

La biología molecular en psiquiatría

Humberto Nicolini*
Vicente Madrid**

Summary

This is a review of the major national and international contributions from Molecular Biology to Psychiatry. We describe some basic concepts that will give the reader a better understanding of the current contributions, and will settle the theoretical basis for following for the literature in this field. So far, most of the findings have come from the following disorders: affective disorders, schizophrenia, alcoholism, anxiety and psychopharmacology. Some of the new methodological approaches, currently being evaluated, that will provide a much deeper knowledge in the molecular etiological mechanism of mental diseases are described.

Resumen

En el presente trabajo realizamos una revisión de las principales aportaciones, tanto nacionales como extranjeras, de la biología molecular a la psiquiatría. Se describen algunos conceptos fundamentales con el objeto de permitir al lector un entendimiento claro de las aportaciones actuales, y sentar las bases teóricas para el seguimiento de la literatura en el campo. Hasta ahora los hallazgos principales se han dado en las siguientes patologías: trastornos afectivos, esquizofrenia, alcoholismo, ansiedad y psicofarmacología. Finalmente, se describen algunas de las principales innovaciones metodológicas que se están llevando a cabo, y que seguramente se traducirán en la generación de un mayor nivel de conocimiento en cuanto a los mecanismos moleculares etiológicos en la patología mental.

Introducción

El campo de la biología molecular es muy amplio, y abarca una gran diversidad de estrategias metodológicas que tienen como objetivo el estudiar a las moléculas mínimas de la vida. En este sentido, con la explosión tecnológica que ha tenido el campo de la genética molecular en años recientes, resulta que al hablar de biología molecular, en el momento actual nos referimos, por consenso, al estudio y manipulación de los ácidos nucleicos contenidos en los genes.

En términos funcionales, un gen equivale a la información químico estructural contenida en el núcleo de las células y que al ser decifrada se traduce en una proteína o enzima. Este concepto se describió inicialmente hacia al año de 1941. A partir de esta fecha

hubo un progreso importante en el análisis del material genético, lo que propició, entre otros hallazgos, el descubrimiento de que los genes están compuestos por el ácido desoxirribonucleico (ADN).

El ADN, a su vez, lo constituyen una serie de moléculas químicas que son las siguientes: las bases púricas y las pirimídicas [la adenina (A), la timina (T), la citosina (C) y la guanina (G)], un azúcar (desoxirribosa) y un fosfato. Al conjunto de estos compuestos (una base, azúcar y fosfato) se le conoce como un nucleótido. Sin embargo, frecuentemente nos referiremos a ellos llamándoles de acuerdo a su base nitrogenada. Es decir que la unidad genética más simple sería el nucleótido, y estos al unirse forman al ADN, una secuencia de ADN forma un gen y los miles de genes que nos constituyen (junto con otros químicos como las proteínas y otros tipos de ADN) se agrupan en unas madejas dentro de la célula, que se llaman cromosomas. Los cromosomas se encuentran dentro del núcleo de la célula y sólo son visibles en ciertas fases del ciclo celular.

A manera de mayor clarificación podríamos hacer la siguiente analogía: supongamos que el planeta tierra es el equivalente a una de nuestras células (todas las células nucleadas del organismo tienen la misma información genética); un país sería el núcleo; un estado sería un cromosoma, una población sería un gen y los habitantes serían los nucleótidos.

A excepción de los gemelos monozigóticos no existen dos genotipos (configuración genética de un individuo) iguales, de tal manera que los nucleótidos constituyentes de los genes, proveen una base en donde se asientan las diferencias individuales y donde actúan las poderosas fuerzas de la evolución.

Existen 3×10^9 pares de bases (pb) de ácido desoxirribonucleico empaquetadas en 23 cromosomas. Una base nitrogenada, para fines prácticos, es lo mismo que un nucleótido; nos referimos entonces, a pares de bases, ya que la molécula de ADN se encuentra en forma de una doble hélice, es decir, cada base se encuentra unida a otra formando un par. El descubrimiento de este modelo estructural le valió el premio Nobel a Watson y Crick en los años cincuenta. La gran importancia de este descubrimiento fue, en primer lugar, el conocer el material fundamental donde se asienta nuestra información genética y, en segundo lugar, la estructura de la doble hélice permitió el poder decifrar el código genético (motivo, a su vez, de otro premio Nobel al Dr. Sanger). Una importante observación fue que estas dos cadenas se unían a través de puentes químicos entre los nucleótidos (o

* División de Investigaciones Clínicas, Unidad de Genética Molecular Psiquiátrica, PUIS-UNAM-Instituto Mexicano de Psiquiatría. Calz. México-Xochimilco 101, San Lorenzo Huipulco, 14370 México, D.F.

** Departamento de Inmunopatología, Instituto Nacional de Salud Pública. Av. Universidad 655, Sta. Martha Ahuacatlán, 62508. A.P. 222, Cuemavaca, Morelos.

bases nitrogenadas) y estos puentes siempre se establecían únicamente entre ciertos nucleótidos. En la molécula del ADN siempre se va a unir una C con una G y una A con una T. Más adelante se descubrió que una estructura celular llamada ribosoma unía a diferentes aminoácidos (los aminoácidos son los elementos químicos fundamentales de las proteínas y a su vez, las proteínas constituyen la principal estructura de la célula) cada vez que detectaba a 3 nucleótidos juntos. Posteriormente se descubrió que, dependiendo de la secuencia de estas tripletas de nucleótidos (codones) variaba el aminoácido. A su vez, el unir a diferentes secuencias de aminoácidos daba como resultado la estructura de diferentes proteínas, esto es la lectura del código genético. En la actualidad se conocen las combinaciones de nucleótidos que resultan de la unión de todos los aminoácidos esenciales, de manera que si de una proteína sabemos su secuencia de aminoácidos, es posible construir hipotéticamente la estructura de su gen, simplemente traduciendo la información de los aminoácidos en secuencias de nucleótidos o bases. Lo anterior ha hecho posible el identificar el sitio preciso dentro del genoma (*locus*) de gran cantidad de proteínas. La descripción de un *locus* consiste en decir el número de cromosoma (del 1 a al 23), si se encuentra en el brazo corto o largo (p o q) y, finalmente, la región o banda específica dentro del brazo del cromosoma. Estas bandas surgen en los cromosomas al tñirse con colorantes especiales. Por ejemplo el *locus* de la proteína de la mielina es 18q22, es decir que la secuencia de nucleótidos o bases de ADN que codifica para la proteína mielina, se encuentra en el cromosoma 18 en el brazo largo y en la banda 22.

Las células normales son diploides, es decir con dos copias de sus genomas, en 46 cromosomas. Si consideramos que algunas de las enfermedades que afectan a los seres humanos se deben a una alteración (mutación) en una base nitrogenada (pb), el poder encontrarla requiere de una amplia información de la ordenación y localización precisa de las bases en el genoma humano, en otras palabras, de un "mapa del genoma humano". Cabe mencionar que esta empresa es el gran proyecto de la ciencia de nuestros días, y que su financiamiento ha sido equivalente al que se gastó para poner al primer hombre en la luna.

La constitución genética de un individuo, o genotipo, se refleja de diferentes maneras en los seres vivos, tanto en proteínas que podemos identificar en el laboratorio, o bien como características que podemos ver o medir (el color de pelo o la talla). Otra de las expresiones del genotipo, y probablemente la más compleja, es el comportamiento. A la expresión del genotipo se le llama fenotipo; por lo tanto, si queremos estudiar las bases genéticas de una conducta, como la depresión o la esquizofrenia, nos referimos a ella como el fenotipo depresión.

Desde un punto de vista práctico, en el área de la genética de la conducta humana, resulta menos difícil el tratar de estudiar la influencia de los genes si partimos de los fenotipos anormales (enfermedades de la conducta), que si estudiamos los fenotipos normales de la conducta. La variabilidad humana afectaría se-

riamente la definición de normalidad, y nos plantearía serias dificultades metodológicas.

Lo más probable, es que las principales aportaciones para el entendimiento de la conducta humana partirán primero de identificar a los genes que provocan las conductas patológicas, donde cuando menos existe algún consenso en la clasificación y definición de las mismas.

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

La biología molecular en la psiquiatría abrió un nuevo camino para tratar de desentrañar la etiología cerebral de los trastornos mentales, por medio de la localización cromosómica de los genes causantes de los subtipos "puramente genéticos" de estas enfermedades.

El concepto de "mente", como producto de las funciones cerebrales, ha sido motivo de múltiples controversias. Desde los inicios de la psiquiatría, en que se constituyó como un campo distinto de conocimiento y práctica clínica, dos abordajes diferentes han competido para ser la mejor opción en el tratamiento y la búsqueda de la etiología en los trastornos mentales; el orgánico y el funcional.

El desarrollo epigenético del cerebro (el resultado de la interacción genotipo-medio ambiente) varía de manera importante entre los individuos, de tal manera que un número vasto de posibilidades se pueden presentar para las múltiples funciones del cerebro.

La gente aprende diferente, percibe diferente y piensa diferente, ya que sus cerebros se desarrollan dependiendo de las interacciones entre sus genotipos individuales y varias formas de estímulos ambientales.

Hasta el momento, sabemos poco de la manera en que prácticas de crianza, patrones de interacción familiar, estilo de vida, programas educativos y otros factores culturales interactúan con la constitución genética y dan como resultado los variados patrones del funcionamiento mental.

Una proporción importante de los millones de nucleótidos que constituyen nuestro genoma, está dedicada a codificar la programación del cerebro. Los nucleótidos dan el código que guía y pone los límites a la manera en que las células del cerebro maduran y establecen sinapsis, en respuesta a todo tipo de estímulos, tanto internos como externos (epigenesis).

Los nucleótidos determinan, además, nuestra sensibilidad a toda clase de estímulos y modulan la forma en como aprendemos a responder a ellos. Ante algunos estímulos parece como que no respondemos; y ante otros reaccionamos percibiendo sonidos, señales, sabores, cambios en la temperatura, etc.

A excepción de los gemelos monozigóticos no existen dos genotipos iguales, de tal manera que los nucleótidos que constituyen los genes proveen de una base donde se asientan las diferencias individuales y donde actúan las poderosas fuerzas de la evolución.

Una de las herramientas metodológicas fundamentales para aplicar la biología molecular a la medicina han sido los estudios de enlace génico (*linkage*). Estos son una mezcla de clínica taxonómica, epidemiología genética y biología molecular.

La biología molecular en psiquiatría ha abierto un nuevo camino para tratar de desentrenar la etiología bioquímico-molecular por medio de la localización cromosómica de los genes causantes de los subtipos "puramente genéticos" de enfermedades mentales.

La década de los años ochenta ha sido testigo de la explosión de la biología molecular dentro del campo de la clínica médica. Este significativo hecho ha generado una gran cantidad de conocimiento fundamental dentro de la etiopatogenia de un número importante de enfermedades.

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

La genética de la actualidad es la llamada genética reversa o clonación posicional donde es posible iniciar la búsqueda de las mutaciones directamente en los genes y no por medio de sus productos, como era la manera tradicional.

De esta manera es posible iniciar la investigación del defecto genético a través del mapeo cromosómico de los genes involucrados en la susceptibilidad de las diversas enfermedades mentales, y una vez localizados, clonarlos y estudiar sus productos, con el consecuente mejor entendimiento de la etiología, lo que repercutirá, a su vez, en el diseño de mejores herramientas terapéuticas.

Sin embargo, una línea de investigación tan interesante y prometedora como esta, no necesariamente es una tarea fácil. El mapeo molecular de los genes de las enfermedades mentales es una de las empresas más difíciles dentro del proyecto del genoma humano. El método de enlace génico ha demostrado ser una excelente herramienta para poder localizar los genes de un gran número de enfermedades mendelianas. Una característica particular de esta estrategia es la de ser especialmente útil en aquellas enfermedades donde existe poco o ningún conocimiento de su etiopatogenia (31).

La idea fundamental de los estudios de enlace génico es la de analizar la cosegregación de una enfermedad con un marcador polimórfico. La evidencia estadística del enlace génico es el índice lod. Este término que proviene de "logaritmo de las probabilidades" (*log of the odds*), se obtiene a partir de la división de la probabilidad de una familia bajo distintas estimaciones de la frecuencia de recombinación (medida indirecta de la distancia entre los genes), menores a la que se esperaría encontrar en el caso de que hubiera enlace (< 0.5), entre la probabilidad de misma familia bajo se-

gregación independiente; es decir a una frecuencia de recombinación de 0.5 o mayor. A este resultado se le calcula el logaritmo base diez, lo que permite sumar los resultados obtenidos en distintas familias.

El comité del mapeo del genoma humano ha establecido ciertos requisitos que tienen que ser cubiertos para poder asignar un *locus* determinado a un gen. Estos son: la evidencia significativa de enlace ($\text{lod} > 3$), y la replicación de este resultado encontrado por dos laboratorios distintos y de manera independiente.

Uno de los descubrimientos que hizo un gran impacto dentro de la genética molecular, fue el descubrimiento por Kan y cols. (21), del primer poliformismo dentro de la molécula del DNA. Este poliformismo se obtenía por medio del corte de enzimas de restricción generando fragmentos de tamaño variable (en inglés conocidos como *Restriction Fragments Length Polymorphisms*), estos fragmentos son heredados mendelianamente y se convirtieron en uno de los más importantes instrumentos en el mapeo de los genes (6).

Para el año 1981 se conocían 23 *loci* que contenían polimorfismos de DNA. Más adelante en 1989 se conocían ya 2,000 marcadores polimórficos de DNA, mismos que se compilaron en un catálogo (*Human Gene Mapping 9*) (20).

En el momento actual (1994), se conocen cerca de 4,000 de estos marcadores, distribuidos a largo de todo el genoma. Esta gran disponibilidad de marcadores genéticos, ha permitido el generar haplotipos de regiones cromosómicas, en particular, y de esta manera poder evaluar extensas áreas del genoma.

Por otro lado, en aquellas zonas del genoma donde se obtengan índices lod significativamente negativos ($Z = -2$) permiten, el generar mapas de exclusión, los cuales facilitan la tarea de búsqueda de los genes, debido a que hacen más pequeñas las búsquedas y es posible avocarse entonces, a las regiones donde no se ha buscado.

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

Por otro lado, la presencia de alteraciones cromosómicas concomitantes con ciertos trastornos psiquiátricos han proporcionado buenas pistas sobre cuáles pudieran ser los sitios más adecuados para empezar la búsqueda de los genes en cuestión.

Tal es el caso de la esquizofrenia y el cromosoma 5 o la trisomía 21 y la enfermedad de Alzheimer (2,32,42).

Trastornos afectivos

Egeland y cols (1987) publicaron un estudio sobre el enlace génico entre el supuesto gen del trastorno bipolar y dos marcadores del ADN (el gen de la insulina "INS" y un oncogen "HRAS"), ambos en el brazo corto del cromosoma 11. Con este estudio se inició

propiamente a la Genética Molecular Psiquiátrica. Sin embargo, al mismo tiempo se publicó un estudio en otras familias de pacientes bipolares (18) y poco después otro más (13) donde no se replicaron estos resultados, utilizando los mismos marcadores polimórficos de ADN. Estos resultados opuestos se interpretaron como heterogeneidad genética, es decir que enfermedades fenotípicamente iguales son causadas por diferentes mutaciones.

Kelsoe y cols. (22), publicaron un estudio de revaloración del estudio realizado por Egeland donde al agregar un mayor número de familiares, tanto sanos como afectados, lo mismo que dos sujetos anteriormente clasificados como sanos y que desarrollaron para la segunda valoración la enfermedad, hicieron que el índice *lod* (valor de significancia estadística que nos dice si dos genes se encuentran en enlace), después de haber sido altamente significativo perdiera validez estadística.

Por otro lado, al mismo tiempo que ocurrían estos sucesos en el cromosoma 11, Mendlewicz usando los marcadores CB y G6PD en el brazo largo del cromosoma X (26) y Baron (1987) usando los mismos marcadores encontraron índices *lod* superiores a 3 en ambos casos, cumpliendo con los criterios de asignación de una enfermedad a un *locus* en el genoma.

Sin embargo, otros grupos de investigadores como Berretini y cols. (1990) (4), no han sido capaces de replicar estos resultados utilizando familias con los mismos patrones de herencia (ligada al cromosoma X), lo mismo que diversos marcadores cromosómicos a las áreas del genoma referidas.

Esto se ha interpretado nuevamente como probable heterogeneidad genética, es decir, que a pesar de presentar fenotipos clínicamente idénticos y con patrones de herencia similares, la enfermedad no es causada por el mismo gen.

El estudio de Egeland y cols. (14) arrojó a la luz las principales dificultades en el mapeo de las enfermedades mentales, como son la no reproducibilidad por otros grupos de investigadores y aún dentro de la misma muestra, más extensa de las mismas familias (22), la heterogeneidad genética (forma autosómica y la ligada al cromosoma X del trastorno bipolar) (1,5,13,26) y los problemas clínicos en cuanto a la determinación de quién tiene la enfermedad (fenotipo).

En este sentido el diagnóstico de los trastornos afectivos no descansa en ningún correlato biológico si no que esencialmente en criterios clínicos, mismos que aunque son cada vez más confiables, todavía la validez es algo limitada.

Por otro lado, la presentación clínica de los padecimientos dentro de la misma familia van desde cuadros raros, muy severos, hasta trastornos afectivos menos severos, y que son relativamente frecuentes. Estos últimos cuadros es donde existe el riesgo de clasificar erróneamente al fenotipo y entonces funcionar este caso, en el análisis, como un falso positivo, es decir donde se considera erróneamente afectado. Por ejemplo, el trastorno bipolar tipo I (manía con episodios de depresión), que representaría un extremo del espectro y lo que sería depresión mayor como el otro extremo.

Otra complicación sería en el caso de aquellos padecimientos pertenecientes a otro tipo de padecimientos psiquiátricos como sería el trastorno esquizoafectivo y que se encuentran presentes en la misma familia.

También, la información clínica varía de manera muy importante entre los diferentes pacientes, tanto por la gran variedad de sintomatología presentada, edad de inicio variable, y curso de la enfermedad, como por la manera en que la información es recolectada, ya que en algunos casos, los diagnósticos no se basan en información por entrevista directa, sino en la información obtenida por otras fuentes, como son los archivos médicos, o bien la información proporcionada por otros parientes.

Un factor más, es el no reconocer a aquellos individuos que padecen la enfermedad, o bien que la han padecido en algún momento de su vida; estos casos serían falsos negativos. En algunos casos esta condición esta parcialmente contemplada en la genética considerándolos como sujetos con penetrancia incompleta, en quienes a pesar de tener el genotipo mutado, no manifiestan la enfermedad.

Por otro lado, la explicación alternativa a toda serie de hallazgos no complementarios, es que existan una serie de problemas más bien en el análisis de la información. No debemos olvidar que la estrategia del enlace génico es considerada, dentro de la genética matemática, como una estrategia paramétrica. Es decir que para que esta estrategia de análisis funcione de manera adecuada es necesario especificar una serie de parámetros como: modo de herencia, penetrancia, frecuencia de los alelos, y número de fenocopias entre otros. En muchas ocasiones estos datos tienen poco sustento y probablemente sean la causa de la no reproducibilidad de los resultados. Alternativamente, una estrategia que ayudaría a resolver este problema sería el emplear un método de análisis no paramétrico, por ejemplo el método de los "pares de parientes afectados". La desventaja de este tipo de metodología es que requiere muestras considerablemente más numerosas, de modo tal que la alternativa más viable para llevar a cabo estos estudios sean los proyectos multicéntricos.

Esta serie de complicaciones y problemas se han presentado en otras enfermedades mentales como lo veremos a continuación.

Esquizofrenia

Los estudios de mapeo genético molecular en la esquizofrenia surgieron después de un hallazgo citogenético donde se reportó una alteración en el cromosoma 5 que cosegregaba con la enfermedad, por lo que se procedió a llevar el mapeo con marcadores de ADN en esta región (2).

Poco tiempo después, se encontró evidencia significativa de enlace génico en un grupo de familias (39), pero hasta el momento y después de una gran cantidad de estudios similares no ha sido posible reproducir estos hallazgos por ningún otro grupo de investigación (23).

En la actualidad se han clonado varios genes cuyos productos (por ej. enzimas, receptores) son de especial relevancia para el funcionamiento del sistema nervioso central (SNC). Para algunos de ellos existe evidencia que sugiere que su mal funcionamiento puede contribuir al desarrollo de la esquizofrenia, y por esta razón, son interesantes genes candidatos para el mapeo molecular de la enfermedad. Entre algunos de estos genes tenemos a aquellos que pertenecen al sistema dopaminérgico.

La dopamina ha sido el neurotransmisor más comúnmente asociado con la patogénesis y síntomas de la esquizofrenia. Medicamentos que potencializan la acción dopaminérgica como las anfetaminas, empeoran los síntomas en los esquizofrénicos y producen psicosis parecidas a las de los esquizofrénicos en sujetos normales (41). Por otro lado, existe evidencia de que los medicamentos antipsicóticos ejercen su acción mediante el bloqueo de los receptores D2 (10).

En su forma original la hipótesis dopaminérgica de la esquizofrenia postulaba que existía un aumento en el tono dopaminérgico en la regulación de este neurotransmisor en distintas áreas cerebrales, especialmente la corteza mesolímbica, originada en el área tegmental ventral y que estaban asociadas con los síntomas de la enfermedad (10,38,41).

Esta hipótesis se ha modificado, y se postula un tono dopaminérgico disminuido (especialmente en la corteza prefrontal dorsolateral), lo que resulta en una relativa hiperactividad de estructuras subcorticales, secundarias a una alteración en la regulación de las vías descendentes corticales y subcorticales (4).

También se han evaluado otras metodologías para estudiar la función dopaminérgica en esquizofrénicos como son: las mediciones hormonales, evaluación de la actividad y número de receptores dopaminérgicos, y finalmente las determinaciones de los niveles de dopamina y sus metabolitos. Estos estudios han producido resultados inconsistentes, contradictorios y donde es difícil establecer qué tanto los efectos observados se deben a la medicación previa.

Hasta hace pocos años, solo se sabía de la existencia de dos subtipos de receptores dopaminérgicos (D1 y D2). Ambos receptores están acoplados a sus funciones efectoras específicas a través de las proteínas G (25). Los receptores D1 activan la enzima adenilato ciclasa e incrementan los niveles intracelulares de AMPc.

Los receptores D2 ejercen una influencia inhibitoria de esta enzima y se piensa que tal vez están acoplados a sistemas de segundos mensajeros como la inhibición de fosfatidil inositol, la activación de los canales de potasio y la inhibición de los canales de calcio (40,43).

En la actualidad, gracias a las técnicas de la biología molecular, ha sido posible identificar 5 subtipos de receptores a través de su secuencia de nucleótidos, en vez del criterio único de sus propiedades bioquímicas (40).

El receptor D2 fue el primero en ser clonado y, como consecuencia, es a la fecha el que mejor se ha estudiado. Este receptor tiene 7 dominios transmembranales, donde el N-terminal se encuentra localizado

en la superficie membranal, y el C-terminal en el citosol. Esta estructura se ha postulado para todos los receptores acoplados a proteínas G. Las áreas de mayor expresión de este gen, en el cerebro, corresponden a las principales proyecciones dopaminérgicas como el caudado, putamen, núcleo *accumbens* y el tubérculo olfatorio (24,47).

El gen del receptor D2 es único en el genoma; se han detectado la presencia de 8 exones y se encuentra en el cromosoma 11q22-23 (15).

En este mismo estudio se reporta que una secuencia de ADN que comprende: al exon 3' en su totalidad, una porción intrónica 5' y un fragmento 3' no codificador (λ -hD2G1), identifica un polimorfismo generado con la enzima TaqI y posee dos alelos; el alelo A1 con una banda de 6.6 Kb y una frecuencia del 25% y el alelo A2 que se presenta como 2 bandas de 2.9 y 3.7 Kb y con una frecuencia del 76%. Se han descrito también secuencias repetitivas en este gen, lo que hace posible generar secuencias iniciadoras (*primers*) para detectar polimorfismos por medio de la "Reacción en Cadena de la Polimerasa" (RCP) (J. Kennedy comunicación personal).

Otro receptor de gran importancia en la fisiopatología de la esquizofrenia es el D4. Este receptor, parece ser el sitio de acción de un antipsicótico no convencional, la clozapina, la que ha demostrado ser eficiente en el control de sintomatología psicótica y no producir síntomas parkinsonianos (45). El gen del receptor D4 se encuentra localizado en el cromosoma 11p15.5 y presenta también secuencias repetitivas que generan polimorfismos detectables por RCP (44).

La enzima tirosina hidroxilasa es otro elemento muy importante en el metabolismo dopaminérgico. Esta es la principal enzima limitante en el metabolismo de la dopamina (9). El gen que la codifica se ha identificado en el cromosoma 11p15.5 y presenta secuencias repetitivas que generan polimorfismos detectables por la RCP (36).

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

Nuestro grupo realizó un estudio de estos genes en pacientes esquizofrénicos mexicanos (28). En este estudio utilizamos fragmentos de ADN repetitivo dentro de los diferentes genes estudiados. El uso de este tipo de sondas de ADN es una estrategia de mapeo relativamente novedosa, que dadas las características de las sondas generan mucha mayor información polimórfica (16). Por otro lado, el uso de la tecnología de la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) permite estudiar a un mayor número de sujetos en menor tiempo. El problema principal de esta metodología es que para generar las secuencias iniciadoras (*primers*) es necesario conocer de antemano algo de la secuencia del gen que nos interesa, lo cual, limita en la actualidad, el número de sondas disponibles.

Este inconveniente dejará de serlo en el futuro, cuando se hayan secuenciado mayores porciones del genoma humano.

En todos los pacientes y en algunos de los familiares disponibles se llevó a cabo la determinación de sus genotipos para el receptor a dopamina D2, D4 y la enzima tirosina hidroxilasa. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

Se hicieron varios cálculos de los índices *lod*, asumiendo diferentes valores para la penetrancia (100,70, y 50).

No se encontró evidencia de enlace génico entre ninguno de los genes estudiados y esquizofrenia. Sin embargo, se pudo excluir significativamente al gen del receptor D2 como contribuyente a la susceptibilidad para la enfermedad, únicamente si consideramos una penetrancia del 100%. Con valores menores de la penetrancia, aunque los índices *lod* permanecen negativos, no alcanzan el nivel de significancia para exclusión de enlace.

Los genes del sistema dopaminérgico dado la evidencia psicofarmacológica, constituyen evidentes genes candidatos para el mapeo molecular de la esquizofrenia. Sin embargo, existen pocos estudios describiendo este hallazgo.

El receptor D2 a dopamina ha sido estudiado hasta el momento en 2 familias de esquizofrénicos, una de ellas proveniente de Suecia y la otra de California, como parte de un mismo estudio, y donde en el análisis realizado no sólo se encontró evidencia de enlace génico, sino que fue posible excluir de manera significativa esta región (27 centi-Morgans (cM) del *locus* del D2). En el análisis de enlace génico los parámetros empleados fueron una frecuencia de la enfermedad de acuerdo a la prevalencia en la población sueca, que es del 3% aproximadamente; varios valores de la penetrancia, que oscilaron desde 0.56 hasta 0.72; y una hipótesis de transmisión de tipo dominante (27). Este estudio difiere con el nuestro en cuanto a que la prevalencia de la enfermedad (frecuencia del alelo mutado) se consideró del 1%, que es la mundialmente establecida para esquizofrenia.

Otro grupo de investigadores (37) han estudiado la relación del gen del receptor D2 y la esquizofrenia. La metodología que emplearon fue el secuenciar directamente el gen del receptor D2 en 14 pacientes esquizofrénicos y 4 controles, sin encontrar diferencias estructurales.

El mejor conocimiento de los mecanismos dopaminérgicos ayudará a identificar la manera precisa en la cual ésta vía metabólica contribuye a la esquizofrenia. Por ejemplo, Pilowsky y cols. en 1992, demostraron, por medio de la técnica de tomografía por emisión de fotones únicos, un pobre bloqueo de los receptores D2, en pacientes que clínicamente respondieron a la droga clozapina. Este hallazgo genera dudas acerca del mecanismo por el cual los neurolépticos convencionales ejercen realmente su acción antipsicótica. En este sentido, se sabe que la clozapina actúa en otros receptores como: 5HT2, 5HT3 y D4 (46). Los receptores serotoninérgicos constituyen también, interesantes genes candidatos para el estudio de la esquizofrenia. Recientemente, Hallmayer y cols. (16), excluyeron como gen candidato al gen del receptor 5HT2 en una familia sueca con varios sujetos afectados con esquizofrenia.

Muchos de los genes de interés para la psiquiatría ya han sido clonados y algunos de ellos se encuentran en proceso de secuenciación como es el caso del receptor D4, la enzima tirosina hidroxilasa (TH) y la monoamino oxidasa (MAO), entre otros. Por lo que el uso de esta metodología promete ser de gran utilidad en este campo.

Alcoholismo

Para el alcoholismo existen resultados positivos de asociación para dos genes. El gen que codifica para colágena tipo 1 (el tipo más incrementado en fibrosis densa) uno de sus alelos (COL1 α 2) se presenta más frecuentemente en individuos alcohólicos con cirrosis que en alcohólicos sin cirrosis (48).

El otro gen con el que se ha encontrado una asociación es para el alelo A1 del receptor 2 a dopamina (5). Este estudio se realizó en 70 cerebros de pacientes alcohólicos y no alcohólicos. La presencia del alelo A1 clasificó adecuadamente al 77% de los alcohólicos y su ausencia clasificó al 72% de los no alcohólicos. También, este mismo grupo encontró una disminución en la constante de afinidad para este receptor, dependiente de la presencia del alelo A1 (33). Esta asociación se corroboró por otro grupo (35) pero únicamente cuando los pacientes alcohólicos habían presentado complicaciones médicas.

Recientemente, Comings y cols. (8) encontraron que la mayor prevalencia de este alelo no era exclusiva del alcoholismo y que también estaba presente en otros trastornos psiquiátricos como en el síndrome de Gill's de la Tourette, autismo y trastorno por déficit de atención con hiperactividad.

En la población mexicana, hemos estudiado la asociación, del polimorfismo Taq1 con el gen del receptor D2 a dopamina, en diferentes grupos de alcohólicos y en un grupo control (12). Nuestros resultados no apoyan esta asociación. Una diferencia en nuestro estudio es que la frecuencia del alelo A1 es una de las más elevadas (70%) de acuerdo a la literatura (7), y contrasta con la baja frecuencia encontrada en pacientes caucásicos (30%). Este hecho, realza la importancia del desarrollo de una epidemiología molecular propia de las poblaciones específicas de estudio, y señala también la probable heterogeneidad genética dada por la etnicidad.

Ansiedad

En esta área existen hasta nuestro conocimiento únicamente dos estudios. Uno de ellos realizado por el grupo de Crowe, en la Universidad de Iowa, donde encontraron un índice *lod* sugestivo de enlace ($Z = 1.8$, $U = 0.03$) para el trastorno de pánico para un gen en el cromosoma 16q22 (11), y el realizado por nuestro grupo en el trastorno obsesivo compulsivo, con un índice *lod* sugestivo de 1.2 para la región 4q12 (30).

Cabe señalar que estos estudios son preliminares y que los resultados hasta el momento, en el área del mapeo genético de los trastornos de ansiedad, permanecen en sus fases iniciales.

Genética molecular y psicofarmacología

Los nuevos antidepresivos como la fluoxetina, actúan principalmente en el sistema serotoninérgico y los tradicionales antidepresivos tricíclicos en los sistemas adrenérgicos. El hecho de que medicamentos que operan en sistemas diferentes lleguen a resultados similares, genera la hipótesis sobre si existe una vía bioquímica final común para la depresión. Esta vía pudiera radicar en cambios estructurales y bioquímicos a largo plazo, o bien, en los genes. En los cambios a largo plazo, el estrés parece ser un factor importante. Personas que han estado sujetas a situaciones de tensión crónicas, responden por medio de la secreción de glucocorticoides; este es uno de los indicadores biológicos ya conocidos en la depresión. El cortisol es un factor probablemente esencial en la exitosa adaptación al estrés, y se piensa que una de sus funciones es la contrarregulación, esto es, mantener a los sistemas de neurotransmisión dentro de los límites normales. Hay suficiente evidencia farmacológica de que los tres sistemas (el noradrenérgico, el serotoninérgico y el hormonal) trabajan juntos para modificar la transcripción de ciertos genes. Por otro lado, el electrochoque parece tener los mismos efectos químicos que los antidepresivos, y se piensa que su acción pudiera ser también mediante la alteración de la transcripción genética. Se ha demostrado en ratas, que el tratamiento electroconvulsivo altera la capacidad de respuesta del proto-oncogene c-fos. Estos hallazgos empiezan a generar otra vía de conocimiento mediante la cual podremos, en el futuro, saber los efectos específicos de los genes en la conducta y pudiera ser posible el hablar de terapia génica para algunos trastornos de la conducta (19). Este tipo de terapia se está estudiando para aplicarla a otras enfermedades, en que se han logrado efectos terapéuticos ya sea mediante el remplazamiento de genes o bien modificando las funciones de estos.

Conclusiones y consideraciones futuras

El desarrollo de diversas metodologías, principalmente la biología molecular, nos ha permitido dar un gran avance en el conocimiento de la genética de la conducta. Sin embargo, es necesario una mayor profundidad en nuestro conocimiento ya sea por la creación de metodologías diferentes o bien derivadas de las que estamos empleando, y que nos permitan adentrarnos de manera más sólida en los motivos biológicos de la conducta humana.

Un problema serio en el mapeo de las enfermedades mentales es que se presentan con una elevada frecuencia en la población, lo que se traduce en un alto número de fenocopias (formas no genéticas de la enfermedad), con patrones poco claros de herencia, problemas en la definición del fenotipo, heterogeneidad genética y ausencia de marcadores biológicos altamente específicos, que hacen la tarea mucho más difícil y, probablemente, fuera del alcance de las metodologías vigentes.

Las estrategias que se están empleando en el presente para tratar de solucionar estos problemas son: análisis de pares de familiares y pares de hermanos afectados, donde se necesitan muestras considerables y probablemente la mejor alternativa sean los estudios multinacionales. Sin embargo, es necesario hacer mención del reciente trabajo publicado por Hammer y cols. (17) en donde, empleando esta estrategia metodológica y en una muestra no tan elevada, fueron capaces de localizar un gen que da una importante susceptibilidad genética para el desarrollo de la homosexualidad.

Este trabajo resulta muy interesante desde varias perspectivas. En primer lugar, desde el punto de vista metodológico, el estudio emplea una variante de la estrategia de enlace génico, la cual se domina "El método de pares de hermanos". Las ventajas de este método, a diferencia del tradicional estudio a partir de grandes familias, es que no es necesario la especificación de varios de los parámetros, algunos de ellos indispensables para lograr un adecuado poder estadístico. De hecho, se ha sugerido que la causa por la cual se han obtenido resultados contrarios y no reproducibles en los estudios de mapeo de los genes para la esquizofrenia y los trastornos afectivos, recae en la inadecuada especificación de los parámetros empleados en el análisis del enlace génico.

Estos parámetros serían: definición del fenotipo clínico, modo de herencia, frecuencia de la enfermedad y fenocopias, y penetrancia del gen. De manera adicional se sabe que el método de "pares de hermanos", es capaz de detectar el efecto de un solo gen aun cuando estén interactuando otros genes o bien condiciones ambientales.

En el estudio de Hammer y cols. se logran salvar todas estas dificultades. El fenotipo se define claramente y con base a escalas de medición cuantitativas (escalas de Kinsey). El modo de herencia se definió por medio de la observación clínica de los patrones de herencia, los cuales mostraban, sin lugar a duda, un patrón de herencia ligado al X.

El principio de los estudios de "pares de hermanos afectados" consiste en que cada par, compartirá la mitad de su material genético, de modo que si se heredó una característica y su gen se encuentra en el cromosoma X, ésta debe localizarse dentro de las regiones compartidas, las cuales es posible identificarlas por medio de los marcadores polimórficos de ADN. Para la homosexualidad, este fue el resultado, donde los pares de hermanos homosexuales compartían 5 marcadores polimórficos cerca del telómero del brazo largo en el cromosoma X (Xq28). Dicha asociación generó un índice *lod* de 4.0, lo que indica posibilidades de 10,000 a 1 de que sea un hallazgo real.

Algunas otras metodologías en desarrollo, por ejemplo el análisis de la transmisión de las enfermedades psiquiátricas bajo modelos más complejos de herencia como *linkage* con dos *locus* principales, o genes modificadores en otros cromosomas, o bien un mapa del genoma con una resolución mayor a la ya alcanzada de 100cM, pueden tener un favorable impacto en el área.

Los estudios de asociación también constituyen una herramienta interesante, sobre todo en la búsqueda de genes candidatos (29).

Desde el punto de vista molecular lo que parece ser más promisorio es la detección de nuevos polimorfismos moleculares generados con la máquina llamada "reactor en cadena de la polimerasa" (RCP), utilizando elementos repetitivos del genoma y lo que hace posible generar sondas con mucho mayor poder polimórfico a los tradicionales PLFR.

Finalmente, el diagnóstico genético, en ocasiones prenatal de las enfermedades de aparición tardía, como son la mayoría de las psiquiátricas, tiene serias

implicaciones en cuanto a la calidad de vida del sujeto, como son: la estigmatización (social, económica debido a los seguros médicos, oferta de trabajo, etc.), planeación al futuro, capacidad reproductiva e, incluso en el caso del diagnóstico prenatal trae el difícil dilema ético del aborto.

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

REFERENCIAS

1. BARON M, RISCH N, HAMBURGE R, MANDEL B, KUSHNER S, NEWMAN M, DRUMER D, BELMAKER R: Genetic linkage between X chromosome markers and bipolar affective illness. *Nature*, 326:389-392, 1987.
2. BASSET A, Mc GILLIVRAY B, JONES B, PANTZAR T: Partial trisomy chromosome 5 cosegregating with schizophrenia. *Lancet*, 9:799-801, 1988.
3. BERMANN K, ILLOWSKY B, WEINBERGER D: Physiological dysfunction of dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 45:616-622, 1988.
4. BERRETINI WH, GOLDIN L, GELERNTER J, GEJMAN P, GERSHON E, DETERA-WALDEINGH S: X-chromosome markers and manic depressive illness: rejection of linkage to Xq28 in nine bipolar pedigrees. *Arch Gen Psychiatry*, 47:366-373, 1990.
5. BLUM K, NOBLE E, SHERIDAN P, MONTGOMERY A, RITCHIE T, JAGADEESWARAN P, NOGAMI H, BRIGGS A, COHN J: Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *JAMA*, 263:2055-2060, 1990.
6. BOSTSTEIN D, WHITE R, SKOLNICK M, DAVIS R: Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet*, 32:314-331, 1980.
7. CLONINGER CR: Neurogenetic adaptative mechanism in alcoholism. *Science*, 236:410-416, 1987.
8. COMINGS D, y cols.: The dopamine D2 receptor locus as a modifying gene in neuropsychiatric disorders. *JAMA*, 266:1793-1800, 1991.
9. COOPER J, BLOOM F, ROTH R: The Biochemical Basis of Neuropharmacology. Segunda edición Oxford University Press Inc. 1982.
10. CREESE I, BURT I, SNYDER S: Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. *Science*, 192:481-483, 1976.
11. CROWE R, NOYES R, WILSON A, ELSTON R, WARD L: A linkage study of panic disorder. *Arch Gen Psychiatry*, 44:933-937, 1987.
12. CRUZ C, CAMARENA B, MEJIA J, EROZA V, KERSENOVICH D, DE LA FUENTE JR, NICOLINI H: Estudio de asociación alélica del polimorfismo Taq1 en el gen del receptor D2 a dopamina, rasgos de personalidad y alcoholismo. *Anales. Instituto Mexicano de Psiquiatría*, num 5:183-190, 1994.
13. DETERA-WALDEIGH SD, BERRETINI W, GOLDIN L, BOORMAN D, ANDERSON S, GERSHON E: Close linkage of c-Harvey-ras-I and the insulin gene to affective disorder is ruled out in three north american pedigrees. *Nature*, 325:806-808, 1987.
14. EGELAND JA, GERHARD D, PAULS D, SUSSEX J, KIDD K, ALLEN C, HOSTETTER A, HOUSMAN D: Bipolar affective disorder linked to DNA markers on chromosome 11. *Nature*, 325:783-787, 1987.
15. GRANDY D, LITT M, ALLEN L, BUNZOW J, MARCHIONI M, MAKAM H, REED L, MAGENIS E, CIVELLI O: The human dopamine D2 receptor gene is located on chromosome 11 at q22-q23 and identifies a taqI RFLP. *Am J Human Genet*, 45:778-785, 1989.
16. HALLMAYER J, KENNEDY J, WETTERBERG L, SJÖGREN B, KIDD K, CAVALLI-SFORZA L: Exclusion of linkage between the serotonin-2 receptor and schizophrenia in a large swedish kindred. *Arch Gen Psychiatry*, 49:216-219, 1992.
17. HAMMER D, HU S, MAGNUSON V, HU N, PATTATUCCI, A: A linkage between DNA markers on the X chromosome and male sexual orientation. *Science*, 261:321-327, 1993.
18. HODGKINSON S, SHERRINGTON R, GURLING H, MARCHBANKS R, REEDERS S, MALLETT J, Mc INNIS M, PETURSSON H, BRYNJOLFSSON J: Molecular genetic evidence for heterogeneity in manic depression. *Nature*, 325:805-806, 1987.
19. HOLDEN C: Depression: the news isn't depressing. *Science*, 254:1450-1452, 1991.
20. Human Gene Mapping 9. Paris Conference. *Cytogenet and Cell Genet*, 46:1-762, Karger edit, 1987.
21. KAN Y, DOZY A: Polymorphism of DNA sequence adjacent to human beta globin structural gene: relationship to sickle mutation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 75:5631-5635, 1978.
22. KELSÖE J, GINNS R, EGELAND J, GERHARD D, GOLSTEIN A, BALE S, PAULS D, LONG R, KIDD K, CONTE G, HOUSMAN D, PAUL S: Reevaluation of the linkage relationship between chromosome 11p loci and the gene for bipolar affective disorder in the old order Amish. *Nature*, 342:238-243, 1989.
23. KENNEDY J, GIUFFRA L, MOISES H, CAVALLI-SFORZA L, PAKSTIS H, KIDD J, CASTIGLIONE C, WETTERBERG L, KIDD K: Evidence against linkage of schizophrenia to markers on chromosome 5 in a northern Swedish pedigree. *Nature*, 336:167-170, 1988.
24. MEADOR-WOODRUFF J, MANSOUR A: Expression of the dopamine D2 receptor gene in Brain. *Biol Psychiatry*, 30:985-1007, 1991.
25. MEADOR-WOODRUFF J, MANSOUR A, BUNZOW J, VAN TOL H, WATSON S, CIVELLI O: Distribution of D2 dopamine receptor mRNA in rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86:7625-7628, 1989.
26. MENDLEWICS J, SEVY S, BROCCAS H, SIMON P, CHARON F, LEGROS S, VASSART G: Polymorphic DNA marker on X chromosome and manic depression. *Lancet*, 30(1):1230-1232, 1987.
27. MOISES H, GELERNTER J, GIUFFRA L, ARNONE V, WETTERBERG L, CIVELLI O, KIDD K, CAVALLI-SFORZA L: No linkage between D2 dopamine receptor gene region and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 47:643-647, 1990.
28. NICOLINI H, MONTEIRO-GRAZINA M, CAMARENA B, GUERRA C, SIDENBERG D, KENNEDY J: Evaluación

- de genes del sistema dopaminérgico en pacientes esquizofrénicos. *Rev Inv Clínica*, 45(4):1-8, 1993.
29. NICOLINI H, CAMARENA B, DE LA FUENTE JR: Mapeo cromosómico molecular en enfermedades psiquiátricas. *Acta Psiquiátrica y Psicológica de América Latina*, 39(1):45-49, 1993.
 30. NICOLINI H: Biología Molecular y Psiquiatría; Mapeo Genético del Trastorno Obsesivo Compulsivo. Suplemento especial: La Biología Molecular en la Medicina Mexicana. *Revista de la Facultad de Medicina, UNAM*, 36(1):18-22, 1993.
 31. NICOLINI H: Los nexos genéticos (Linkage) de las entidades psiquiátricas. *Salud Mental*, 12:47-51, 1989.
 32. NICOLINI H, ORTEGA H, DE LA FUENTE JR: Aspectos bioquímicos y etiopatogénicos de la demencia senil tipo Alzheimer. *Acta Psiquiat Psicol Amer Lat.*, 34:343-348, 1988.
 33. NOBLE E: Genetic studies in alcoholism: CNS functioning and molecular biology. *Psychiatric Annals*21(4):215-229, 1991.
 34. PARNAS J: Assortative mating in schizophrenia: Results from the Copenhagen high-risk study. *Psychiatry*, 51:58-64, 1988.
 35. PARSIAN A, TODD R, DEVOR R, O'MALLEY K, SUAREZ B, REICH T, CLONINGER R: Alcoholism and alleles of the human D2 dopamine receptor locus. Studies of association and linkage. *Arch Gen Psychiatry*, 48:655-663, 1991.
 36. POLYMERPOULOS M, XIAO H, RATH D, MERRIL C: Tetranucleotide repeat polymorphism at the human tyrosine hydroxylase gene (TH). *Nucl Acid Res*, 19(13):3753, 1991.
 37. SARKAR G, KAPELNER S, GRANDY D, MARCHIONI M, CIVELLI O, SOBELL J, HESTON L, SOMMER S: Direct sequencing of the dopamine D2 receptor (DRD2) in schizophrenics reveals three polymorphisms but no structural change in the receptor. *Genomics*, 11:8-14, 1991.
 38. SEEMAN P, LEE T, CHAU-WONG M, WONG K: Antipsychotic drug doses and neuroleptic / dopamine receptors. *Nature*, 261:717-719, 1976.
 39. SHERRINGTON R, BRYNJOLFSSON J, PETURSSON H, POTTER M, DUDLESTON K, BARRACLOUGH B, WASMUTH J, DOBBS M, GURLING H: Localization of a susceptibility locus for schizophrenia on chromosome 5. *Nature*, 336:164-167, 1988.
 40. SIBLEY D, MONSMA F: Molecular biology of dopamine receptors. *TIPS Review USA*, 13:61-69, 1992.
 41. SINYDER S: The dopamine hypothesis in schizophrenia: Focus on the dopamine receptor. *Am J Psychiatry*, 133:197-202, 1976.
 42. St. GEORGE-HYSLOP P, y cols.: The genetic defect causing familial Alzheimer's disease maps on chromosome 21. *Science*, 235:885-890, 1987.
 43. VALLAR L, MELDOLESI J: Mechanism of signal transduction at the dopamine D2 receptor. *TIPS USA*, 10:74-77, 1989.
 44. VAN TOOL H, y cols.: Multiple dopamine D4 receptor variants in the human population. *Nature*, 358:149-152, 1992.
 45. VAN TOOL H, BUNZOW J, GUAN H, SUNAHARA R, SEEMAN P, NIZNIK H, CIVELLI O: Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature*, 350:610-614, 1991.
 46. WEBER J, MAY P: Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Human Genet* 44:388-396, 1989.
 47. WEINER D, BRANN M: The distribution of a dopamine D2 receptor mRNA rat brain. *FEBS*, 253(1,2):207-213, 1989.
 48. WEINER F, ESKREIS D, COMPTON K, ORREGA H, ZERN M: Haplotype analysis of type I collagen gene and its association with alcoholic cirrhosis in man. *Molecular Aspects of Medicine*, 10(2):159-168, 1988.