

# El gen receptor a dopamina D4 y su asociación con los trastornos mentales

Ana Julia Aguirre-Samudio,\* Humberto Nicolini\*\*

\* Departamento de Genética Psiquiátrica.

\*\* Instituto de Psiquiatría Ramón de la Fuente.

## **DRD4 polymorphism and the association with mental disorders**

### **ABSTRACT**

*The dopamine D4 receptor (DRD4) is the most important gene in psychiatric genetics since its involvement in the physiology of behavior, pharmacology response and psychopathology. DRD4's sequence gene present some polymorphism such as in the exon 3 constituted from 2 to 10 copies of repetitive sequences of 48 base pair (bp), from class variable number tandem repeats (VNTR). An additional genetic variant in the exon 1 presents polymorphisms to 12 bp VNTR, and the variation -521 C by T of the promoter region. The -521 T allele can reduce the efficiency of the gene expression in comparison with the C allele. The DRD4 gene codes a protein transmembranal of 7 domains, distributed in front cortex, striatum, hypothalamus and hippocampus. This review discusses the biological significance of DRD4 gene and its perspective with emphasis on the impact of association studies in some illness mental and behavioral traits. The DRD4 polymorphism has been studied in association with illnesses like schizophrenia, attention deficit hyperactivity disorder (ADHD), obsessive-compulsive with tics, bipolar manic-depressive disorder, in addition behavioral traits such as novelty seeking. The DRD4 gene is a genetic marker that could play a role in etiology of different mental illness, and behavioral traits, and its polymorphism can be used in association studies, epigenetic and pharmacogenomic analysis for help to understand the genetics basis of both mental disorders and traits.*

**Key words.** DRD4. Receptor. Candidate gene. Polymorphism. Psychiatric disorder.

### **RESUMEN**

El gen receptor a dopamina D4 (DRD4) ha sido analizado por su estructura, su polimorfismo genético, su constitución proteínica, su distribución neuroanatómica y su respuesta farmacológica. La secuencia del gen DRD4 presenta varios polimorfismos, como del tipo número variable de repetidos en tándem (VNTR) en el exón 3, el VNTR de 12 pares de bases del exón 1 y el polimorfismo único de nucleótidos (SNP) de la región del promotor. El gen DRD4 codifica una proteína transmembranal de 7 dominios, que se distribuye en corteza frontal, en estriado, en hipotálamo y en el hipocampo. Esta revisión discute la importancia biológica del gen DRD4 y sus perspectivas ante nuevas áreas de investigación con énfasis en recientes estudios de asociación en diferentes enfermedades mentales y en comportamientos. El DRD4 es uno de los genes candidatos cuya variación polimórfica ha sido relacionada con algunos trastornos psiquiátricos como esquizofrenia, trastorno de déficit de atención e hiperactividad, obsesivo compulsivo con tics y trastorno por consumo de sustancias, así como con la característica de personalidad de búsqueda de la novedad. El gen DRD4 es un marcador genético y un modelo útil para estudios de asociación, epigenéticos y farmacogenómicos que buscan identificar el origen de trastornos psiquiátricos y comportamientos.

**Palabras clave.** DRD4. Receptor. Genes candidatos. Polimorfismo. Trastornos psiquiátricos.

### **INTRODUCCIÓN**

El sistema de neurotransmisión dopaminérgico es uno de los más importantes en el sistema nervioso central, ya que está involucrado en los procesos de la

cognición, la conducta y las emociones. Se ha postulado que los receptores a dopamina pueden estar asociados a un tipo de disfunción relevante para la manifestación de la etiopatogenia de los padecimientos psiquiátricos como la esquizofrenia y la depresión.

Se han identificado cinco receptores a dopamina (D1, D2, D3, D4 y D5), de los cuales D1 y D5 constituyen la familia D1, y los D2, D3 y D4 la familia D2, respectivamente, y fueron propuestos con base en su estructura/función, su respuesta farmacológica y su distribución anatómica en D1 y D2.<sup>1</sup>

El receptor D4 ha sido de gran interés para su estudio debido a su distribución neuroanatómica, a la respuesta farmacológica de antipsicóticos y a la presencia de polimorfismo del tipo VNTR (número variable de repetidos en tándem) en las secuencias que constituyen los exones y la región promotora del gen.

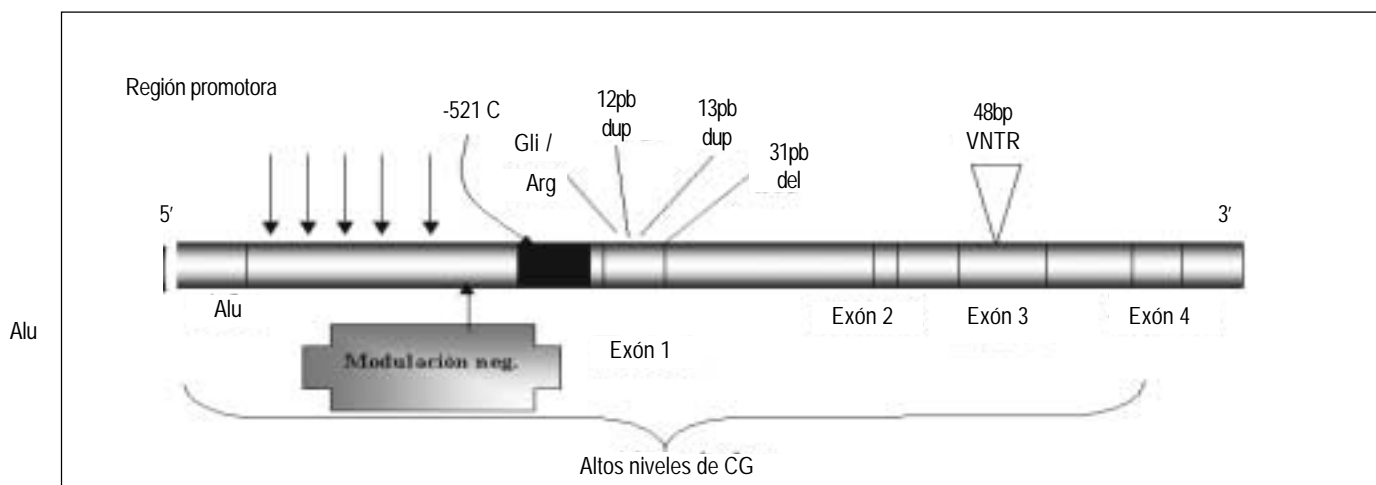
El gen receptor a dopamina D4 (DRD4) que codifica la expresión de la proteína transmembranal del receptor drd4, ha sido estudiado con respecto a sus variantes polimórficas tanto VNTR como SNP (polimorfismo único de nucleótidos), los cuales pueden emplearse como marcadores genéticos para establecer una asociación entre el padecimiento mental y el receptor. Un marcador genético es un elemento útil situable en un mapa del genoma y puede ser: Un gen, una secuencia marcada in situ (STS), un fragmento de DNA, un oligonucleótido o un sitio de restricción.<sup>2</sup> La presencia de variantes en la secuencia del DNA (variación alélica) dentro del genoma humano explica en parte las diferencias entre individuos. Esta variación consta de alrededor de 0.1% en la secuencia del DNA entre dos individuos. La identificación de polimorfismos en el genoma humano y el estudio de su herencia aportan marcadores genéti-

cos útiles para estudios de mapeo físico, mapeo genético y análisis de ligamiento.

La presente revisión tiene como objetivo informar acerca del estado actual del conocimiento y el estudio de los polimorfismos genéticos del gen DRD4, así como de la constitución estructural de su proteína, su relación funcional y como blanco de acción de fármacos en el tratamiento de los diversos trastornos mentales.

## ESTRUCTURA Y POLIMORFISMO DEL GEN DRD4

El gen DRD4 fue clonado<sup>3</sup> y mapeado en el brazo corto del cromosoma 11 (11p15.5)<sup>4</sup> y está constituido por 4 exones y 3 intrones (Figura 1). La secuencia nucleotídica del gen DRD4 presenta variantes o regiones polimórficas en el promotor y en los exones 1 y 3 (Figura 1). Un gen es polimórfico cuando presenta diferencias en la secuencia entre individuos. En una población, el polimorfismo se presenta cuando la frecuencia de los alelos de un gen varía al menos 0.01, de manera que los individuos heterocigotos portadores de uno de los alelos, pueden detectarse en 2% o más de la población.<sup>2</sup> El gen polimórfico puede ser un gen candidato a una enfermedad, el cual se asume que desempeña un papel importante en la función fisiológica y puede afectar el control genético, o considerarse como un gen marcador porque se ubica en un locus en el genoma o en un lugar cromosómico.



**Figura 1.** Estructura del gen receptor de dopamina D4 (DRD4). Esquematación de los sitios identificados como variantes polimórficas del gene en regiones como el promotor (caja negra), el extremo 5' al promotor, el exón 1 y el exón 3. Además, se representa una región con modulación negativa de importancia desconocida y una secuencia Alu, que son secuencias cortas dispersas de casi 300 pares de bases.<sup>11,36</sup> En general el gene DRD4 tiene un alto contenido de bases citosinas y guaninas (CG), importantes para las modificaciones epigenéticas en la expresión del gen.

Trastornos como la esquizofrenia, cuya etiología propuesta es la de una interacción de varios genes (herencia multifactorial de tipo poligénica) y de factores no genéticos, son analizados mediante estudios de asociación en una población. Esta estrategia examina la supuesta contribución de locus de genes candidatos en los trastornos psiquiátricos.

Estudios de cinética de reasociación de DNA en mamíferos han permitido identificar diferentes clases de secuencias presentes en el genoma nuclear, entre ellas las altamente repetidas que responden al grupo de DNA minisatélite. Se han descrito las frecuencias alélicas y patrones de variantes polimórficas correspondientes a VNTR y SNP presentes en la región promotora, en los exones 1 y 3 del gen DRD4 de diferentes grupos étnicos. La secuencia nucleotídica del exón 3 del gen DRD4 presenta una región polimórfica minisatélite o tipo VNTR con una unidad repetida de 48 pares de bases (pb), y con polimorfismos de 2 a 10 unidades repetidas.<sup>5,6</sup>

En la región promotora del DRD4 está presente un polimorfismo del tipo SNP en el sitio -521 (Figura 1), en el que hay un cambio o sustitución de citosina a timina (C-T).<sup>7</sup> La transición de C por T puede modificar los niveles de expresión del gen, esto ha sido demostrado mediante un ensayo de expresión en células de retinoblastoma humano, que expresan el gen DRD4. En el ensayo las células con el alelo T, redujeron la eficiencia de transcripción del gen,<sup>7</sup> lo que podría indicar que estas células tienen menor proporción de proteínas drd4 para su función. Otros polimorfismos de la región promotora han sido identificados empleando enzimas de restricción y obteniéndose fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP),<sup>8</sup> sin embargo, se desconoce si tiene un papel en la regulación del gen DRD4.

Otra región polimórfica de importancia por su posible papel en el mecanismo de traducción proteínica es la correspondiente al exón 1. Este exón presenta diferentes polimorfismos que codifican para cuatro aminoácidos en el extremo aminoterminal (región extracelular y dominios I y II y que funcionalmente pueden ser importantes en la unión a dopamina.<sup>9</sup> Se han descrito tres polimorfismos que incluyen: un VNTR de 12 pb, de 1 a 3 repetidas,<sup>10,11</sup> una delección de 13 pb en población caucásica europea,<sup>12</sup> y una delección de 21 pb<sup>13</sup> que podría codificar una proteína no funcional (Figura 1). El polimorfismo de 12 pb del exón 1 también ha sido descrito en otros primates de la familia de los póngidos (chimpancés, gorilas y orangutanes) con pocas diferencias interespecíficas,<sup>11</sup> lo cual permite establecer una relación filogenética y origen evolutivo en el hombre a partir de

una divergencia o secuencia ancestral presente en los póngidos.

## PROTEÍNA DRD4

La secuencia codificante del gen DRD4 regula la expresión de una proteína (drd4) de membrana, que está organizada topográficamente en 7 dominios, que podrían ser transmembranales (TM) (Figura 2). Mediante simulaciones con el programa SWISS-PROT se ha visto la conformación espacial de la proteína ([www.Genome.uci.edu/images/DRD4\\_4.gif](http://www.Genome.uci.edu/images/DRD4_4.gif)), pero aún no se ha representado por cristalografía de rayos X.

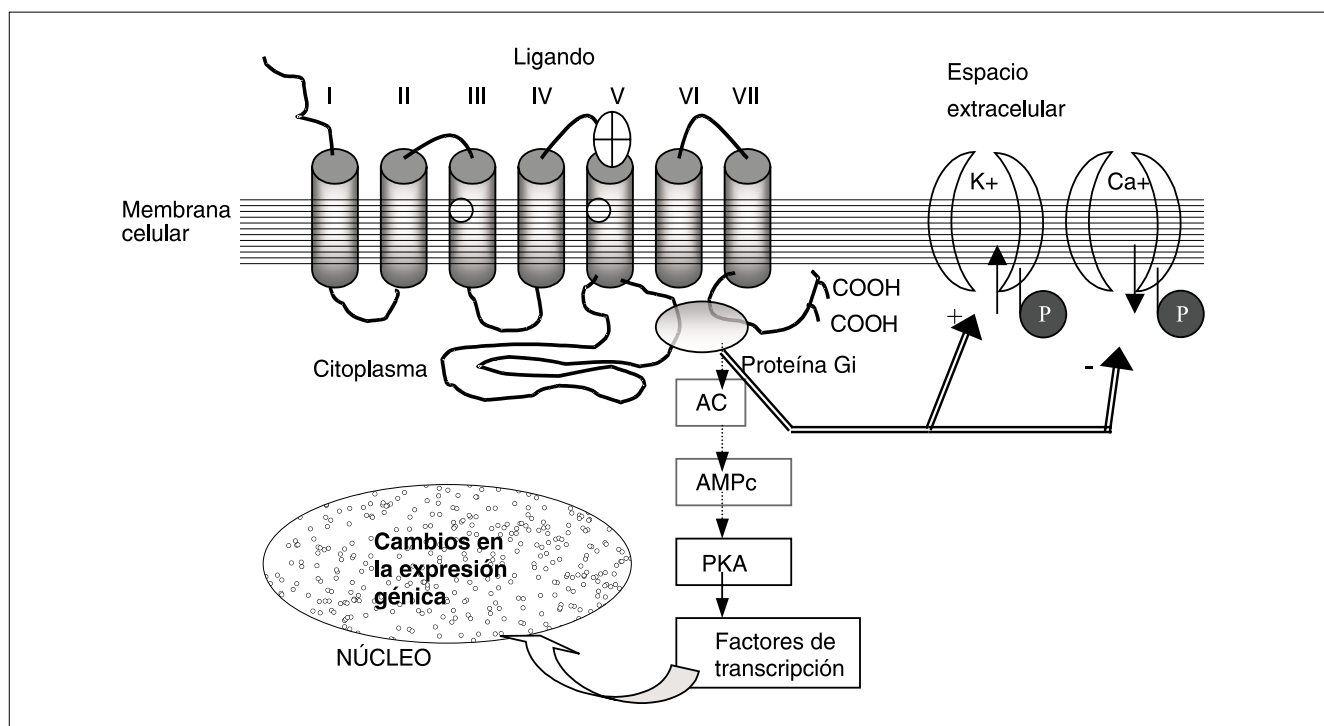
Los receptores dopaminérgicos tienen aminoácidos indispensables en la unión de ligandos como la asparagina en el dominio TM III y dos aminoácidos de serina en el dominio TM V, los cuales son cruciales en la unión de dopamina.<sup>14</sup> Se han aplicado técnicas como mutación dirigida, farmacología conformacional, unión de radioligandos y ensayos de segundos mensajeros, con el objetivo de esclarecer los dominios importantes en la unión de ligandos del drd4, lo que mostró que dos aminoácidos del lado extracelular del dominio TM II y III son críticos en la unión selectiva de drogas como la piperazina, el raclopride, así como de la dopamina.<sup>15</sup>

Los receptores drd4 también son importantes por su distribución anatómica, su RNA mensajero (RNAm) ha sido localizado en el hipotálamo, tálamo, bulbo olfatorio, hipocampo (partes del sistema límbico), regiones corticales, corteza frontal, lóbulos occipitales y cerebelo.<sup>16,17</sup> Esta distribución hace que su presencia en el cerebro sea un notable blanco de acción de fármacos en el tratamiento de enfermedades mentales.

## TRASTORNOS Y

### COMPORTAMIENTO ASOCIADOS AL DRD4

Estudios epidemiológicos realizados en familias, en parejas de hermanos gemelos y en sujetos dados en adopción, muestran la existencia de una influencia genética en el comportamiento. Las estrategias empleadas para conocer esta asociación son de ligamiento genético, asociación de alelos de genes candidatos, correlación cuantitativa entre caracteres o rasgos fenotípicos y su relación con la herencia multifactorial de tipo poligénico en el estudio de caracteres de loci cuantitativos (o *QTL*). Se han utilizado marcadores genéticos polimórficos en los genes candidatos que participan en la etiología de algunos trastornos psiquiátricos. El DRD4 es uno de los genes



**Figura 2.** El receptor a dopamina D4 y su función fisiológica. Los cilindros representan los dominios transmembranales I, II, III, IV, V, VI y VII. Los círculos blancos indican los aminoácidos críticos en la unión de dopamina al receptor. La elipse entre los dominios V y VII son los sitios de unión de la proteína Gi (inhibitoria). La unión de dopamina al receptor de dopamina D4 estimula a la proteína Gi que inhibe la formación de adenilil ciclasa (AC), AMP cíclico y proteína cinasa A (PKA). Las flechas indican la vía de activación de los canales de  $K^+$  y  $Ca^{2+}$  fosforilados (P) (modificado de Schetz y cols.<sup>15</sup> y Purves y cols.<sup>41</sup>).

candidatos propuestos en el estudio de las bases genéticas de distintos desórdenes psiquiátricos. En este sentido, la variante de 7 repetidas (r) del exón 3 del gen DRD4, está presente con mayor frecuencia en individuos con predisposición al consumo de drogas,<sup>18</sup> en pacientes con el trastorno obsesivo compulsivo (ver glosario para definición) con tics comórbidos<sup>19</sup> y en sujetos que muestran rasgos de gran impulsividad o Novelty Seeking (NS), una característica de la personalidad humana que presenta un comportamiento de impulsividad, explorativo o sensación de búsqueda de la novedad.<sup>20-22</sup>

Esta versión larga del polimorfismo del exón 3 también ha sido estudiada en pacientes con trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), el cual es más frecuente en niños y adolescentes, y como su nombre lo indica presentan un comportamiento de desatención y/o hiperactividad-impulsividad. Un metaanálisis sugirió que el TDAH estaba asociado significativamente con el alelo 7r.<sup>23</sup> De igual forma, la agrupación de los alelos largos de este mismo polimorfismo (de 6r a 8r) aumentó significativamente en una muestra de niños con consistente reporte de problemas de atención en relación

con la puntuación de la escala relacionada con los problemas de la atención.<sup>24</sup>

Teniendo en cuenta la relevancia del gen receptor DRD4 en las neuronas y su polimorfismo, es válido tratar de asociarlo con otros padecimientos mentales. Sin embargo, en un análisis por separado de sujetos que padecen de pánico<sup>25</sup> y de esquizofrenia<sup>26</sup> no se encontró asociación del alelo de 7r y estos padecimientos (Cuadro 1). En los trastornos psicóticos, cuya característica está en que el paciente presenta un cuadro de alucinación, delirio y/o pérdida del contacto con la realidad, el departamento de Genética Psiquiátrica realizó un estudio piloto de 37 pacientes. El reporte señala que el alelo de 4r estaba presente en 40% de los pacientes con primer episodio psicótico (con síntomas afectivos) frente a 84% de sujetos no afectados,<sup>27</sup> aunque es evidente que el resultado puede estar influenciado por el tamaño de la muestra y el bajo poder estadístico.

Por otra parte, se ha reportado una asociación entre el polimorfismo del exón 3 del DRD4 y los infantes que muestran una conducta de apego desorganizado (AD) hacia su madre. El apego se define como un sistema innato manifestado en momentos de ame-

naza ante la ausencia de la figura de apego primaria (materna), que evolutivamente es importante para la sobrevivencia de los recién nacidos.<sup>28</sup> Los infantes presentaban dificultad en resolver la ansiedad de la separación, la cual fue confirmada por indicadores fisiológicos. Este AD ha sido relacionado con problemas de comportamiento en niños y tendencias psicopatológicas (ver glosario) en adolescentes. Se ha descrito que el riesgo para infantes con AD que portan el alelo de 7r es de cuatro veces mayor. Además, la asociación entre AD y el alelo de 7r aumentó el riesgo en presencia del alelo -521 T de la región promotora<sup>29</sup> (Cuadro 1).

La característica de personalidad NS también ha sido muy estudiada en relación con la variante 7r o los alelos largos. En un grupo de 124 sujetos de origen israelí no relacionados familiarmente, Ebstein *et al.*<sup>20</sup> demuestran que individuos con alelos de 7r obtenían altos promedios de NS o de atracción a la novedad significativamente. Esta asociación fue independiente del rasgo étnico, sexo o edad de los sujetos. Benjamin *et al.*<sup>30</sup> corroboran estos hallazgos en individuos de origen estadounidense, coincidiendo con la asociación de NS y alelos largos del exón 3, y que dicha asociación es el resultado de la transmisión genética más que la estratificación de la población. Ono *et al.*<sup>31</sup> realizaron un estudio similar al de Ebstein en 153 mujeres japonesas y encontraron una

asociación con los alelos largos del exón 3. Estos resultados eliminaban la posible diferencia por el origen étnico. Sin embargo, algunos trabajos no han replicado estos estudios (Cuadro 1).<sup>32-35</sup> Los reportes son controversiales y demuestran una carencia de asociación entre las variables, lo cual podría deberse a un problema de ajuste metodológico en cada uno de los estudios.

De igual forma, el polimorfismo -521 C/T también ha presentado una asociación con sujetos NS, en sujetos de origen japonés. Individuos con el alelo C o con el alelo T mostraban un alto y bajo NS, respectivamente.<sup>8</sup> El estudio fue replicado en población húngara con mayor énfasis en mujeres.<sup>22</sup>

Este polimorfismo -521 C/T también ha sido estudiado en esquizofrénicos, los cuales presentan una frecuencia más alta del alelo C.<sup>7</sup> Sin embargo, otros grupos no han encontrado tal asociación tanto en esquizofrenia como en la característica de personalidad NS.<sup>36</sup>

La definición del fenotipo o la sintomatología psicológica es una alternativa en los estudios de asociación, el cual usa sólo los síntomas como lo sugiere Serretti *et al.*,<sup>37</sup> los cuales encontraron que el factor de alucinación en psicosis principal fue asociado con el alelo largo de 7r y la sintomatología. El inconveniente sería obtener el tamaño de muestra adecuado al poder estadístico.

**Cuadro 1.** Estudios de asociación basados en el gen candidato DRD4 para algunos padecimientos mentales y comportamientos.

Entidad clínica	Alelo	Localización en el gen	Asociación	Referencia
Obsesivo compulsivo con tics	7r	Exón 3	*Sí	19
T. déficit de atención e hiperactividad	7r	Exón 3	*Sí	23
	7r	Exón 3	No	26
Esquizofrenia	-521 C	Promotor	*Sí	7
	A1/A2	Exón 1	No	13
Trastorno de pánico	7r	Exón 3	No	25
Trastorno psicótico con síntomas afectivos	4r	Exón 3	*Sí	27
Desorden alucinatorio	A1	Exón 1	*Sí	10
Comportamientos				
	7r	Exón 3		
Buscadores de Novedad (NS)			*Sí	20, 30
	-521 C:		No	32, 33
	alto NS	Promotor	*Sí	8
Apego desorganizado	7r	Exón 3	*Sí	29
	-521 T	Promotor	*Sí	29
Problemas de atención en niños	Largos	Exón 3	*Sí	24

r: repetidas, alelos largos: de 6 a 8 r, A1 y A2: alelos repetidas de 12pb, exón 1, \* p: significativa ( $p \leq 0.05$ ).

En el caso del polimorfismo de 12 pb del exón 1 del DRD4, éste ha sido asociado al desorden de alcoholización en pacientes psicóticos.<sup>10</sup> También este polimorfismo ha sido estudiado en esquizofrénicos, pero sin resultados de asociación (Cuadro 1).<sup>13</sup>

Los estudios de asociación son muy reconocidos para localizar loci susceptibles y tienen más poder estadístico que los análisis de ligamiento basados en familias para la detección de efectos genéticos débiles. Además, los estudios de asociación presentan ventajas metodológicas de muestreo;<sup>38</sup> pero, a pesar de los resultados de asociación en diferentes padecimientos mentales y conductas, los resultados siguen siendo controvertidos. Los motivos pueden incluir diferencias por origen étnico o estructuración de la población, lo cual causaría resultados falsos positivos; asimismo, una *n* pequeña, efectos de deriva genética,<sup>39</sup> errores en la definición fenotípica, fallas técnicas o que el marcador del gen *drd4* esté interactuando con otro locus o genes.

Otro problema del diseño epidemiológico de los estudios de casos-control puede ser los errores de muestreo a causa de la falta de emparejamiento (*matching*) de las características genéticas, lo que podría aumentar la estratificación de la población. El objetivo del emparejamiento es mantener pocas diferencias alélicas entre los grupos, evitando el problema de la estratificación; sin embargo, emparejar todas las diferencias genéticas en una población es imposible, y se sustituye con emparejar el muestreo con características como proximidad geográfica, características físicas, no incluir en la muestra familiares sino población desconocida no relacionada. Aunque el emparejamiento epidemiológico es necesario no siempre es suficiente para controlar la estratificación, y en el caso de no contar con el emparejamiento, al menos se podría estimar estadísticamente las diferencias genéticas.<sup>38</sup>

## FARMACOLOGÍA

Un aspecto relevante del gen *drd4* radica en que la proteína codificada tiene sitios de unión a fármacos, que pueden ser útiles en el tratamiento de las enfermedades mentales. Y es que el receptor *drd4* se localiza en las áreas límbicas cerebrales y es un blanco para el diseño de drogas selectivas como los antipsicóticos.

Se ha descrito un modelo que explica el principio del efecto de los fármacos sintetizados con el propósito de que regule o estimule la unión de dopamina. La acción farmacológica del receptor *drd4* se basa en una cascada de activación proteínica, de este modo el

*drd4* actúa como aceptor de un ligando, activa a la proteína G, y disocia las subunidades de su estructura conformacional e inhibe la actividad de la enzima adenilciclase (AC) y del segundo mensajero AMPc (Figura 2), pero activa los canales iónicos.<sup>40,41</sup> Sin embargo, algunas variantes del DRD4 pueden tener respuestas diferentes. Experimentalmente se ha demostrado que el exón 3 con el polimorfismo de 2 repetidas puede bloquear la actividad de la AC.<sup>42</sup> Por el contrario, una variante larga de 7 repetidas de la misma región puede dar una respuesta reducida en cuanto al bloqueo de la AC y en la sensibilidad de unión del antipsicótico clozapina, lo que podría indicar una respuesta farmacológica diferencial de acuerdo con los polimorfismos del exón 3.<sup>6,43</sup>

## Antipsicóticos y el DRD4

El mecanismo de acción de los antipsicóticos (AP) es de gran interés debido a que pueden disminuir los síntomas psicóticos y porque son indicadores que determinan el uso racional de la medicación con respecto al trastorno que se presenta. La respuesta farmacológica es compleja debido a la selectividad de la droga, ya que puede tener varios sitios de unión en diferentes receptores no sólo de los dopaminérgicos, también de los  $\beta$ -adrenérgicos.

Las evidencias que sugieren la hipótesis de que la esquizofrenia se debe a un incremento del funcionamiento del sistema dopaminérgico, es consistente con la acción de los AP, como las fenotiacinas (clorpromacina). A pesar del efecto regulador de los síntomas, las fenotiacinas recetadas por periodos largos a esquizofrénicos, provocan reacciones secundarias como: efectos extrapiramidales (acinesia, rigidez muscular y finos temblores de reposo), distonías, acatisia, discinesia tardía, efectos atropínicos (boca seca, variabilidad en la frecuencia cardíaca), hipotensión y reacciones alérgicas.

En particular, los AP típicos que se unen a los *drd4* son la flufenacina, el haloperidol, el raclopride y los AP atípicos como la clozapina.<sup>44</sup> En especial, la clozapina muestra una alta selectividad por el receptor *drd4*, y es un AP del tipo dibenzodiazepina tricíclica usada en el tratamiento de la esquizofrenia, sobre todo en los pacientes que no responden a los AP típicos. La droga fue clasificada como un AP atípico porque provoca una menor incidencia de los síntomas extrapiramidales (EP) que los AP típicos. Sin embargo, se han reportado otros efectos secundarios como fatiga, salivación nocturna, aumento del apetito, hipotensión y taquicardia ligera, pérdida de la libido, galactorrea, agranulocitosis (con clozapina).<sup>45</sup> La utilización

de los AP en esquizofrenia es lo más adecuado, pero algunos psiquiatras recomiendan la medicación de antiparkinsonianos si se presentan los síntomas EP en los pacientes tratados con elevadas dosis de AP, pero sólo hasta que se presenten estos síntomas.<sup>46</sup>

## PERSPECTIVAS

Con la secuenciación del genoma humano se han podido descubrir una serie de genes que causan o contribuyen a las enfermedades humanas. Las enfermedades complejas como las psiquiátricas son difíciles de definir en su origen, debido a que tienen una base genética y ambiental en donde múltiples genes podrían contribuir a la etiología de estos padecimientos. La característica de complejidad en la enfermedad hace referencia a la presencia de un componente heredable, y es muy probable que no cumplan con los criterios de herencia descritas como las leyes de Mendel.<sup>47</sup> Dada la complejidad, se pueden emplear diseños eficientes como los estudios de asociación (EA). Con estos EA, en población general, se pueden obtener muestras grandes para incrementar el poder estadístico. Los EA abordan un modelo que incluye factores tanto genéticos como ambientales y capturan mucha variabilidad de la población. Sin embargo, los EA han sido controvertidos entre la esquizofrenia y el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) y los genes candidatos polimórficos como el DRD4. La razón de la controversia puede deberse a que las poblaciones humanas exhiben una subestructura por apareamiento no al azar, tales como aquellas que están basadas en la proximidad o cultura. La subestructuración o estratificación podría reducirse con estudios de asociación cuya muestra se base en familiares, en esto consiste el método del control genómico (CG).<sup>48</sup> En el CG se utilizan estudios de familia de tríos (padre, madre y progeñie afectada). El CG es un elemento apropiado para métodos basados en familias y para el análisis de características complejas como la de los trastornos psiquiátricos;<sup>49</sup> no obstante, la obtención de este tipo de muestra resulta difícil por la accesibilidad de los familiares.

Los factores ambientales también podrían predisponer a padecer trastornos mentales. En este sentido, en la esquizofrenia se han propuesto varias hipótesis como traumas intrauterinos y del nacimiento, problemas del neurodesarrollo,<sup>50</sup> exposición prenatal a infecciones virales;<sup>51,52</sup> y agentes retrovirales,<sup>53</sup> pero debido a la complejidad y a lo limitante de la metodología para investigar estas hipótesis, poco se ha logrado para entender la etiología. Algunos modelos

de esquizofrenia de neurodesarrollo e infecciones virales cerebrales en neonatos han tratado de explicar el fenómeno.<sup>54</sup> Sin embargo, cabe señalar que las evidencias de los efectos ambientales representan sólo una parte del origen del problema, puesto que también tienen influencia genética.

Una nueva área de investigación como la epigenética propone que los genes implicados en la esquizofrenia pueden estar alterados en su expresión fenotípica. La epigenética es la rama de la biología del desarrollo que investiga el mecanismo por el cual cambios heredables en la expresión del gen ocurren sin que cambie el material genético. La variación epigenética puede estar dada por la adición de grupos metilo y acetilo en la estructura del DNA o en la cromatina impidiendo que se expresen los genes. Pero se desconoce cuánto puede influir el ambiente sobre este fenómeno. Se ha sugerido que mecanismos epigenéticos pueden tener un papel importante en el desarrollo de la esquizofrenia y psicosis.<sup>47</sup> Sin embargo, en la psiquiatría el análisis epigenético todavía está muy pobremente estudiado. En un intento por abordar este problema en nuestro laboratorio y bajo la asesoría del Dr. F. Recillas Targa, del Instituto de Fisiología de la Universidad Nacional Autónoma de México, llevamos a cabo ensayos preliminares de un estudio piloto de patrones epigenéticos en el gen DRD4 en pacientes psicóticos (esquizofrenia). Recientemente, Petronis *et al.*<sup>55</sup> en un estudio piloto con dos parejas de gemelos monocigóticos, describieron una variación epigenética (en metilación de citosinas) en el promotor del gen receptor D2. Los gemelos con esquizofrenia presentaban una disminución de los patrones de metilación en comparación con su par no afectado. Lo que podría sugerir una susceptibilidad a padecer la enfermedad asociada a los eventos epigenéticos, variación que ya ha sido descrita durante la tumorigénesis<sup>56</sup> y en algunos cánceres como el de colon.<sup>57</sup>

Al mismo tiempo, la farmacogenómica también puede emplearse en beneficio del tratamiento de los pacientes con trastornos mentales, ya que se fundamenta en los datos que aporta la biología molecular y los análisis de la genética de asociación, e identifica los genes que influyen en la respuesta al fármaco; aunque tradicionalmente esta estrategia usaba el metabolismo de los genes que influyen en la disposición de la droga. El estudio farmacogenómico puede predecir la respuesta a la droga, lo que conlleva a una farmacoterapia individualizada. Esto salvaría vidas, ahorraría costos de cuidados y mejoraría la calidad de vida de los pacientes. En la esquizofrenia, por ejemplo, el estudio farmacogenómico empieza con

la identificación del gen candidato y el mecanismo de acción de la clozapina.<sup>58</sup> El DRD4 es el primer gen candidato postulado en este estudio por su alta afinidad de unión a la clozapina y porque se cree que es crucial en la disfunción cognitiva de la esquizofrenia; sin embargo, no se ha encontrado asociación entre el polimorfismo del DRD4 y la respuesta a clozapina.<sup>59</sup> La controversia podría deberse a una falta de rigor científico en el diseño de protocolos de investigación y consistente definición de respuesta de la droga. Ésta es la oportunidad de la industria farmacéutica para que invierta en las líneas de investigación de la farmacogenómica, en busca de un producto clínico o directamente más eficiente de acuerdo con la variación genómica de los pacientes.

## CONCLUSIÓN

El gen receptor a dopamina por su característica estructural, genética, polimórfica y bioquímica del receptor, puede ser un modelo para determinar el origen o etiología de diferentes enfermedades psiquiátricas, además de su posible aplicación farmacológica, de acuerdo con la variación. Individuos con diferentes polimorfismos en las regiones exónicas y del promotor del gen DRD4 podrían estar asociadas a ciertos fenotipos del diagnóstico de padecimientos psiquiátricos y de comportamiento; por tanto, la forma de herencia de este gen resulta relevante tanto en la población en general así como en la población con algún trastorno mental. Otros factores no genéticos también deben tomarse en cuenta en la investigación del origen de los padecimientos como los estudios de la expresión del drd4, el análisis de la secuencia de su promotor y su regulación en la cromatina. Por todo lo mencionado previamente, el gen drd4 puede ser el objetivo de estudio en los análisis de asociación, epigenéticos y farmacogenómicos, ya que es un gen candidato para varios trastornos mentales y comportamientos.

## AGRADECIMIENTOS

A la asistencia del Dr. Carlos Cruz y al Dr. Mario Cásarez por sus sugerencias en la elaboración de este manuscrito.

## GLOSARIO

- **Alelo:** forma alternativa de un gen o de una secuencia de DNA en un locus determinado.
- **Clonación:** de un gen, es la inserción en una célula, de manera que todas las células derivadas de ésta llevan el gen incorporado.
- **Cromatina:** complejo formado por DNA y proteínas presente en el núcleo celular.
- **Deleción:** pérdida de un segmento de DNA en un cromosoma.
- **Dominio:** porción de una proteína con función o característica estructural propia.
- **Esquizofrenia:** entidad clínica que se caracteriza por alteraciones psicóticas que comienzan generalmente en la adolescencia, persiste durante por lo menos seis meses e incluye por lo menos un mes de síntomas de la fase activa (dos [o más] de: ideas delirantes, alucinaciones, lenguaje desorganizado, comportamiento gravemente desorganizado o catatónico y síntomas negativos).
- **Exón:** secuencia codificante de un gen, unidos constituyen el RNAm maduro.
- **Fenotipo:** unión de todas las características observadas en un individuo, determinadas tanto por los genes como por el ambiente.
- **Gemelos monocigóticos:** gemelos desarrollados a partir de un solo óvulo fecundado por un espermatozoide, tienen la misma constitución genética y el mismo corión. Aunque existen diferencias pequeñas en las secuencias de DNA.
- **Genoma:** dotación génica o secuencia DNA característica de una especie.
- **Herencia multifactorial:** hipótesis propuesta por R.A. Fisher, para explicar la variación cuantitativa asumiendo la interacción de un gran número de genes (poligenes) cada uno con un efecto aditivo en el carácter.
- **Intrón:** secuencia de DNA que es transcrita, pero que es eliminada en el proceso de maduración del RNAm maduro.
- **Ligamiento genético:** proximidad entre dos o más genes o marcadores en un cromosoma, identificado a través de análisis genético por la ausencia o disminución del número de recombinaciones meióticas entre ellos.
- **Locus:** sitio o posición en un cromosoma. En plural loci.
- **Mapeo genético:** mapa construido mediante el análisis de ligamiento.
- **Mapeo físico:** mapa de la distancia física entre distintos marcadores.
- **Neurotransmisión:** proceso mediante el cual se liberan neurotransmisores por las terminaciones sinápticas con el propósito de transmitir información de una célula nerviosa a otra.
- **Oligonucleótido:** secuencia corta de DNA.
- **Polimorfismo:** diferencias en la secuencia de DNA entre individuos. Presencia de dos o más alelos en la población.



- **Promotor:** secuencia adyacente a la región transcrita de un gen, generalmente en la región 5' y de unos 100 pb a 1 kb a la que se unen factores de transcripción y polimerasa para iniciar la transcripción.
- **Psicopatología:** estudio sistemático de las enfermedades mentales en general.
- **Psicosis:** deterioro del funcionamiento mental a tal grado que interfiere con la capacidad del individuo para enfrentarse a las demandas ordinarias de la vida. Se caracteriza por delirio, alucinación, trastornos afectivos, introspección profunda y pérdida del contacto con la realidad.
- **RNA mensajero:** (RNAm) es el intermediario entre el DNA y las proteínas. Se sintetiza como una molécula de una hebra a partir del DNA, el proceso es la transcripción.
- **Psicosis afectiva:** psicosis con episodios de depresión extrema o negativismo.
- **Sistema límbico:** estructuras corticales y subcorticales relacionadas con las emociones, actividad sexual, aprendizaje y memoria.
- **Trastorno obsesivo compulsivo:** entidad clínica que se manifiesta por la presencia de ideas persistentes, o con pensamientos, imágenes o impulsos sin voluntad. Se manifiestan de forma repetitiva y por periodos largos de tiempo, llegando en ocasiones a la incapacidad.
- **TDAH:** la característica esencial del trastorno por déficit de atención con hiperactividad es un patrón persistente de desatención y/o hiperactividad-impulsividad, que es más frecuente y grave que el observado habitualmente en sujetos de un nivel de desarrollo similar. Algunos síntomas de hiperactividad-impulsividad o de desatención causantes de problemas pueden aparecer antes de los siete años de edad.
- **Traducción:** proceso mediante el cual se expresan los genes, por medio de una hebra de RNA mensajero, el cual determinará la secuencia de aminoácidos en las proteínas.

#### REFERENCIAS

1. Kebabian J, Calne D. Multiple receptors for dopamine. *Nature* 1978; 277: 333-40.
2. Oliva R. Genoma humano. Barcelona: Masson, S.A.; 1996, p. 53-5.
3. Van Tol HHM, Bunzow JR, Guan H, Sunahara R, Seeman P, Niznik HB, Civelli O. Cloning of a human dopamine D4 receptor gene with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature* 1991; 350: 610-14.
4. Gerlenter J, Kenedy J, Van Tol H, Civelli O, Kidd K. The D4 dopamine receptor (DRD4) maps to distal 11p close to HRAS. *Genomics* 1992; 13: 208-10.
5. Lichter JB, Barr CL, Kennedy J, Van Tol H, Kidd K, Livak K. A hypervariable segment in the human dopamine receptor D4 (DRD4) gene. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 767-73.
6. Van Tol HHM, Wu CM, Guan H-CH, Ohara K, Bunzow JR, Civelli O, Kennedy J, Seeman P, Niznik HB, Jovanovic V. Multiple dopamine D4 receptor variants in the human population. *Nature* 1992; 358: 149-52.
7. Okuyama Y, Ishiguro H, Toru M, Arinami T. A genetic polymorphism in the promoter region of DRD4 associated with expression and schizophrenia. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 258: 292-5.
8. Okuyama Y, Ishiguro H, Nankai M, Shibuya H, Watanabe A, Arinami T. Identification of a polymorphisms in the promoter region of DRD4 associated with the human novelty seeking personality trait. *Mol Psychiatry* 2000; 5: 64-9.
9. Schetz J, Benjamin P, Sibley D. Nonconserved residues in the second transmembrane- spanning domain of the D4 dopamine receptor are molecular determinants of D4 -selective pharmacology. *Mol Pharmacol* 2000; 57: 144-52.
10. Catalano M, Nobile M, Novelli E, Nöthen M, Smeraldi E. Distribution of a novel mutation in the first exon of the human dopamine D4 receptor gene in psychotic patients. *Biol Psychiatry* 1993; 34: 459-64.
11. Seeman M, Chang FM, Deinard A, Quiñones A, Kidd K. Evolution of exon 1 of the dopamine D4 receptor (DRD4) gene in primates. *J Exp Zool* 2000; 288: 32-8.
12. Nöthen MM, Cichon S, Hemmer S, Hebebrand J, Remschmidt H, Lehnkuhl G, Poustka F, Schmidt M, Catalano M. Human dopamine D4 receptor gene: frequent occurrence of a null allele and observation of homozygosity. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 2207-12.
13. Cichon S, Nöthen M, Catalano M, Di Bella D, Maier W, Lichtermann D, Minges J, Albus M, Borrmann M, Franzek E, Stöber G, Weigelt B, Körner J, Rietschel M, Propping P. Identification of two novel polymorphisms and a rare deletion variant in the human dopamine D4 receptor gene. *Psychiatric Genet* 1995; 5: 97-103.
14. Strader CD, Candelore M, Hill WS, Sigal IS, Dixon RA. Identification of two serine residues 79 and 113 of the beta-adrenergic receptor have different roles in receptor function. *J Biol Chem* 1989; 263: 13572-8.
15. Schetz J, Benjamin P, Sibley D. Nonconserved residues in the second transmembrane- spanning domain of the D4 dopamine receptor are molecular determinants of D4 -selective pharmacology. *Mol Pharmacol* 2000; 57: 144-52.
16. Berger MA, Defagot M, Villar MJ, Antonelli M. D4 dopamine and metabotropic glutamate receptors in cerebral cortex and striatum in rat brain. *Neurochem Res* 2001; 26: 345-52.
17. Mulcrone J, Kerwin RW. The regional pattern of D4 gene expression in human brain. *Neuroscience Letters* 1997; 234: 147-50.
18. Vanderberg DJ, Rodriguez L, Hivert E, Schiller J, Villareal G, Pugh E, Lachman H, Uhl GR. Long forms of the dopamine receptor (DRD4) gene VNTR are more prevalent in substance abusers: no interaction with functional alleles of the catechol-O-methyltransferase (COMT) gene. *Am J Med Genet* 2000; 96: 678-83.
19. Cruz C, Camarena B, King N, Páez F, Sidenberg D, De La Fuente JR, Nicolini H. Increased prevalence of the seven-repeat variant of the dopamine D4 receptor gene in patients with obsessive-compulsive disorder with tics. *Neuroscience Lett* 1997; 231: 1-4.
20. Ebstein RP, Novick O, Umansky R, Priel B, Osher Y, Blaine D. Dopamine D4 receptor (D4DR) exon III polymorphism associated with the human personality trait of novelty seeking. *Nature Genet* 1996; 12: 78-80.

21. Cloninger CR, Adolfsson R, Svrakic N. Mapping genes for human personality. *Nature Genet* 1996; 12: 3-4.
22. Ronai Z, Szekely A, Nemoda Z, Lakatos K, Gervai J, Staub M, Sasvari-Szekely M. Association between novelty seeking and the -521 C/T polymorphisms in the promotor region of the DRD4 gene. *Mol Psychiatry* 2001; 6: 35-8.
23. Faraone S, Doyle A, Mick E, Biederman J. Meta-analysis of the association between the 7-repeat allele of the dopamine D4 receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry* 2001; 158: 1052-7.
24. Schmidt L, Fox N, Perez-Edgar K, Hu S, Hamer D. Association of DRD4 with attention problems in normal childhood development. *Psychiatric Genet* 2001; 11: 25-9.
25. Hamilton SP, Haghighi F, Heiman GA, Klein DF, Hodge SE, Fyer AJ, Weissman MM, Knowlws JA. Investigation of dopamine receptor (DRD4) and dopamine transporter (DAT) polymorphisms for genetic linkage or association to panic disorder. *Am J Med Genet* 2000; 96: 324-30.
26. Nanko S, Hattori M, Ikeda K, Sasaki T, Tazamatsuri H, Kuwata S. Dopamine D4 receptor polymorphism and schizophrenia. *Lancet* 1993; 341: 689-90.
27. Rinetti G, Camarena B, Cruz C, Apiquian R, Fresan A, Paez F, Nicolini H. Dopamine D4 receptor (DRD4) gene polymorphism in the first psychotic episode. *Arch Med Res* 2001; 32: 35-8.
28. Palacios Cruz L. Usando la teoría del apego para entender la conducta mórbida. *Información Clínica* 2003; 9: 50-1.
29. Lakatos K, Nemoda Z, Toth I, Ronai Z, Ney K, Sasvari-Szekely M, Gervai J. Further evidence for the role of the dopamine D4 receptor (DRD4) gene in attachment disorganization: interaction of the exon III 48 bp repeat and the -521 C/T promoter polymorphisms. *Mol Psychiatry* 2002; 7: 27-31.
30. Benjamin J, Li L, Patterson C, Greenberg B, Murphy D, Hamer D *et al*. Population and familial association between the D4 dopamine receptor gene and measures of novelty seeking. *Nature Genet* 1996; 12: 81-4.
31. Ono Y, Manki H, Yoshimura K. Association between dopamine D4 receptor exon III polymorphism and novelty seeking in Japanese subjects. *Am J Med Genet* 1997; 74: 501-3.
32. Malhotra A, Virkkunen M, Rooney W, Eggert M, Linnoila M, Goldman D. The association between the dopamine D4 receptor (D4DR) 16 amino acid repeat and novelty seeking. *Mol Psychiatry* 1996; 1: 388-91.
33. Jönsson E, Noten M, Gustavsson J, Neidt H, Brené S, Tylec A, Propping P. Lack evidence for allelic association between personality traits and the dopamine D4 receptor gene polymorphisms. *Am J Psychiatry* 1997; 154: 697-9.
34. Sullivan P, Fifield W, Kennedy M, Mulder R, Sellman J, Joyce P. No association between novelty seeking and the type 4 dopamine receptor gene (DRD4) in two New Zealand samples. *Am J Psychiatry* 1997; 155: 98-101.
35. Schinka J, Letsch E, Crawford F. DRD4 and novelty seeking: results of meta-analyses. *Am J Med Genet* 2002; 114: 643-8.
36. Mitsuyasu H, Hirata N, Shibata H, Takeda Y, Ninomiya H, Kawasaki H, Tashiro N, Fukumaki Y. Association analysis of polymorphisms in the upstream region of the human dopamine D4 receptor gene (DRD4) with schizophrenia and personality traits. *J Hum Genet* 2001; 46: 26-31.
37. Serretti A, Lilli R, Lorenzi C, Lattuada E, Smeraldi E. DRD4 exon 3 variants associated with delusional symptomatology in major psychoses: A study on 2,011 affected subjects. *Am J Med Gen* 2001; 105: 283-90.
38. Cardon L, Palmer L. Population stratification and spurious allelic association. *Lancet* 2003; 361: 598-604.
39. Hedrick P. Genetic of Populations. Massachusetts: Jones and Bartlett Publishers; 2000, chap. 6.
40. Longstaff A. Neuroscience. UK: Springer – Verlag New York Inc.; 2000, p. 250-4.
41. Purves D, Augustine G, Fitzpatrick D, Katz L, Lamantia A, McNamara J. Invitación a la neurociencia. Buenos Aires Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2001, p. 152-7.
42. Bouvier C, Bunzow J, Guan HC, Unteutsch, Civelli O, Grandy D, Van Tol HH. Functional characterization of the human dopamine D4.2 receptor using vaccinia virus as an expression system. *Eur J Pharmacol* 1995; 290: 11-17.
43. Asghari V, Sanyal S, Buchwaldt S, Paterson A, Jovanovic V, Van Tol H. Modulation of intracellular cyclic AMP levels by different human dopamine D4 receptor variants. *J Neurochem* 1995; 65: 1157-65.
44. Tarazi F, Baldesarini R. Brain dopamine D4 receptors: basic and clinical status. *Int J Neuropsychopharmacol* 1999; 2: 41-58.
45. Kikergaard A, Hammershoj E, Ostergard P. Evaluation of side effects due to clozapine in long-term treatment of psychosis. *Arzneim-Forsch/drug Res* 1982; 32: 465-8.
46. Gutiérrez SF. Tratamiento actual con antipsicóticos de la esquizofrenia. *Farm Hosp* 1998; 22: 207-12.
47. Petronis A. The genes for major psychosis: aberrant sequence or regulation? *Neuropsychopharmacol* 2000; 23: 1-12.
48. Devlin B, Roeder K. Genomic control for association studies. *Biometrics* 1999; 55: 997-1004.
49. Bacanu S, Devlin B, Roeder K. The power of genomic control. *Am J Human Genet* 2000; 66: 1933-44.
50. Liebermann JA, Sheitman BB, Kinon BJ. Neurochemical sensitization in the pathophysiology of schizophrenia: Deficits and dysfunction in neuronal regulation and plasticity. *Neuropsychopharm* 1997; 17: 205-29.
51. Fatemi SH, Emamian ES, Sidwell RW, Kist DA, Stary JM, Earle JA, Thuras P. Human influenza viral infection in utero alters glial fibrillary acidic protein immunoreactivity in the developing brains of neonatal mice. *Mol Psychiatry* 2002; 7: 633-40.
52. Chen CH, Chiu YL, Shaw CK, Tsai MT, Hwang AL, Hsiao KJ. Detection of Borna disease virus RNA from peripheral blood cells in schizophrenic patients and mental health workers. *Mol Psychiatry* 1999; 4: 566-640.
53. Karlsson H, Bachmann S, Schroder J, McArthur J, Fuller Torrey E, Yolken R. Retroviral RNA identified in the cerebrospinal fluids and brains of individuals with schizophrenia. *PNAS* 2001; 98: 4634-9.
54. Aitta-aho T. Neonatal viral brain infection and the development of prepulse inhibition: A neurodevelopmental model schizophrenia. *Pro gradu*. Sweden: Department of Pharmacy, University of Helsinki; 2003.
55. Petronis A, Gottesman I, Kan P, Kennedy J, Basile V, Paterson A, Pependikyte V. Monozygotic twins exhibit numerous epigenetic differences: clues to twin discordance? *Schizophrenia Bull* 2003; 29: 169-78.
56. Watson R, Curtin G, Doolittle D, Goodman J. Progressive alterations in global and GC- rich DNA methylation during tumorigenesis. *Toxicol Sci* 2003; 75: 289-99.
57. El-Osta A. DNMT cooperativity the developing links between methylation, chromatin structure and cancer. *Bioessays* 2003; 25: 1071-84.
58. Basile V, Masellis M, Potkin S, Kennedy J. Pharmacogenomics in schizophrenia: the quest for individualized therapy. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 2517-30.
59. Pickar D, Rubinow K. Pharmacogenomics of psychiatric disorders. *TIPS* 2001; 22: 75-83.

*Reimpresos:*

**M. en C. Ana Julia Aguirre-Samudio**  
Investigador Nacional del Instituto Nacional  
de Psiquiatría. Departamento de  
Genética Psiquiátrica,  
Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente.  
Calzada México-Xochimilco 101,

Col. San Lorenzo Huipulco, Tlalpan,  
14370 México, D.F.  
Tel.: 5655-2811 Ext. 123,  
Correo electrónico: ajua@servidor.unam.mx

*Recibido el 9 de diciembre de 2003.*

*Aceptado el 15 de abril de 2004.*