H., Mendoza, R., Medina, R., Munoz, R., Levinson, D., Peralta, J.M., Dassori, A., et al. (2007). A genome-wide scan for schizophrenia and psychosis susceptibility loci in families of Mexican and Central American ancestry. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 144B, 193-199.
  38. Escamilla, M., Hare, E., Dassori, A.M., Peralta, J.M., Ontiveros, A., Nicolini, H., Raventos, H., Medina, R., Mendoza, R., Jerez, A., et al. (2009). A schizophrenia gene locus on chromosome 17q21 in a new set of families of Mexican and central american ancestry: evidence from the NIMH Genetics of schizophrenia in latino populations study. *The American journal of psychiatry* 166, 442-449.
  39. Doherty, J.L., O'Donovan, M.C., and Owen, M.J. (2012). Recent genomic advances in schizophrenia. *Clinical genetics* 81, 103-109.
  40. Iossifov, I., Zheng, T., Baron, M., Gilliam, T.C., and Rzhetsky, A. (2008). Genetic-linkage mapping of complex hereditary disorders to a whole-genome molecular-interaction network. *Genome research* 18, 1150-1162.
  41. Crow, T.J. (2007). How and why genetic linkage has not solved the problem of psychosis: review and hypothesis. *The American journal of psychiatry* 164, 13-21.

42. Suarez, B.K., Duan, J., Sanders, A.R., Hinrichs, A.L., Jin, C.H., Hou, C., Buccola, N.G., Hale, N., Weilbaecher, A.N., Nertney, D.A., et al. (2006). Genomewide linkage scan of 409 European-ancestry and African American families with schizophrenia: suggestive evidence of linkage at 8p23.3-p21.2 and 11p13.1-q14.1 in the combined sample. *American journal of human genetics* 78, 315-333.
43. DeLisi, L.E., Shaw, S.H., Crow, T.J., Shields, G., Smith, A.B., Larach, V.W., Wellman, N., Loftus, J., Nanthakumar, B., Razi, K., et al. (2002). A genome-wide scan for linkage to chromosomal regions in 382 sibling pairs with schizophrenia or schizoaffective disorder. *The American journal of psychiatry* 159, 803-812.
44. Williams, J., Spurlock, G., Holmans, P., Mant, R., Murphy, K., Jones, L., Cardno, A., Asherson, P., Blackwood, D., Muir, W., et al. (1998). A meta-analysis and transmission disequilibrium study of association between the dopamine D3 receptor gene and schizophrenia. *Molecular psychiatry* 3, 141-149.
45. Mills, R.E., Walter, K., Stewart, C., Handsaker, R.E., Chen, K., Alkan, C., Abyzov, A., Yoon, S.C., Ye, K., Cheetham, R.K., et al. (2011). Mapping copy number variation by population-scale genome sequencing. *Nature* 470, 59-65.
46. (2008). Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia. *Nature* 455, 237-241.
47. Walsh, T., McClellan, J.M., McCarthy, S.E., Addington, A.M., Pierce, S.B., Cooper, G.M., Nord, A.S., Kusenda, M., Malhotra, D., Bhandari, A., et al. (2008). Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia. *Science* 320, 539-543.
48. Kirov, G., Grozeva, D., Norton, N., Ivanov, D., Mantripragada, K.K., Holmans, P., Craddock, N., Owen, M.J., and O'Donovan, M.C. (2009). Support for the involvement of large copy number variants in the pathogenesis of schizophrenia. *Human molecular genetics* 18, 1497-1503.
49. Prasad, S., Semwal, P., Deshpande, S., Bhatia, T., Nimgaonkar, V.L., and Thelma, B.K. (2002). Molecular genetics of schizophrenia: past, present and future. *Journal of biosciences* 27, 35-52.
50. Crocq, M.A., Mant, R., Asherson, P., Williams, J., Hode, Y., Mayerova, A., Collier, D., Lannfelt, L., Sokoloff, P., Schwartz, J.C., et al. (1992). Association between schizophrenia and homozygosity at the dopamine D3 receptor gene. *Journal of medical genetics* 29, 858-860.
51. Dubertret, C., Gorwood, P., Ades, J., Feingold, J., Schwartz, J.C., and Sokoloff, P. (1998). Meta-analysis of DRD3 gene and schizophrenia: ethnic heterogeneity and significant association in Caucasians. *American journal of medical genetics* 81, 318-322.
52. Ma, G., He, Z., Fang, W., Tang, W., Huang, K., Li, Z., He, G., Xu, Y., Feng, G., Zheng, T., et al. (2008). The Ser9Gly polymorphism of the dopamine D3 receptor gene and risk of schizophrenia: an association study and a large meta-analysis. *Schizophrenia research* 101, 26-35.
53. Ishiguro, H., Okuyama, Y., Toru, M., and Arinami, T. (2000). Mutation and association analysis of the 5' region of the dopamine D3 receptor gene in schizophrenia patients: identification of the Ala38Thr polymorphism and suggested association between DRD3 haplotypes and schizophrenia. *Molecular psychiatry* 5, 433-438.
54. Sivagnanasundaram, S., Morris, A.G., Gaitonde, E.J., McKenna, P.J., Mollon, J.D., and Hunt, D.M. (2000). A cluster of single nucleotide polymorphisms in the 5'-leader of the human dopamine D3 receptor gene (DRD3) and its relationship to schizophrenia. *Neuroscience letters* 279, 13-16.
55. Anney, R.J., Rees, M.I., Bryan, E., Spurlock, G., Williams, N., Norton, N., Williams, H., Cardno, A., Zammit, S., Jones, S., et al. (2002). Characterisation, mutation detection, and association analysis of alternative promoters and 5' UTRs of the human dopamine D3 receptor gene in schizophrenia. *Molecular psychiatry* 7, 493-502.
56. Staddon, S., Arranz, M.J., Mancama, D., Perez-Nievas, F., Arrizabalaga, I., Anney, R., Buckland, P., Elkin, A., Osborne, S., Munro, J., et al. (2005). Association between dopamine D3 receptor gene polymorphisms and schizophrenia in an isolate population. *Schizophrenia research* 73, 49-54.
57. Talkowski, M.E., Mansour, H., Chowdari, K.V., Wood, J., Butler, A., Varma, P.G., Prasad, S., Semwal, P., Bhatia, T., Deshpande, S., et al. (2006). Novel, replicated associations between dopamine D3 receptor gene polymorphisms and schizophrenia in two independent samples. *Biological psychiatry* 60, 570-577.
58. Missale, C., Nash, S.R., Robinson, S.W., Jaber, M., and Caron, M.G. (1998). Dopamine receptors: from structure to function. *Physiological reviews* 78, 189-225.
59. Suzuki, M., Hurd, Y.L., Sokoloff, P., Schwartz, J.C., and Sedvall, G. (1998). D3 dopamine receptor mRNA is widely expressed in the human brain. *Brain research* 779, 58-74.
60. Schmauss, C., Haroutunian, V., Davis, K.L., and Davidson, M. (1993). Selective loss of dopamine D3-type receptor mRNA expression in parietal and motor cortices of patients with chronic

- schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90, 8942-8946.
61. Gurevich, E.V., Bordelon, Y., Shapiro, R.M., Arnold, S.E., Gur, R.E., and Joyce, J.N. (1997). Mesolimbic dopamine D3 receptors and use of antipsychotics in patients with schizophrenia. A postmortem study. *Archives of general psychiatry* 54, 225-232.
  62. Graff-Guerrero, A., Mizrahi, R., Agid, O., Marcon, H., Barsoum, P., Rusjan, P., Wilson, A.A., Zipursky, R., and Kapur, S. (2009). The dopamine D2 receptors in high-affinity state and D3 receptors in schizophrenia: a clinical [11C](+)-PHNO PET study. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 34, 1078-1086.
  63. Levant, B. (1997). The D3 dopamine receptor: neurobiology and potential clinical relevance. *Pharmacological reviews* 49, 231-252.
  64. Sokoloff, P., Giros, B., Martres, M.P., Bouthenet, M.L., and Schwartz, J.C. (1990). Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D3) as a target for neuroleptics. *Nature* 347, 146-151.
  65. Griffon, N., Crocq, M.A., Pilon, C., Martres, M.P., Mayerova, A., Uyanik, G., Burgert, E., Duval, F., Macher, J.P., Javoy-Agid, F., et al. (1996). Dopamine D3 receptor gene: organization, transcript variants, and polymorphism associated with schizophrenia. *American journal of medical genetics* 67, 63-70.
  66. Lundstrom, K., and Turpin, M.P. (1996). Proposed schizophrenia-related gene polymorphism: expression of the Ser9Gly mutant human dopamine D3 receptor with the Semliki Forest virus system. *Biochemical and biophysical research communications* 225, 1068-1072.
  67. Jeanneteau, F., Funalot, B., Jankovic, J., Deng, H., Lagarde, J.P., Lucotte, G., and Sokoloff, P. (2006). A functional variant of the dopamine D3 receptor is associated with risk and age-at-onset of essential tremor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103, 10753-10758.
  68. Graff-Guerrero, A., Redden, L., Abi-Saab, W., Katz, D.A., Houle, S., Barsoum, P., Bhatena, A., Palaparthi, R., Saltarelli, M.D., and Kapur, S. (2010). Blockade of [11C](+)-PHNO binding in human subjects by the dopamine D3 receptor antagonist ABT-925. *Int J Neuropsychopharmacol* 13, 273-287.
  69. Hellstrand, M., Danielsen, E.A., Steen, V.M., Ekman, A., Eriksson, E., and Nilsson, C.L. (2004). The ser9gly SNP in the dopamine D3 receptor causes a shift from cAMP related to PGE2 related signal transduction mechanisms in transfected CHO cells. *Journal of medical genetics* 41, 867-871.
  70. Gauderman, W.J. (2003). Candidate gene association analysis for a quantitative trait, using parent-offspring trios. *Genetic epidemiology* 25, 327-338.
  71. Nicolini, H., Cruz, C., Camarena, B., Orozco, B., Kennedy, J.L., King, N., Weissbecker, K., de la Fuente, J.R., and Sidenberg, D. (1996). DRD2, DRD3 and 5HT2A receptor genes polymorphisms in obsessive-compulsive disorder. *Molecular psychiatry* 1, 461-465.
  72. Andreasen, N.C. (1989). The Scale for the Assessment of Negative Symptoms (SANS): conceptual and theoretical foundations. *The British journal of psychiatry. Supplement*, 49-58.
  73. Andreasen, N.C., and Olsen, S. (1982). Negative v positive schizophrenia. Definition and validation. *Archives of general psychiatry* 39, 789-794.
  74. Fresan, A., Apiquian, R., de la Fuente-Sandoval, C., Garcia-Anaya, M., and Nicolini, H. (2004). [Sensitivity and specificity of the Overt Aggression Scale in schizophrenic patients]. *Actas espanolas de psiquiatria* 32, 71-75.
  75. Lahiri, D.K., and Nurnberger, J.I., Jr. (1991). A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic acids research* 19, 5444.
  76. Lannfelt L, S.P., Martres MP, Pilin C, Giros B, Jönsson E, Sedvall G, Schwartz JC. (1992). Amino acid substitution in the dopamine D3 receptor as a useful polymorphisms for investigation psychiatric disorders. *Psychiatric Genetics* 2, 249-256.
  77. McGuffin, P., Owen, M.J., and Farmer, A.E. (1995). Genetic basis of schizophrenia. *Lancet* 346, 678-682.
  78. Risch, N. (1990). Linkage strategies for genetically complex traits. I. Multilocus models. *American journal of human genetics* 46, 222-228.
  79. Howes, O.D., and Kapur, S. (2009). The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway. *Schizophrenia bulletin* 35, 549-562.
  80. Nimgaonkar, V.L., Sanders, A.R., Ganguli, R., Zhang, X.R., Brar, J., Hogge, W., Fann, W.E., Patel, P.I., and Chakravarti, A. (1996). Association study of schizophrenia and the dopamine D3 receptor gene locus in two independent samples. *American journal of medical genetics* 67, 505-514.

81. Virgos, C., Martorell, L., Valero, J., Figuera, L., Civeira, F., Joven, J., Labad, A., and Vilella, E. (2001). Association study of schizophrenia with polymorphisms at six candidate genes. *Schizophrenia research* 49, 65-71.
82. Ventriglia, M., Bocchio Chiavetto, L., Bonvicini, C., Tura, G.B., Bignotti, S., Racagni, G., and Gennarelli, M. (2002). Allelic variation in the human prodynorphin gene promoter and schizophrenia. *Neuropsychobiology* 46, 17-21.
83. Jonsson, E.G., Kaiser, R., Brockmoller, J., Nimgaonkar, V.L., and Crocq, M.A. (2004). Meta-analysis of the dopamine D3 receptor gene (DRD3) Ser9Gly variant and schizophrenia. *Psychiatr Genet* 14, 9-12.
84. Morimoto, K., Miyatake, R., Nakamura, M., Watanabe, T., Hirao, T., and Suwaki, H. (2002). Delusional disorder: molecular genetic evidence for dopamine psychosis. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 26, 794-801.
85. Yang, L., Li, T., Wiese, C., Lannfelt, L., Sokoloff, P., Xu, C.T., Zeng, Z., Schwartz, J.C., Liu, X., and Moises, H.W. (1993). No association between schizophrenia and homozygosity at the D3 dopamine receptor gene. *American journal of medical genetics* 48, 83-86.
86. Jablensky, A. (2006). Subtyping schizophrenia: implications for genetic research. *Molecular psychiatry* 11, 815-836.
87. Loftus, J., DeLisi, L.E., and Crow, T.J. (1998). Familial associations of subsyndromes of psychosis in affected sibling pairs with schizophrenia and schizoaffective disorder. *Psychiatry research* 80, 101-111.
88. Cardno, A.G., Sham, P.C., Murray, R.M., and McGuffin, P. (2001). Twin study of symptom dimensions in psychoses. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science* 179, 39-45.
89. Cardno, A.G., Rijdsdijk, F.V., Murray, R.M., and McGuffin, P. (2008). Twin study refining psychotic symptom dimensions as phenotypes for genetic research. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 147B, 1213-1221.
90. Serretti, A., Macciardi, F., and Smeraldi, E. (1998). Dopamine receptor D2 Ser/Cys311 variant associated with disorganized symptomatology of schizophrenia. *Schizophrenia research* 34, 207-210.
91. Serretti, A., Lattuada, E., Cusin, C., Lilli, R., Lorenzi, C., and Smeraldi, E. (1999). Dopamine D3 receptor gene not associated with symptomatology of major psychoses. *American journal of medical genetics* 88, 476-480.
92. Ebstein, R.P., Macciardi, F., Heresco-Levi, U., Serretti, A., Blaine, D., Verga, M., Nebamov, L., Gur, E., Belmaker, R.H., Avnon, M., et al. (1997). Evidence for an association between the dopamine D3 receptor gene DRD3 and schizophrenia. *Human heredity* 47, 6-16.
93. Szekeres, G., Keri, S., Juhasz, A., Rimanoczy, A., Szendi, I., Czimmer, C., and Janka, Z. (2004). Role of dopamine D3 receptor (DRD3) and dopamine transporter (DAT) polymorphism in cognitive dysfunctions and therapeutic response to atypical antipsychotics in patients with schizophrenia. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 124B, 1-5.
94. Nimgaonkar, V.L., Zhang, X.R., Caldwell, J.G., Ganguli, R., and Chakravarti, A. (1993). Association study of schizophrenia with dopamine D3 receptor gene polymorphisms: probable effects of family history of schizophrenia? *American journal of medical genetics* 48, 214-217.
95. Brzustowicz, L.M. (2007). Size matters: the unexpected challenge of detecting linkage in large cohorts. *The American journal of psychiatry* 164, 192-194.
96. Kendler, K.S., Karkowski-Shuman, L., O'Neill, F.A., Straub, R.E., MacLean, C.J., and Walsh, D. (1997). Resemblance of psychotic symptoms and syndromes in affected sibling pairs from the Irish Study of High-Density Schizophrenia Families: evidence for possible etiologic heterogeneity. *The American journal of psychiatry* 154, 191-198.
97. Cardno, A.G., Sham, P.C., Farmer, A.E., Murray, R.M., and McGuffin, P. (2002). Heritability of Schneider's first-rank symptoms. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science* 180, 35-38.
98. Fanous, A.H., Neale, M.C., Webb, B.T., Straub, R.E., Amdur, R.L., O'Neill, F.A., Walsh, D., Riley, B.P., and Kendler, K.S. (2007). A genome-wide scan for modifier loci in schizophrenia. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 144B, 589-595.

99. Costas, J., Carrera, N., Dominguez, E., Vilella, E., Martorell, L., Valero, J., Gutierrez-Zotes, A., Labad, A., and Carracedo, A. (2009). A common haplotype of DRD3 affected by recent positive selection is associated with protection from schizophrenia. *Human genetics* 124, 607-613.

## ANEXO 1

### CRITERIOS DSM-IV PARA EL DIAGNÓSTICO DE ESQUIZOFRENIA.

A. *Síntomas característicos*: dos ( o más) de los siguientes, cada uno de ellos presente durante una parte significativa de un periodo de 1 mes ( o menos si ha sido tratado con éxito):

- (1) ideas delirantes
- (2) alucinaciones
- (3) lenguaje desorganizado (p. Ej. Descarrilamiento frecuente o incoherencia)
- (4) comportamiento catatónico o gravemente desorganizado
- (5) síntomas negativos, por ejemplo, aplanamiento afectivo, alogia o abulia.

Nota: Sólo se requiere un síntoma del Criterio A si las ideas delirantes son extrañas o si las ideas delirantes consisten en una voz que comenta continuamente los pensamientos o el comportamiento del sujeto, o si dos o más voces conversan entre ellas.

B. *Disfunción social/laboral*: Durante una parte significativa del tiempo desde el inicio de la alteración, una o más áreas importantes de actividad, como son el trabajo, las relaciones interpersonales o el cuidado de uno mismo, están claramente por debajo del nivel previo al inicio del trastorno ( o, cuando el inicio es en la infancia o adolescencia, fracaso en cuanto a alcanzar el nivel esperable de rendimiento interpersonal, académico o laboral).

C. *Duración*: Persisten signos continuos de la alteración durante al menos 6 meses. Este periodo de 6 meses debe incluir al menos 1 mes de síntomas que cumplan el Criterio A ( o menos si se ha tratado con éxito) y puede incluir los periodos de síntomas prodrómicos y residuales. Durante estos periodos prodrómicos o residuales, los signos de la alteración pueden manifestarse solo por síntomas negativos o por dos o más síntomas de la lista del Criterios A, presentes en forma atenuada (p. Ej., creencias raras, experiencias perceptivas no habituales).

- D. *Exclusión de los trastornos esquizoafectivo y del estado de ánimo:* El trastorno esquizoafectivo y el trastorno del estado de ánimo con síntomas psicóticos se han descartado debido a: 1) no ha habido ningún episodio depresivo mayor, maníaco o mixto concurrente con los síntomas de la fase activa; o 2) si los episodios de alteración anímica han aparecido durante los síntomas de la fase activa, su duración total ha sido breve en relación con la duración de los periodos activo y residual.
- E. *Exclusión de consumo de sustancias y de enfermedad médica:* El trastorno no es debido a los efectos fisiológicos directos de alguna sustancia ( p. Ej., una droga de abuso, un medicamento) o de una enfermedad médica.
- F. *Relación con un trastorno generalizado del desarrollo:* Si hay historia de trastorno autista o de otro trastorno generalizado del desarrollo, el diagnóstico adicional de esquizofrenia sólo se realizará si las ideas delirante o las alucinaciones también se mantienen durante al menos 1 mes ( o menos si ha sido tratado con éxito)

## ANEXO 2 CONSENTIMIENTO INFORMADO.

### **Consentimiento del Sujeto para Participar en un Estudio de Genética de Esquizofrenia en Población Latina (Sujetos que son entrevistados y proporcionan muestra de sangre)**

#### **Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente**

**1.- Propósito:** Le pedimos tomar parte en un estudio de investigación médica para encontrar genes que hacen más probable el padecer esquizofrenia (los genes son partes de las células. Los genes son un código de partes de su cuerpo. Los genes vienen de los padres. Los genes están compuestos de ADN). La investigación nos ha indicado que los genes son un factor en el origen de la esquizofrenia. Si se encuentran estos genes, y se puede entender cómo afectan en la esquizofrenia, sería posible hallar mejores tratamientos para la esquizofrenia. Los genes son encontrados estudiando el ADN de las personas con el mismo problema y que se encuentran relacionados, y con el ADN de algunos de sus familiares. Le pedimos que tome parte en el estudio debido a que ha sido tratado por esquizofrenia y probablemente algún hermano, hermana, hijo (a) u otro familiar cercano pudo haber padecido de esquizofrenia. El estar en este estudio no afectará o modificará su tratamiento médico de ninguna forma.

**2.- Procedimientos y duración:** Los procedimientos que se realicen tendrán tan solo propósitos de investigación. Si acepta participar en este estudio, se le pedirá que complete los siguientes procedimientos de investigación:

- Será entrevistado sobre problemas de salud mental o médicos que ha tenido y sobre problemas de salud mental en miembros de su familia. Esta entrevista toma aproximadamente 2-3 horas.
- Se le pedirá una muestra sanguínea de aproximadamente 2.5 cucharadas (35-40 cc), los cuales serán extraídos por medio de una aguja en el brazo, por una persona entrenada y que trabaja para el estudio o por su médico tratante si lo prefiere.
- Se le invitará a que le pregunte a sus padres, hermanos (as) u otros familiares si desean que los contactemos para el estudio (solo contactaremos a los miembros de su familia que usted nos indique). En caso afirmativo, los invitaremos a participar y a completar algunos de los procedimientos de investigación.

Estos procedimientos pueden ser completados en una visita, o se puede extraer una muestra de sangre en otro momento.

La muestra sanguínea será empleada para extraer el ADN para análisis genéticos y para hacer cultivos de glóbulos blancos. Los cultivos de células vivirán indefinidamente y proveerán una fuente permanente de ADN para este y futuros proyectos de investigación. Para buscar genes se probarán diversos marcadores genéticos, se buscarán los patrones que indiquen que uno de los marcadores se encuentra localizado cerca de un gene para la enfermedad, para luego tratar de hallar el gene o genes y aprender su funcionamiento.

Su ADN y líneas celulares serán almacenados en un Depósito (lugar especial donde se guardarían todas las muestras sanguíneas), fundado por el Gobierno de los Estados Unidos.

No daremos al depósito nunca su nombre, dirección, fecha de nacimiento, ni ninguna otra información que permita identificarlo a usted o a su familia por el nombre o apellidos. En su lugar, nosotros le daremos al depósito un número codificado para identificar sus muestras sanguíneas.

Estos materiales biológicos serán mantenidos como un recurso nacional en este Laboratorio Central y estarán disponibles a través del Instituto Nacional de Salud Mental (NIMH) a científicos calificados alrededor del mundo para el estudio de la esquizofrenia, a partir del año 2004. Estos científicos podrían no estar trabajando en este momento en este proyecto. Por lo tanto, los investigadores tendrán acceso a estos materiales identificados únicamente con el número codificado.

Los científicos que tengan acceso a su material biológico, podrían realizar un estudio en colaboración con una empresa privada. Estas compañías pueden patentar productos o vender descubrimientos basados en estas investigaciones. Algunos de estos investigadores que participan en el análisis de su ADN podrían obtener algún beneficio financiero de estos trabajos. No existen planes para dar compensación alguna a usted o a sus herederos a partir de estos estudios.

**3.- Riesgos e incomodidades:** Los riesgos de participar en este estudio incluyen el inconveniente de la entrevista y revelar información personal. La extracción de sangre puede provocar algunas incomodidades debido a la punción-. Ocasionalmente puede haber un ligero sangrado bajo la piel, produciendo moretón en su brazo. La sangre será extraída por personal entrenado. Otro riesgo es que los miembros de la familia tuvieran conocimiento acerca de información confidencial acerca de sus familiares discutiendo el estudio entre la familia. Nos gustaría asegurarle que las entrevistas serán conducidas de forma privada y que la información que nos proporcione no será compartida con otros miembros de la familia. Las entrevistas serán realizadas por personas con entrenamiento en salud mental en psiquiatría, los cuales están entrenados para proteger la confidencialidad y para evitar inconvenientes o factores de incomodidad.

Algunos expertos en pruebas de ADN se encuentran preocupados de que en un futuro, sea posible identificar a los sujetos comparando la información de las pruebas de ADN de la investigación con la información de ADN que algún día pueda ser hallada en los registros médicos. Esta información puede ser usada para negar seguros o empleo a personas con alto riesgo a desarrollar ciertas enfermedades. En la actualidad no existen pruebas de ADN en los registros médicos que puedan ser utilizadas para identificar a los sujetos que participan en este estudio. Todos los científicos que trabajan con las muestras tendrán prohibido el tratar de identificar a cualquiera de los sujetos y se les permitirá utilizar las muestras solo para estudiar las causas de la esquizofrenia y trastornos relacionados. Estos pasos hacen improbable que cualquier sujeto de este estudio sea identificado por medio de la información del ADN. Un Certificado de Confidencialidad ha sido obtenido del gobierno Federal de los Estados Unidos para asegurar su privacidad. Este certificado significa que los investigadores no pueden ser forzados a comunicarle a personas ajenas al estudio acerca de su participación en este estudio sin su consentimiento por escrito. Si algo es descubierto que pueda ponerlo en

peligro a usted, a sus hijos o a otros, se discutirá con usted si es posible, o se buscará ayuda.

**4.- Beneficios potenciales:** La participación en este estudio no le traerá beneficios personales. Es posible que este estudio nos lleve a un mayor conocimiento acerca de las causas de la esquizofrenia. No se les proporcionará a los participantes de este estudio ninguna información concerniente a los resultados de las pruebas genéticas. No le garantizamos que obtenga algún beneficio por participar en este estudio.

**5.- Derecho a retirarse del estudio:** La participación en este estudio es voluntaria. Usted puede rehusarse a estar en el estudio o retirarse en cualquier momento. Si decide no tomar parte o retirarse, esto no afectará su futuro cuidado médico en el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente. Si usted le pide al Dr. Humberto Nicolini o al Dr. Rogelio Apiquian que destruya cualquiera de sus cultivos de ADN o cultivos celulares que posean, esto tendrá que hacerse. Si usted decide en el futuro, que sus muestras de ADN sean removidas del depósito, el Instituto Nacional de Salud Mental destruirá sus muestras y le pedirá a otros científicos quienes también las tengan que las destruyan. Nosotros le informaremos acerca de cualquier hallazgo significativo que surja durante el curso de esta investigación que pueda estar relacionado con su deseo de seguir formando parte del estudio.

**6.- En caso de lesión:** Si resulta lesionado como resultado de los procedimientos de investigación descritos con anterioridad, se le brindará cuidado médico. Usted será responsable de los costos. No tenemos permitido darle dinero en caso de que sea lesionado.

**7.- Confidencialidad:** Su identidad permanecerá confidencial. Si surgen publicaciones o presentaciones de los resultados de este proyecto, su identidad permanecerá confidencial. La información de identificación será asegurada en la oficina del proyecto y tan solo el Dr. Humberto Nicolini o el Dr. Rogelio Apiquian y las personas que trabajen con ellos en este proyecto tendrán acceso a ella. Esto significa que su nombre, dirección, fecha de nacimiento o cualquier otra información que pueda identificarlo por su nombre no será brindada a otra persona sin su consentimiento por escrito. Ninguna de la información de este estudio aparecerá en sus registros médicos y no se brindará a otras instituciones. Su muestra de sangre y código será enviada al Centro para Estudios Genéticos patrocinado por el Instituto Nacional de Salud Mental. Su ADN o cultivos celulares serán recibidos por otros científicos para estudios de esquizofrenia y trastornos relacionados, identificándolos sólo por el código. La clave que relaciona su código con la información de su identidad será asegurada en la oficina de investigación de este lugar.

Si tiene alguna pregunta, siéntase libre de hacerla. Si más tarde tiene preguntas adicionales o desea informar acerca de un problema médico que pueda estar relacionado con este estudio, el Dr. Humberto Nicolini o el Dr. Rogelio Apiquian pueden ser localizados en el teléfono 56 55 28 11 en horas de trabajo. Si necesita hablar con alguno de los doctores en horas fuera de trabajo, por favor llame al 56 29 98 00 clave 17662 para el Dr. Humberto Nicolini, y clave 106043 para el Dr. Rogelio Apiquian, y deje su nombre y teléfono para que ellos se comuniquen con usted.

También puede contactarlos vía e-mail:

Dr. Humberto Nicolini  
Dr. Rogelio Apiquián

[nicolins@imp.edu.mx](mailto:nicolins@imp.edu.mx)  
[apiquian@imp.edu.mx](mailto:apiquian@imp.edu.mx)

Se le proporcionará una copia firmada de esta forma para que la guarde

SU FIRMA INDICA QUE USTED HA DECIDIDO FORMAR PARTE DE ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN Y QUE HA LEIDO Y COMPRENDIDO LA INFORMACIÓN ANTERIOR Y QUE SE LA EXPLICADO

\_\_\_\_\_  
Firma del Sujeto

\_\_\_\_\_  
Firma del Testigo

\_\_\_\_\_  
Firma del Investigador

\_\_\_\_\_  
Fecha

## **Consentimiento del Sujeto para Participar en un Estudio de Genética de Esquizofrenia en Población Latina (Para los padres de sujetos)**

### **Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente**

**1.- Propósito:** Le pedimos tomar parte en un estudio de investigación médica para encontrar genes que hacen más probable el padecer esquizofrenia (los genes son partes de las células. Los genes son un código de partes de su cuerpo. Los genes vienen de los padres. Los genes están compuestos de ADN). La investigación nos ha indicado que los genes son un factor en el origen de la esquizofrenia. Si se encuentran estos genes, y se puede entender cómo afectan en la esquizofrenia, sería posible hallar mejores tratamientos para la esquizofrenia. Los genes son encontrados estudiando el ADN de las personas con el mismo problema y que se encuentran relacionados, y con el ADN de algunos de sus familiares. Le pedimos que tome parte en el estudio debido a que ha sido tratado por esquizofrenia y probablemente algún hermano, hermana, hijo (a) u otro familiar cercano pudo haber padecido de esquizofrenia. El estar en este estudio no afectará o modificará su tratamiento médico de ninguna forma.

**2.- Procedimientos y duración:** Los procedimientos que se realicen tendrán tan solo propósitos de investigación. Si acepta participar en este estudio, se le pedirá que complete los siguientes procedimientos de investigación:

- Se le harán preguntas concernientes a si usted o algún otro miembro de su familia ha tenido problemas de salud mental. Esta entrevista toma entre 30-45 minutos.
- Si pudo haber padecido de esquizofrenia, también se le pedirá que participe en una entrevista más completa acerca de salud mental o problemas mentales que haya tenido y que firme un comunicado para que podamos obtener los registros de tratamiento médico que haya tenido. Esta entrevista toma aproximadamente dos horas.
- Se le pedirá una muestra sanguínea de aproximadamente 2.5 cucharadas (35-40 cc), los cuales serán extraídos por medio de una aguja en el brazo, por una persona entrenada y que trabaja para el estudio o por su médico tratante si lo prefiere.
- Se le invitará a que le pregunte a sus padres, hermanos (as) u otros familiares si desean que los contactemos para el estudio (solo contactaremos a los miembros de su familia que usted nos indique). En caso afirmativo, los invitaremos a participar y a completar algunos de los procedimientos de investigación.

Estos procedimientos pueden ser completados en una visita, o se puede extraer una muestra de sangre en otro momento.

La muestra sanguínea será empleada para extraer el ADN para análisis genéticos y para hacer cultivos de glóbulos blancos. Los cultivos de células vivirán indefinidamente y proveerán una fuente permanente de ADN para este y futuros proyectos de investigación. Para buscar genes se probarán diversos marcadores genéticos, se buscarán los patrones que indiquen que uno de los marcadores se encuentra localizado cerca de un gene para la enfermedad, para luego tratar de hallar el gene o genes y aprender su funcionamiento.

Su ADN y líneas celulares serán almacenados en un Depósito (lugar especial donde se guardarían todas las muestras sanguíneas), fundado por el Gobierno de los Estados Unidos.

No daremos al depósito nunca su nombre, dirección, fecha de nacimiento, ni ninguna otra información que permita identificarlo a usted o a su familia por el nombre o apellidos. En su lugar, nosotros le daremos al depósito un número codificado para identificar sus muestras sanguíneas.

Estos materiales biológicos serán mantenidos como un recurso nacional en este Laboratorio Central y estarán disponibles a través del Instituto Nacional de Salud Mental (NIMH) a científicos calificados alrededor del mundo para el estudio de la esquizofrenia, a partir del año 2004. Estos científicos podrían no estar trabajando en este momento en este proyecto. Por lo tanto, los investigadores tendrán acceso a estos materiales identificados únicamente con el número codificado. Los científicos que tengan acceso a su material biológico, podrían realizar un estudio en colaboración con una empresa privada. Estas compañías pueden patentar productos o vender descubrimientos basados en estas investigaciones. Algunos de estos investigadores que participan en el análisis de su ADN podrían obtener algún beneficio financiero de estos trabajos. No existen planes para dar compensación alguna a usted o a sus herederos a partir de estos estudios.

**3.- Riesgos e incomodidades:** Los riesgos de participar en este estudio incluyen el inconveniente de la entrevista y revelar información personal. La extracción de sangre puede provocar algunas incomodidades debido a la punción-. Ocasionalmente puede haber un ligero sangrado bajo la piel, produciendo moretón en su brazo. La sangre será extraída por personal entrenado. Otro riesgo es que los miembros de la familia tuvieran conocimiento acerca de información confidencial acerca de sus familiares discutiendo el estudio entre la familia. Nos gustaría asegurarle que las entrevistas serán conducidas de forma privada y que la información que nos proporcione no será compartida con otros miembros de la familia. Las entrevistas serán realizadas por personas con entrenamiento en salud mental en psiquiatría, los cuales están entrenados para proteger la confidencialidad y para evitar inconvenientes o factores de incomodidad.

Algunos expertos en pruebas de ADN se encuentran preocupados de que en un futuro, sea posible identificar a los sujetos comparando la información de las pruebas de ADN de la investigación con la información de ADN que algún día pueda ser hallada en los registros médicos. Esta información puede ser usada para negar seguros o empleo a personas con alto riesgo a desarrollar ciertas enfermedades. En la actualidad no existen pruebas de ADN en los registros médicos que puedan ser utilizadas para identificar a los sujetos que participan en este estudio. Todos los científicos que trabajan con las muestras tendrán prohibido el tratar de identificar a cualquiera de los sujetos y se les permitirá utilizar las muestras solo para estudiar las causas de la esquizofrenia y trastornos relacionados. Estos pasos hacen improbable que cualquier sujeto de este estudio sea identificado por medio de la información del ADN. Un Certificado de Confidencialidad ha sido obtenido del gobierno Federal de los Estados Unidos para asegurar su privacidad. Este certificado significa que los investigadores no pueden ser forzados a comunicarle a personas ajenas al estudio acerca de su participación en este estudio sin su consentimiento por escrito. Si algo es descubierto que pueda ponerlo en

peligro a usted, a sus hijos o a otros, se discutirá con usted si es posible, o se buscará ayuda.

**4.- Beneficios potenciales:** La participación en este estudio no le traerá beneficios personales. Es posible que este estudio nos lleve a un mayor conocimiento acerca de las causas de la esquizofrenia. No se les proporcionará a los participantes de este estudio ninguna información concerniente a los resultados de las pruebas genéticas. No le garantizamos que obtenga algún beneficio por participar en este estudio.

**5.- Derecho a retirarse del estudio:** La participación en este estudio es voluntaria. Usted puede rehusarse a estar en el estudio o retirarse en cualquier momento. Si decide no tomar parte o retirarse, esto no afectará su futuro cuidado médico en el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente. Si usted le pide al Dr. Humberto Nicolini o al Dr. Rogelio Apiquián que destruya cualquiera de sus cultivos de ADN o cultivos celulares que posean, esto tendrá que hacerse. Si usted decide en el futuro, que sus muestras de ADN sean removidas del depósito, el Instituto Nacional de Salud Mental destruirá sus muestras y le pedirá a otros científicos quienes también las tengan que las destruyan. Nosotros le informaremos acerca de cualquier hallazgo significativo que surja durante el curso de esta investigación que pueda estar relacionado con su deseo de seguir formando parte del estudio.

**6.- En caso de lesión:** Si resulta lesionado como resultado de los procedimientos de investigación descritos con anterioridad, se le brindará cuidado médico. Usted será responsable de los costos. No tenemos permitido darle dinero en caso de que sea lesionado.

**7.- Confidencialidad:** Su identidad permanecerá confidencial. Si surgen publicaciones o presentaciones de los resultados de este proyecto, su identidad permanecerá confidencial. La información de identificación será asegurada en la oficina del proyecto y tan solo el Dr. Humberto Nicolini o el Dr. Rogelio Apiquián y las personas que trabajen con ellos en este proyecto tendrán acceso a ella. Esto significa que su nombre, dirección, fecha de nacimiento o cualquier otra información que pueda identificarlo por su nombre no será brindada a otra persona sin su consentimiento por escrito. Ninguna de la información de este estudio aparecerá en sus registros médicos y no se brindará a otras instituciones. Su muestra de sangre y código será enviada al Centro para Estudios Genéticos patrocinado por el Instituto Nacional de Salud Mental. Su ADN o cultivos celulares serán recibidos por otros científicos para estudios de esquizofrenia y trastornos relacionados, identificándolos sólo por el código. La clave que relaciona su código con la información de su identidad será asegurada en la oficina de investigación de este lugar.

Si tiene alguna pregunta, siéntase libre de hacerla. Si más tarde tiene preguntas adicionales o desea informar acerca de un problema médico que pueda estar relacionado con este estudio, el Dr. Humberto Nicolini o el Dr. Rogelio Apiquián pueden ser localizados en el teléfono 56 55 28 11 en horas de trabajo. Si necesita hablar con alguno de los doctores en horas fuera de trabajo, por favor llame al 56 29 98 00 clave 17662 para el Dr. Humberto Nicolini, y clave 106043 para el Dr. Rogelio Apiquián, y deje su nombre y teléfono para que ellos se comuniquen con usted.

También puede contactarlos vía e-mail:

Dr. Humberto Nicolini

[nicolins@imp.edu.mx](mailto:nicolins@imp.edu.mx)

Dr. Rogelio Apiquian

[apiquian@imp.edu.mx](mailto:apiquian@imp.edu.mx)

Se le proporcionará una copia firmada de esta forma para que la guarde

SU FIRMA INDICA QUE USTED HA DECIDIDO FORMAR PARTE DE ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN Y QUE HA LEIDO Y COMPRENDIDO LA INFORMACIÓN ANTERIOR Y QUE SE LA EXPLICADO

\_\_\_\_\_  
Firma del Sujeto

\_\_\_\_\_  
Firma del Testigo

\_\_\_\_\_  
Firma del Investigador  
ANEXO 3

\_\_\_\_\_  
Fecha

## **Entrevista Diagnóstica para Estudios Genéticos (Diagnostic Interview for Genetic Studies, DIGS)**

Para el diagnóstico de los pacientes se utilizó el DIGS, denominado en la lengua española “Entrevista Diagnóstica para Estudios Genéticos”, entrevista semi-estructurada que fue desarrollada por los Institutos Nacionales de Salud Mental (NIMH) de Estados Unidos la cual tiene las siguientes características: 1) Capacidad polidiagnóstica, 2) evaluación detallada del curso del padecimiento, cronología de los síndromes psicóticos y afectivos y comorbilidad diagnóstica, 3) evaluaciones fenomenológicas de síntomas adicionales y, 4) capacidad algorítmica de calificación (National Institute of Mental Health 1992).

Las secciones del DIGS inician con una o dos preguntas cerradas de escrutinio con respuestas de “sí” o “no”, en donde una respuesta negativa a estas preguntas permite continuar con la siguiente sección. Por el contrario, si se tiene una respuesta afirmativa a estas preguntas de escrutinio, se completa esta sección con la finalidad de obtener información sobre la presencia o ausencia de la patología evaluada. Las omisiones de preguntas o secciones solo se utilizan cuando no se reporta sintomatología. Los factores orgánicos, la edad de inicio del padecimiento y la severidad, frecuencia y duración de los síntomas son evaluados.

Esta entrevista contiene varias secciones:

1. Introducción, que contiene el Examen Cognoscitivo Breve (Mini Mental State Examination, MMSE), datos demográficos y la historia médica
2. Somatización
3. Aspectos Generales del Trastorno Psiquiátrico
4. Trastornos Afectivos
5. Trastornos por Uso de Sustancias
6. Psicosis
7. Comportamiento Suicida
8. Trastornos de Ansiedad
9. Anorexia y Bulimia



## Brief report

Association study of *DRD3* gene in schizophrenia in Mexican sib-pairs

Nora Urraca <sup>a,\*</sup>, Beatriz Camarena <sup>a</sup>, Alejandro Aguilar <sup>a</sup>, Ana Fresán <sup>b</sup>, Rogelio Apiquián <sup>c</sup>, Lorena Orozco <sup>d,f</sup>, Alessandra Carnevale <sup>e</sup>, Humberto Nicolini <sup>f,g</sup>

<sup>a</sup> Genetics Laboratory, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, Mexico City, Mexico

<sup>b</sup> Clinical Research Division, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, Mexico City, Mexico

<sup>c</sup> Developmental and Behavioral Sciences Division, Universidad de las Américas, Mexico City, Mexico

<sup>d</sup> Laboratory of Genomics of Complex Diseases, Instituto Nacional de Medicina Genómica, Mexico City, Mexico

<sup>e</sup> Research Director, Instituto Nacional de Medicina Genómica, Mexico City, Mexico

<sup>f</sup> Professor, Universidad Autónoma de la Cd. de México, Mexico City University, Mexico City, Mexico

<sup>g</sup> Director, Carracci Medical Group, Mexico City, Mexico

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 22 June 2010

Received in revised form 8 June 2011

Accepted 10 June 2011

## Keywords:

Haplotype

Dopamine

Sib-pairs

## ABSTRACT

Schizophrenia is a heritable, complex mental disorder. We analysed the *DRD3* gene as a candidate to be related to schizophrenia and clinical features in affected sib-pairs. A positive association with the -250A/Ser9 haplotype and a trend toward an association with formal thought disorder were observed. A synergic effect of *DRD3* polymorphisms on schizophrenia susceptibility is suggested.

© 2011 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

Although the biological basis of schizophrenia still remains unknown, strong evidence supports the role of dopamine, with the interaction of multiple environmental and genetic risk factors increasing presynaptic striatal dopaminergic function as the final common pathway (Howes and Kapur, 2009). *DRD3* expression appears to be restricted to limbic areas in schizophrenia (Sokoloff et al., 1992). Postmortem brain studies found a decrease in *DRD3* messenger RNA (mRNA) expression in chronic schizophrenia patients (Schmauss et al., 1993) and elevation in drug-free patients (Gurevich et al., 1997), indicating that antipsychotic drugs could reduce *DRD3* levels. However, *in vivo* studies did not reveal differences between patients with acute psychosis and controls (Graff-Guerrero et al., 2009).

Several case-control studies have focused on polymorphisms located on the 5' region of the gene to determine whether the Ser9Gly polymorphism alone or a variation in linkage disequilibrium

may affect susceptibility to schizophrenia (Ishiguro et al., 2000; Staddon et al., 2005). *DRD3* association has also been studied in relation to age of onset (Renou et al., 2007) and symptomatology (Serreti et al., 1999). We analyse the association of the *DRD3* -205A/G and Ser9Gly polymorphisms with schizophrenia in Mexican families, evaluating each polymorphism separately and as a haplotype. Gender, age of onset and symptom severity were analysed.

## 2. Material and methods

Ethical and research committees approved this study, and all individuals signed an informed consent. We included 60 unrelated families with at least two siblings with schizophrenia and, if their parents were missing, additional siblings or relatives were recruited to reconstruct genotypes.

A psychiatrist, blind to family relationships, interviewed each subject using the Spanish version of the Diagnostic Interview for Genetic Studies (DIGS) (Nurnberger et al., 1994). A family history interview was done with the Spanish version of the Family Interview for Genetic Studies (FIGS) (Maxwell, 1992). Diagnosticians arrived independently at their diagnoses, based on the blind review of clinical charts and the DIGS and FIGS interviews. A best-estimate consensus process assigned final diagnoses. Symptom severity was measured with the Schedule for the Assessment of Positive and Negative Symptoms (SAPS/SANS) (Andreasen and Olsen, 1982; Andreasen, 1989).

Genotyping for *DRD3*-205A/G and Ser9Gly polymorphisms was performed, as described in previous studies (Lannfelt et al., 1992; Ishiguro et al., 2000). In case of discrepancy in genotype segregation, genotyping was repeated in all family members; also, 10% random samples were chosen for corroboration.

A family-based association test (FBAT) was performed, and haplotypes were tested for association with schizophrenia in the family-based data set by using the haplotype-based association test (HBAT) option. Significance level was established with a  $P \leq 0.05$ . The FBAT was used for dichotomous traits (sex and age of onset) and quantitative trait analysis for symptom severity.

\* Corresponding author at: University of Tennessee Health Science Center, Department of Neurology, 855 Monroe Ave., Room 415, Memphis, TN 38163. Tel.: +1 901 448 7443; fax: +1 901 448 7440.

E-mail addresses: [urracanora@yahoo.com](mailto:urracanora@yahoo.com), [nurraca@uthsc.edu](mailto:nurraca@uthsc.edu) (N. Urraca).

**Table 1**

Family based association test using FBAT for DRD3 polymorphisms and HBAT for haplotypes.

		# informative families	Z	P
<i>DRD3 -205 A/G polymorphism</i>				
SNPs	Allele Frequency			
-205A	0.453	29	1.62	0.10
-205 G	0.547	29	-1.62	0.10
<i>DRD3 Ser9Gly polymorphism</i>				
SNPs	Allele Frequency			
Ser9	0.534	28	1.36	0.17
Gly9	0.466	28	-1.36	0.17
<i>Haplotypes</i>				
Haplotype	Frequency			
-205A/Ser9	0.393	20	2.193	0.028
-205 G/Gly9	0.359	17	-1.54	0.122
-205 G/Ser9	0.145	11	-1.28	0.199
-205A/Gly9	0.103	6	****	

\*\*\*\* Insufficient informative families to run the analysis.

### 3. Results

A total of 60 unrelated families with 245 individuals were studied, of whom 131 had schizophrenia. Of these, 54% were males, the mean age was 32.8 years (S.D.=9) and the average age of onset was 20.4 years (S.D.=5.5 years). The SANS and SAPS mean total scores were 12 (S.D.=6) and 6 (S.D.=5), respectively. Genotype frequencies of -205A/G and Ser9Gly polymorphisms were found in Hardy-Weinberg equilibrium ( $P>0.05$ ) for all of the analysis. The FBAT was possible in 28/60 families for the Ser9Gly and in 29/60 families for the -205A/G polymorphisms who had at least one heterozygous parent. No differences in the transmission of alleles were observed for both polymorphisms and schizophrenia while the most frequent haplotype (-205A/Ser9) revealed an association with susceptibility for schizophrenia (Table 1).

No association was found by gender or age of onset. Quantitative FBAT did not show a particular allele transmission for SAPS/SANS subscales (data not shown). Although formal thought disorder (FTD) showed a trend toward an association with the Ser9Gly polymorphism ( $P=0.027$ ), it was lost after Bonferroni's correction (at  $P\leq 0.0055$ ).

### 4. Discussion

This is the first association study of *DRD3* polymorphisms with schizophrenia in Mexicans. We observed differences in the allele and haplotype frequencies between our population and other populations (data not shown) (Ishiguro et al., 2000; Staddon et al., 2005). These discrepancies could be explained by the heterogeneity of the genetic background among populations and supports the need for replication studies among all ethnic groups, especially those with a high degree of heterogeneity, such as the Mexican population.

We performed a study to test association between single-nucleotide polymorphisms (SNPs) (Ser9Gly and -205A/G polymorphisms) on the *DRD3* gene and schizophrenia. The Gly-9 variant increases dopamine-binding affinity *in vitro* (Jeanneteau et al., 2006) but not *in vivo* (Graff-Guero et al., 2010), and the -205A/G polymorphism leads to a non-conservative Lys9Glu substitution; however, the role of this peptide is still unknown (Sivagnanasundaram et al., 2000).

Lack of differences found on both polymorphisms could be a reflection of the small size of informative parents or, the fact that, in our population, neither gene conferred a risk for schizophrenia. We

found the haplotype -250A/Ser9 to be associated with susceptibility to schizophrenia. Previous studies reported an association with other haplotypes (Staddon et al., 2005) or a protective haplotype (Ishiguro et al., 2000). Due to ethnic heterogeneity, a synergic effect among these polymorphisms may be suggested. Studies in ethnically homogenous populations are needed to explain the differences among populations.

Certainly, disruption of dopamine homeostasis occurs in schizophrenia, and it likely plays a role in the symptomatic features. The FTD association was lost after Bonferroni correction; also, patients were under antipsychotic medication, and this should be considered as a limitation. To assess whether *DRD3* polymorphisms are risk factors or a modifier gene for FTD or other positive or negative symptoms in schizophrenia, further studies should be performed in larger samples of treatment-naïve patients.

### References

- Andreasen, N.C., 1989. The Scale for the Assessment of Negative Symptoms (SANS): conceptual and theoretical foundations. The British Journal of Psychiatry. Supplement 7, 49–58.
- Andreasen, N.C., Olsen, S., 1982. Negative vs positive schizophrenia. Definition and validation. Archives of General Psychiatry 39, 789–794.
- Graff-Guero, A., Redden, L., Abi-Saab, W., Kats, D., Houle, S., Barsoum, P., Bhatena, A., Palaparthi, R., Saltarelli, M., Kapur, S., 2010. Blockade of [<sup>11</sup>C](+)-PHNO binding in human subjects by the dopamine D<sub>3</sub> receptor antagonist ABT-925. The International Journal of Neuropsychopharmacology 13, 273–287.
- Graff-Guero, A., Mizrahi, R., Agid, O., Marcon, H., Barsoum, P., Rusjan, P., Wilson, A., Zipursky, R., Kapur, S., 2009. The dopamine D<sub>2</sub> receptors in high-affinity state and D<sub>3</sub> receptors in schizophrenia: a clinical [<sup>11</sup>C](+)-PHNO PET Study. Neuropsychopharmacology 34, 1078–1086.
- Gurevich, E., Bordelon, Y., Shapiro, R., Arnold, S., Gur, R., Joye, J., 1997. Mesolimbic dopamine D<sub>3</sub> receptors and use of antipsychotics in patients with schizophrenia. Archives of General Psychiatry 54, 225–232.
- Hoves, O.D., Kapur, S., 2009. The dopamine hypothesis of schizophrenia: Version III—the final common pathway. Schizophrenia Bulletin 35, 549–562.
- Ishiguro, H., Okuyama, Y., Toru, M., Arinami, T., 2000. Mutation and association analysis of the 5' region of the dopamine D<sub>3</sub> receptor gene in schizophrenia patients: identification of the Ala38Thr polymorphism and suggested association between DRD3 haplotypes and schizophrenia. Molecular Psychiatry 5, 433–438.
- Jeanneteau, F., Funalot, B., Jankovic, J., Deng, H., Lagarde, J.P., Lucotte, G., Sokoloff, P., 2006. A functional variant of the dopamine D<sub>3</sub> receptor is associated with risk and age-at-onset of essential tremor. Proceeding of the National Academy of Sciences USA 103, 10753–10758.
- Lannfelt, L., Sokoloff, P., Martres, M.P., Pilon, C., Giros, B., Jönsson, E., Sedvall, G., Schwartz, J.C., 1992. Amino acid substitution in the dopamine D<sub>3</sub> receptor as a useful polymorphisms for investigation psychiatric disorders. Psychiatric Genetics 2, 249–256.
- Maxwell, M.E., 1992. Genetics Initiative. Family Interview for Genetic Studies (FIGS) National Institute of Mental Health, Rockville, MD.
- Nurnberger Jr., J.L., Blehar, M.C., Kaufmann, C.A., York-Cooler, C., Simpson, S.G., Harkavy-Friedman, J., Severe, J.B., Malaspina, D., Reich, T., 1994. Diagnostic Interview for Genetic Studies. Rationale, unique features, and training. NIMH Genetics Initiative. Archives of General Psychiatry 51, 849–859.
- Renou, J., De Luca, V., Zai, C.C., Bulgin, N., Remington, G., Meltzer, H.Y., Lieberman, J.A., Le Foll, B., Kennedy, J.L., 2007. Multiple variants of the DRD3, but not BDNF gene, influence age-at-onset of schizophrenia. Molecular Psychiatry 12, 1058–1064.
- Schmauss, C., Haroutunian, V., Davis, K.L., Davidson, M., 1993. Selective loss of dopamine D<sub>3</sub> type receptor mRNA expression in parietal and motor cortices of patients with chronic schizophrenia. Proceeding of the National Academy of Sciences USA 90, 8942–8946.
- Serreti, A., Lattuada, E., Cusin, C., Lilli, R., Lorenzi, C., Smeraldi, E., 1999. Dopamine D<sub>3</sub> Receptor gene not associated with symptomatology of major psychoses. American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics) 88, 476–480.
- Sivagnanasundaram, S., Morris, A.G., Gaitonde, E.J., McKenna, P.J., Mollon, J.D., Hunt, D.M., 2000. A cluster of single nucleotide polymorphisms in the 5'-leader of the human dopamine D<sub>3</sub> receptor gene (DRD3) and its relationship to schizophrenia. Neuroscience Letters 279, 13–16.
- Sokoloff, P., Giros, B., Martres, M.P., Andreux, M., Besanco, R., Pilon, C., Bouthenet, M.L., Souil, E., Schwartz, J.C., 1992. Localization and function of the D<sub>3</sub> dopamine receptor. Arzneimittel-Forschung 42, 224–230.
- Staddon, S., Arranz, M.J., Mancama, D., Perez-Nievas, F., Arrizabalaga, I., Anney, R., Buckland, P., Elkin, A., Osborne, S., Munro, J., Mata, I., Kerwin, R.W., 2005. Association between dopamine D<sub>3</sub> receptor gene polymorphisms and schizophrenia in an isolate population. Schizophrenia Research 73, 49–54.

# An 8q21 Deletion in a Patient with Comorbid Psychosis and Mental Retardation

By Nora Urraca, MD, MSc, Maria de la Luz Arenas-Sordo MD, Abigail Ortiz-Domínguez, MD, Angélica Martínez, MSc, Bertha Molina, MSc, Arturo Galvez, BSc, and Humberto Nicolini, MD, PhD

## FOCUS POINTS

- Most autosomal aberrations cause mental retardation and phenotypic abnormalities due to the deletion, duplication, and/or interrupted genes.
- Cytogenetic studies of patients with comorbid psychiatric illnesses and mental retardation or minor anomalies are necessary.
- When chromosomal aberrations co-exist with a psychiatric illness, the genes in the region involved can be proposed as candidates for disease predisposition.

## ABSTRACT

Systematic investigations indicate that some of the recognized psychiatric disorders can be identified among those with mental retardation due to chromosomal abnormalities. We report a psychotic patient with mild mental retardation (intelligence quotient: 68) and minor anomalies that had a chromosomal aberration not previously described in a psychotic patient. Our patient highlights the importance of the cytogenetic study in psychiatric patients with comorbid mental retardation or minor anomalies. In addition, her psychosis symptoms may be helpful to propose a new candidate gene for psychosis.

CNS Spectr. 2005;10(11):864-866

## INTRODUCTION

Major advances in neuroscience and human genetics have made it possible to identify a bio-

logical etiology for an ever-increasing number of mental retardation syndromes. It is misleading to conceptualize intelligence as a single trait, as well as to think that mental retardation is a homogenous condition. The definition of mental retardation has been incorporated into the *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition-Text Revision*<sup>1</sup> psychiatric taxonomy. However, the study of the causes of mental retardation is not a common practice in clinical psychiatric settings.

There is a multitude of confirmed and suspected causes of mental retardation. In most cases, the etiology of cognitive impairment reflects a complex interplay of biology and environment. More than 500 genetic disorders are associated with mental retardation.<sup>2</sup> Approximately 30% to 40% of the causes of moderate to severe mental retardation have a significant genetic component, and chromosomal disorders are responsible for ~10% of mild mental retardation and  $\geq 30\%$  of cases from moderate to profound mental retardation.<sup>3</sup>

Systematic investigations indicate that several of the recognized psychiatric disorders can be identified among those patients with mental retardation. In addition to suggesting an association between certain developmental syndromes and specific neuropsychiatric disorders, these findings have been very useful to locate loci for psychiatric disorders, such as autism, schizophrenia, and Alzheimer's disease.<sup>4,5</sup>

Of the well-known microdeletion syndromes the

Drs. Urraca and Ortiz-Domínguez are in clinical services at the Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz in Mexico City, Mexico. Dr. Arenas-Sordo and Galvez are in the Department of Genetics at the Centro Nacional de Rehabilitación in Mexico City. Ms. Martínez and Ms. Molina are in the Cytogenetic Laboratory at the Instituto Nacional de Pediatría in Mexico City, and Dr. Nicolini is professor in the Department of Psychiatry, all at the University of Mexico City.

Disclosure: Ms. Molina and Dr. Nicolini are supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Drs. Urraca, Arenas-Sordo, and Ortiz-Domínguez, Ms. Martínez, and Mr. Galvez do not have an affiliation or financial interest in any organization that might pose a conflict of interest.

This article was submitted on December 10, 2004, and accepted on March 3, 2005.

Acknowledgment: The authors would like to thank the patient and her family for their support.

Please direct all correspondence to: Nora Urraca MD, MSc, Laboratorio de Genética Psiquiátrica, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, Calzada México-Xochimilco 101, col San Lorenzo Huipulco c.p. 14370. México, D.F. México; Tel: 55-565-52811 ext. 123, Fax: 55-551-33722; Email: urracanora@yahoo.com.

prevalence of psychosis is 30% in 22q11-deletion syndrome<sup>6</sup> and Prader-Willi syndrome.<sup>7</sup> There are other isolated reports with clinical features typical of a contiguous gene syndrome (dysmorphisms, developmental delay, and mental retardation) and psychosis.<sup>8-10</sup> Velo-cardiofacial or del22q11 syndromes have offered a model of how a structural aberration is associated with psychiatric disorders.<sup>11,12</sup>

We report here a case of a psychotic patient, mild mentally retarded (intelligence quotient: 68) with minor anomalies in whom we found a chromosomal aberration that has not been previously described in a psychotic patient. There are other reports of patients with other interstitial deletions involving 8q but none with psychiatric symptoms.<sup>13-15</sup>

### CASE REPORT

Ms. M, a 31-year-old female patient, was admitted to our facility with the following information: her medical history revealed preterm birth, which required artificial incubation for a month. Psychomotor retardation was observed, since she began walking at 2 years of age and her first syllables were pronounced at 4 years of age. Surgical correction of squint was performed at 4 years of age. Her parental history did not reveal any additional information. Five months before being admitted to our hospital, she was delusional and presented auditory and complex visual hallucinations. Her mood was irritable and she was disheveled in per-

sonal appearance. She was initially treated with haloperidol 1.25 mg BID, a dosage sufficient to cease psychotic symptoms in 1 month, with total remission of the symptomatology. Six months later, she complained of extrapyramidal symptoms, conditions that contributed to noncompliance of treatment and relapse of psychotic symptoms. She was switched to thioridazine 25 mg/day. As a consequence no symptoms were present for 2 years. In 2001, she experienced a relapse characterized by auditory hallucinations and delusions. Those symptoms that remitted in 2 weeks with a slight increase in the dose of thioridazine up to 50 mg/day. Since then, she has not presented any psychiatric symptoms while on a regimen of thioridazine 25 mg/day.

Some phenotypic features along with mental retardation were the reason to referral to the geneticist. In the genetic evaluation we found: short stature (1.39 meters), brachicephaly, facial asymmetry, slanted upward and outward palpebral fissures, beaked nose, thin lips, short neck (Figure 1), superior limbs with difficulty in the supination movement, and abnormal palmar creases.

Basic laboratory data (complete blood count, thyroid function test) were reported within the normal range, as was computed tomography. The electroencephalogram showed an increment of theta activity in anterior regions. Radiographic study showed bilateral synostosis of the capitate and hamate carpal bones (Figure 2) along with minor abnormalities and anatomic variants. Her ophthalmologic revision was reported as normal.

The chromosome analysis from the patient and both parents was carried out using conventional techniques for trypsin-Giemsa technique banding in peripheral blood lymphocytes. A high resolution study was used to determine the breakpoints. trypsin-Giemsa technique banding analysis of the patient lymphocytes, with a resolution of 550 bands, showed a karyotype 46,XX,del(8)(q21.11 q21.2) (Figure 3). The karyotype in both parents was normal.



**FIGURE 1.** Face front view

Urraca N, Arena-Sordo M d l L, Ortiz-Domínguez A, et al. *CNS Spectr.* Vol 10, No 11. 2005.



**FIGURE 2.** Carpal bones X-ray

Urraca N, Arena-Sordo M d l L, Ortiz-Domínguez A, et al. *CNS Spectr.* Vol 10, No 11. 2005.

## CONCLUSION

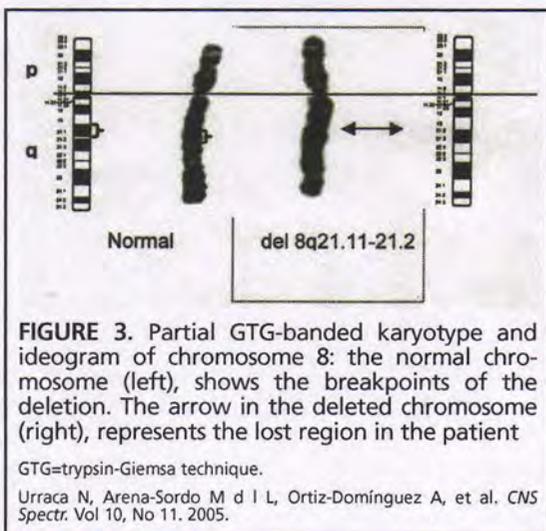
The association of psychosis and chromosomal aberrations is not new.<sup>16,17</sup> However, it is now an important strategy to propose new candidate genes predisposing to psychosis.

The psychiatric disorders defined by current diagnostic criteria may include a number of heterogeneous disease processes and identifying genes would be facilitated if it were possible to distinguish these different disease processes.<sup>5</sup>

It is necessary to emphasize the way a patient is studied, looking beyond than just a sign, symptom or apparently an isolated disease. Our patient highlights the importance of the cytogenetic study in psychiatric patients with comorbid mental retardation or minor anomalies, because when these abnormalities co-exist with psychiatric illness this may lead to a more accurate localization of disease genes.

There are regions in 8q showing a suggestive linkage for bipolar disorder<sup>18-20</sup> and for linkage or association by single marker transmission/disequilibrium testing for Tourette syndrome,<sup>21</sup> but none in 8q21 and neither for psychosis. An interesting finding is a linkage reported by Berrettini and colleagues<sup>22</sup> to bipolar disorder on 18p11.2, locus for myo-inositol monophosphatase 2 (IMAP2) gene, which has its homologue, IMA1, on 8q21. The overlap of genome regions implicated in bipolar disorder with those for schizophrenia, including 18p, raise the possibility that the same genes predispose to mental illness.<sup>23,24</sup>

The occurrence of psychosis in our case may be attributable to a gene located on the region 8q21; even though linkage studies have not been successful in this region. **CNS**



## REFERENCES

1. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 4th ed. text rev. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2000.
2. Nurberger J, Berrettini W. Psychiatric genetics. In: Ebert M, Loosen P, Nurcombe B, eds. *Current Diagnosis and Treatment in Psychiatry*, New York, NY: McGraw Hill; 2000:61-79.
3. Raynham H, Gibbons R, Flint J, Higgs D. The genetic basis of mental retardation. *QJM*. 1996;89:169-175.
4. Flint J. The genetic basis of cognition. *Brain*. 1999;122:2015-2031.
5. Thapar A, Clayton-Smith J. Genetics of mental retardation. In: McGuffin, Owen & Gottesman, eds. *Psychiatric Genetics and Genomics*. New York, NY: Oxford University Press. 2002:113-128.
6. Williams NM, Owen MJ. Genetic abnormalities of chromosome 22 and the development of psychosis. *Curr Psychiatry Rep*. 2004;6:176-182.
7. Boer H, Holland A, Whittington J, Butler J, Webb T, Clarke D. Psychotic illness in people with Prader Willi syndrome due to chromosome 15 maternal uniparental disomy. *Lancet*. 2002;359:135-136.
8. Reif A, Kress W, Wurm K, Benninghoff J, Pfuhlmann B, Lesch KP. Duplication 15q14→pter: a rare chromosomal abnormality underlying bipolar affective disorder. *Eur Psychiatry*. 2004;19:179-181.
9. Takhar J, Malla AK, Siu V, MacPherson C, Fan YS, Townsend L. An interstitial deletion of the long arm of chromosome 21 in a case of first episode of psychosis. *Acta Psychiatr Scand*. 2002;106:71-74.
10. Glass IA, Stormer P, Oei PT, Hacking E, Cotter PD. Trisomy 2q11.2→q21.1 resulting from an unbalanced insertion in two generations. *J Med Genet*. 1998;35:319-322.
11. Murphy KC, Owen MJ. Velo-cardio-facial syndrome: a model for understanding the genetics and pathogenesis of schizophrenia. *Br J Psychiatry*. 2001;179:397-402.
12. Goghelf D, Presburger G, Zohar A, et al. Obsessive-compulsive disorder in patients with velocardiofacial syndrome (22q11deletion) syndrome. *Am J Med Genet*. 2004;126B:99-105.
13. Fryburg J, Golden W. Interstitial deletion of 8q13.3-22.1 Associated with craniosynostosis. *Am J Med Genet* 1993;45:638-641.
14. Donahue M, Ryan R. Interstitial deletion of 8q21-22 associated with minor anomalies, congenital heart defect, and Dandy-Walker variant. *Am J Med Genet*. 1995;56:97-100.
15. Horn D, Krebsová A, Kunze J, Reis A. Homozygosity mapping in a family with microcephaly, mental retardation and short stature to a Cohen syndrome region on 8q21.2-8q22.1: redefining a clinical entity. *Am J Med Genet*. 2000;92:285-292.
16. Berlow S. Psychosis in a child with the XYY karyotype. *Proc Inst Med Clin*. 1969;27:210.
17. Abrams N, Pergament E. Childhood psychosis combined with XYY abnormalities. *J Genet Psychol*. 1971;118:13-16.
18. Avramopoulos D, Willour VL, Zandi PP, et al. Linkage of bipolar affective disorder on chromosome 8q24: follow-up and parametric analysis. *Mol Psychiatry*. 2004;9:191-196.
19. Cichon S, Schumacher J, Muller DJ, et al. A genome screen for genes predisposing to bipolar affective disorder detects a new susceptibility locus on 8q. *Hum Mol Genet*. 2001;6:2933-2944.
20. Liu J, Joo SH, Dewan A, et al. Evidence for a putative bipolar disorder locus on 2p13-16 and other potential loci on 4q31, 7q34, 8q13, 9q31, 10q21-24, 13q32, 14q21 and 17q11-12. *Mol Psychiatry*. 2003;8:333-342.
21. Simonis I, Nyholt DR, Gericke GS. Further evidence for linkage of Gilles de la Tourette syndrome (GTS) susceptibility loci on chromosomes 2p11, 8q22 and 11q23-24 in South African Afrikaners. *Am J Med Genet*. 2001;105:163-167.
22. Berrettini W, Ferraro T, Goldin L, et al. A linkage study of bipolar illness. *Arch Gen Psychiatry*. 1997;54:27-35.
23. Berrettini WH. Are schizophrenic and bipolar disorder related? A review of family and molecular studies. *Biol Psychiatry*. 2000;48:531-538.
24. Kelsoe J. Arguments for the genetics basis of bipolar spectrum. *J Affect Disord*. 2003;73:183-197.