

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA I QUÍMICA TERAPÉUTICA

**“POLIMORFISMOS EN LOS RECEPTORES
DOPAMINÉRGICOS D₂ Y D₃, Y EN EL
TRANSPORTADOR DE DOPAMINA DAT, Y SU
RELACIÓN CON EL RIESGO DE SÍNTOMAS
EXTRAPIRAMIDALES POR ANTIPSICÓTICOS Y CON
EL RIESGO DE ESQUIZOFRENIA”**

MÒNICA APARICI VIRGILI 2006

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO
DE FARMACOLOGÍA I QUÍMICA TERAPÉUTICA

PROGRAMA DE DOCTORADO MEDICAMENTOS, ALIMENTACIÓN Y SALUD

BIENIO 2001-2003

**“POLIMORFISMOS EN LOS RECEPTORES
DOPAMINÉRGICOS D₂ Y D₃, Y EN EL
TRANSPORTADOR DE DOPAMINA DAT, Y SU
RELACIÓN CON EL RIESGO DE SÍNTOMAS
EXTRAPIRAMIDALES POR ANTIPSICÓTICOS Y CON
EL RIESGO DE ESQUIZOFRENIA”**

Memoria presentada por Mònica Aparici Virgili para optar al título de doctor por la
universidad de Barcelona

Director: Amalia Lafuente Flo



Doctorando/a: Mònica Aparici Virgili



MÒNICA APARICI VIRGILI 2006

Al Gerard, el meu nen, per totes les tardes
que hem passat junts escrivint aquesta tesi.

- AGRAÏMENTS -

La realització d'una tesi doctoral mai és un procés fàcil, i el meu cas no ha estat una excepció. Quan treballant a la indústria farmacèutica vaig decidir matricular-me en un programa de doctorat, van ser molts els que em van advertir que seria dur compaginar el meu treball a Almirall Prodesfarma amb els estudis de doctorat i la vida familiar. La realitat és que no només això ha estat possible, sinó que durant aquest temps ha nascut el meu nen. Ara que ja falta menys per a que la meva il·lusió de ser doctora s'acompleixi, són moltes les persones i les coses a agrair.

En primer lloc, a tot el Departament de Farmacologia de la Facultat de Medicina per permetre'm realitzar la tesi doctoral, però molt especialment a la meva directora, la Dra. Amàlia Lafuente, per confiar en mi des del principi i perquè mai va considerar que la meva dedicació a temps parcial fos un problema.

També voldria donar les gràcies al Dr. Sergi Mas, a l'Anna i a la Patri, tots ells companys del departament, perquè sense la seva ajuda en el laboratori no me n'hauria sortit. I també a la Judit i al Joan Marc, per fer que les tardes fossin més amenes.

Als membres del Servei de Psiquiatria de l'Hospital Clínic que han participat en aquest projecte, especialment al Dr. Miquel Bernardo, a la Dra. Rosa Catalan i al Dr. Eduard Parellada, així com als del Servei de Medicina Nuclear, en especial al Dr. Juan José Mateos i al Dr. Francesc Lomeña, ja que sense el treball de tots ells no hauria estat possible la realització d'aquesta tesi doctoral.

A les infermeres de la Sala d'Hospitalització del Servei de Psiquiatria de l'Hospital Clínic, per la seva col·laboració en el reclutament de pacients.

També m'agradaria donar les gràcies als meus caps del Departament de Biologia d'Almirall Prodesfarma, per la seva comprensió, i a alguns dels meus companys i companyes, pel seu suport i amistat durant aquests anys.

Als meus amics, per saber-me escoltar i per animar-me en alguns moments d'incertesa, que en van haver.

Als meus pares i germanes, per haver-me educat amb aquesta força de voluntat per fer les coses.

Al meu petitó, per ser tan bon nen i deixar-me treballar durant aquests vuit mesos.

I com no, al Raül, el meu marit, per estar sempre al meu costat, per adaptar-te a tot el que he decidit fer, per tenir una enorme paciència i escoltar tots els meus neguits, per donar-me els millors consells quan els he necessitat, i perquè amb el teu afecte ha estat tot més fàcil.

- ÍNDICE -

INTRODUCCIÓN.....	7
1. ESQUIZOFRENIA.....	9
1.1 Definición.....	9
1.2 Diagnóstico y manifestaciones clínicas	9
1.3 Epidemiología	12
1.4 Fisiopatología	15
1.5 Consecuencias de la esquizofrenia.....	19
1.6 Tratamiento	20
2. OTRAS ENFERMEDADES MENTALES	20
2.1 Trastorno bipolar	20
2.2 Otros trastornos mentales relacionados con la esquizofrenia	23
3. NEUROTRANSMISIÓN DOPAMINÉRGICA	26
3.1 Dopamina	26
3.2 Circuitos dopaminérgicos.....	30
3.3 Receptores dopaminérgicos	34
4. FÁRMACOS ANTIPSICÓTICOS	40
4.1 Historia y clasificación	40
4.2 Antipsicóticos atípicos frente a los típicos: EFICACIA.....	42
4.3 Antipsicóticos atípicos frente a los típicos: EFECTOS SECUNDARIOS	44
4.4 Mecanismo de acción de los APs	52
4.5 Tendencias actuales en la selección del AP	62
5. POLIMORFISMOS GENÉTICOS	63

5.1	Farmacogenética y farmacogenómica	63
5.2	Base genética de la esquizofrenia y de los EPS	70
5.3	Farmacogenética del sistema dopaminérgico	72
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....		87
6.	HIPÓTESIS.....	89
6.1	Riesgo de EPS	89
6.2	Riesgo de esquizofrenia.....	91
7.	OBJETIVOS	92
MATERIALES Y MÉTODOS.....		93
8.	DISEÑO DEL ESTUDIO.....	95
9.	SUJETOS	97
9.1	Reclutamiento de pacientes.....	97
9.2	Controles poblacionales.....	98
9.3	Consentimiento informado	99
9.4	Cálculo de la CEDD.....	99
10.	MÉTODOS ANALÍTICOS	100
10.1	Genotipado DRD2 TaqIA y DRD2 TaqIB	101
10.2	Genotipado DRD2 -141 C Ins/Del.....	102
10.3	Genotipado DRD3 Ser9Gly	104
10.4	Genotipado SLC6A3 VNTR.....	105
10.5	Fenotipo DAT	106

10.6 Análisis estadístico.....	107
RESULTADOS.....	109
11. POLIMORFISMOS DRD2 TaqIA/IB, DRD2 -141CIns/Del y DRD3 Ser9Gly y RIESGO de EPS.....	111
12. POLIMORFISMO SLC6A3 VNTR y SUSCEPTIBILIDAD de EPS	121
13. CORRELACIÓN GENOTIPO SLC6A3 VNTR-FENOTIPO DAT	127
14. POLIMORFISMOS DRD2 TaqIA/IB, DRD2 -141CIns/Del y DRD3 Ser9Gly y RIESGO DE ESQUIZOFRENIA.....	130
DISCUSIÓN.....	137
15. VALIDEZ DE LOS ESTUDIOS FARMACOGENÉTICOS.....	139
16. FACTORES DE RIESGO DE EPS INDUCIDOS POR APs: edad y dosis.....	140
17. FARMACOGENÉTICA DE LOS EPS: POLIMORFISMOS DEL GEN DRD2.....	146
18. FARMACOGENÉTICA DE LOS EPS: POLIMORFISMO DRD3 Ser9Gly	152
19. FARMACOGENÉTICA DE LOS EPS: POLIMORFISMO SLC6A3 VNTR.....	155
20. ESTUDIO DE RIESGO DE ESQUIZOFRENIA.....	161
21. FARMACOGENÉTICA DE LOS AP E INDUSTRIA FARMACÉUTICA	178

CONCLUSIONES.....	183
REFERENCIAS.....	187
ANEXOS.....	225

- INTRODUCCIÓN -

1. ESQUIZOFRENIA

1.1 Definición

El término esquizofrenia fue introducido en el lenguaje médico a principios del siglo veinte por el psiquiatra suizo Bleuler, que la definió como una fragmentación de la mente de manera que los procesos cognitivos estaban separados de la voluntad, el comportamiento y la emoción. Dicho término proviene del griego “schizo” (escisión, división) y “phren” (intelecto, mente). Actualmente, la Organización Mundial de la Salud la define como una enfermedad mental o grupo de enfermedades de causas todavía desconocidas, caracterizada por trastornos del afecto, el pensamiento, la sensopercepción, la comunicación y el comportamiento (*World Health Organization 1998*).

1.2 Diagnóstico y manifestaciones clínicas

La ausencia de un marcador biológico hace que la base de su diagnóstico sea el examen del estado mental, usualmente a través de la entrevista clínica y la observación del comportamiento del paciente.

Existen distintos sistemas para el diagnóstico de la esquizofrenia (*WHO 1998*). Los dos principales sistemas son el ICD-10 (*International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th Revision*) y el DSM-IV (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition*). Ambos sistemas consideran la presencia de signos y síntomas característicos de la enfermedad durante ciertos periodos de tiempo, pero deben ser tenidos en cuenta como herramientas provisionales, dado que las manifestaciones clínicas entre los pacientes son heterogéneas, e incluso en un mismo individuo puede haber importantes variaciones en el tiempo. El hecho de que no exista

ningún signo o síntoma que sea específico de la enfermedad, y a su vez los signos y síntomas presentes en la esquizofrenia sean compartidos por otras enfermedades mentales, dificulta todavía más su diagnóstico.

Entre los síntomas más característicos de la esquizofrenia destacan:

- Trastornos del pensamiento: se manifiestan en alteraciones del lenguaje tanto hablado como escrito. Los pacientes cambian de un tema a otro sin ninguna lógica, utilizan palabras sin sentido en el contexto y en algunos casos existe tal desorganización que el habla se hace totalmente incomprensible, simulando una afasia.
- Ideas delirantes: creencias falsas y persistentes, que el sujeto considera como reales a pesar de cualquier intento por disuadirlo. Estas llegan a dominar el pensamiento y pueden dirigir la conducta. Los pacientes están convencidos de que alguien los controla o persigue para hacerles daño, que incluso pueden oír sus pensamientos e introducirse en sus mentes para controlar sus emociones y sus acciones; otros enfermos creen que tienen poderes y habilidades inusuales.
- Alucinaciones: percepciones sensoriales en ausencia de estímulos externos, son vividas por el paciente. Las más frecuentes son las alucinaciones auditivas, especialmente voces amenazantes, que insultan al paciente o le dan órdenes. Aunque en menor frecuencia, las alucinaciones también pueden ser visuales o táctiles.
- Trastornos afectivos: respuestas emocionales aplanadas, inapropiadas o incongruentes respecto al contexto, apatía.
- Trastornos del comportamiento: pueden oscilar entre una conducta excéntrica con cambio en la higiene personal o el vestir, hasta episodios inexplicables de inquietud motora o agresividad. También pueden exhibir conductas catatónicas,

con escasa iniciativa en la ejecución de movimientos, rigidez o adopción de posiciones extrañas (*APA 2004, Turner T. 1997*).

En 1980 Crow clasificó los síntomas más característicos de la esquizofrenia en dos grandes grupos: síntomas positivos y negativos. Recientemente, se ha considerado una tercera categoría que en la anterior clasificación estaba incluida en el grupo de síntomas positivos; se trata de los síntomas desorganizados. Los síntomas positivos incluyen ideas delirantes y alucinaciones; los síntomas negativos incluyen aplanamiento afectivo, alogia (dificultad para mantener la idea directriz), abulia (pérdida de la iniciativa o voluntad), así como retraimiento social; y los síntomas desorganizados incluyen alteraciones del comportamiento, lenguaje desorganizado y trastornos en la atención (*APA 2004*).

En base a las manifestaciones clínicas, han sido definidos varios subtipos de esquizofrenia (*APA 2004*):

- Paranoide: está caracterizada por ideas delirantes y alucinaciones, con menor compromiso en la esfera cognoscitiva, el afecto y la conducta motora. Se considera la forma menos severa de la enfermedad y el pronóstico de los pacientes es mejor, comparado con las demás variedades.
- Desorganizada: se caracteriza por alteraciones del lenguaje y del comportamiento, junto con afecto plano o inapropiado. Acostumbra a ser la variedad de esquizofrenia más severa.
- Catatónica: se define por presentar un trastorno psicomotor evidente, con rigidez y disminución marcada de la actividad motora, con ocasionales episodios de hiperactividad.

- Indiferenciada: en este subtipo se agrupan los pacientes que no cumplen criterios clínicos completos para ser incluidos en ninguna de las otras variedades.
- Residual: se refiere a los casos donde persisten algunas manifestaciones clínicas en forma atenuada, después que la sintomatología más florida ha cedido.

1.3 Epidemiología

1.3.1 Incidencia y prevalencia

La incidencia anual de la esquizofrenia es de 10 a 15 casos por 100.000 habitantes. Alrededor del 20%-40% de los pacientes experimentan sus primeros síntomas antes de los 20 años, aunque mientras que el pico de incidencia en hombres está entre los 15 y 24 años de edad, el de las mujeres ocurre entre los 25 y 34 años. A pesar de que algunos estudios han intentado relacionar diferencias en la incidencia de la enfermedad con las áreas geográficas, algunos estudios postulan que la incidencia de la esquizofrenia es estable en los distintos países, culturas y tiempo (*APA 2004*).

Pese a su baja incidencia, debido a su carácter crónico, la esquizofrenia es una enfermedad con una elevada prevalencia. Cerca del 1% de la población la sufre, y parece no haber diferencias entre sexos a partir de los 40 años de edad (*WHO 1998*).

1.3.2 Curso de la enfermedad

El inicio de la primera crisis puede ser gradual, con algunas manifestaciones prodrómicas en semanas, meses o incluso 2-5 años anteriores, como por ejemplo alteraciones del sueño, ansiedad, irritabilidad, depresión, fatiga o falta de concentración; o bien, por el contrario, la enfermedad puede aparecer de forma abrupta (*APA 2004*).

Tras la aparición de los signos y síntomas que caracterizan la enfermedad (fase psicótica), la evolución de cada paciente es muy variable. Se ha estimado que un 20-

30% de los pacientes no vuelven a presentar una nueva crisis y llevan una vida totalmente normal, aunque la mayoría de ellos presentan nuevas crisis a lo largo de sus vidas, e incluso alrededor de un 15% permanecen severamente incapacitados por la enfermedad debido a un estado psicótico crónico (*Walker E. et al. 2004*).

El curso de la enfermedad parece que está influenciado por diversos factores clínicos y demográficos. Algunos subtipos de esquizofrenia, como la paranoide, tienen mejor pronóstico, y también la sintomatología positiva, ya que los síntomas desorganizados y negativos se han asociado con peor pronóstico; la evolución también parece ser más favorable en las mujeres, en individuos sin historia familiar de esquizofrenia y con una edad de aparición de la primera crisis mayor. Factores sociales o culturales, como el hecho de estar casado y tener actividad intelectual y laboral, se consideran factores favorables (*APA 2004*).

1.3.3 Factores de riesgo

La causa exacta de la esquizofrenia aún se desconoce, se ha postulado que su origen es multifactorial, aunque no existe duda sobre que la vulnerabilidad a padecer la enfermedad se hereda. Diversos estudios demuestran que esta vulnerabilidad es mayor entre los familiares cercanos que en la población general; se ha descrito que en familiares de primer grado, la prevalencia es de 10% mientras que en los de segundo grado se reduce a un 3%. De igual forma, la concordancia para esquizofrenia entre gemelos dicigotos es de 12% a 14% y en monocigotos de 48% (*APA 2004*). Un reciente estudio de meta-análisis realizado en gemelos estima que un 81% de los casos de esquizofrenia tendrían un origen genético (*Miyamoto S. et al. 2003*).

El hecho de que no exista total concordancia entre gemelos monocigotos (con cerca del 100% de genes idénticos), sugiere que la etiología de la esquizofrenia podría

explicarse en parte con factores no genéticos, entre los que destacarían los factores pre y post natales. Existen evidencias de que las complicaciones obstétricas (daño cerebral en el feto, infecciones víricas durante el embarazo, preclampsia, diabetes materna, estrés en la gestante,..) tienen un impacto negativo en el desarrollo cerebral del feto, y numerosos estudios han demostrado que un porcentaje considerable de esquizofrénicos las padecieron. Por otro lado, también se ha asociado con la enfermedad el daño cerebral en niños de hasta 10 años de edad (*Walker E. et al. 2004*).

Aunque en menor grado, también se ha asociado la vulnerabilidad a sufrir esquizofrenia a factores ambientales:

1. Consumo de tóxicos.
2. Crecer en medio urbano.
3. Inmigración.
4. Infecciones víricas.
5. Estacionalidad de nacimiento (por orden de importancia).

1.3.4 Co-morbilidad

El riesgo de padecer otras enfermedades mentales entre la población esquizofrénica es mucho mayor que entre la población general. Son especialmente relevantes la depresión y el consumo de sustancias de abuso (*WHO 1998*).

El porcentaje de depresión entre esquizofrénicos es por lo menos del 25%. Puede aparecer en cualquier fase de la enfermedad, aunque es más frecuente al principio de las recaídas psicóticas o en los periodos de recuperación.

El consumo de sustancias de abuso es muy elevado entre esquizofrénicos, y se ha convertido en uno de los principales problemas asociado a la enfermedad. El consumo de alcohol en dicha población es de aproximadamente un 30%, y el de drogas

de abuso de alrededor de un 25%. La prevalencia del hábito tabáquico se estima del 80%. Se ha visto que el consumo de estas sustancias podría disminuir la efectividad de los tratamientos para la esquizofrenia, empeorar los síntomas positivos y aumentar el carácter violento de los enfermos (*Batel P. 2000*).

El los últimos años la infección por VIH también ha aumentado entre la población esquizofrénica, alcanzando una prevalencia de alrededor del 7% (*WHO 1998*).

1.4 Fisiopatología

1.4.1 Anormalidades estructurales y funcionales

Los primeros estudios, basados en tomografía axial computerizada (TAC) mostraron que los cerebros de pacientes esquizofrénicos presentaban una serie de anomalías estructurales como dilatación de los ventrículos, especialmente de los laterales, respecto a los cerebros de individuos que no padecían esta enfermedad. A medida que se desarrollaron nuevas técnicas como la resonancia magnética nuclear (*MRI*, siglas del inglés *Magnetic resonante imaging*) se detectaron otras anomalías cerebrales tales como una disminución de los lóbulos frontal y temporal, así como del volumen total del cerebro. Tales hallazgos han sido confirmados mediante técnicas más refinadas como la tomografía con emisión de positrones (PET, siglas del inglés *Positron Emisión Tomography*) o tomografía con emisión de fotón único (SPECT, del inglés *Single Photon Emisión Computed Tomography*), en los cuales también se ha encontrado una reducción en el tamaño de estructuras como el tálamo y el hipocampo. Además de las anomalías estructurales, también existen diferencias funcionales, como por ejemplo una reducción de actividad en las regiones temporal y frontal, aunque ninguna de estas anomalías, ya sea anatómica o funcional, es específica de la esquizofrenia, ya

que no todos los pacientes las presentan y se pueden registrar en otras categorías diagnósticas (*Walker E. et al. 2004*).

Estudios post-mortem de cerebros de pacientes esquizofrénicos han revelado que también existen anormalidades a nivel neuronal, tales como reducción de la densidad neuronal y anormalidades morfológicas y estructurales de dichas células, relacionándose la pérdida generalizada de dendritas y axones en regiones corticales con alteraciones de las conexiones sinápticas (*Freedman R. 2003*). Pero a diferencia de lo que ocurre en otras enfermedades neurodegenerativas, en las que la degeneración neuronal viene acompañada de una proliferación de células de la glía, en la esquizofrenia hay ausencia de gliosis reactiva. Dado que las células gliales maduras aparecen en el tercer trimestre de gestación, varios grupos de investigadores sostienen que la esquizofrenia es producida por una lesión cerebral que se presenta durante los primeros meses de vida intrauterina, antes que la maduración glial se lleve a cabo (*Sawa A. et al. 2002*).

1.4.2 Neurotransmisores

1.4.2.1 Hipótesis dopaminérgica

A nivel molecular, la fisiopatología de la esquizofrenia todavía no está clara. La hipótesis más aceptada es la “**hipótesis dopaminérgica**”, la cual postula una hiperactividad dopaminérgica. A nivel clínico, esta hipótesis estaría respaldada por el hecho de que los consumidores de anfetaminas (drogas que aumentan la liberación de dopamina) presentan cuadros psicóticos similares a los de la esquizofrenia; y en segundo lugar, las drogas antipsicóticas (APs) utilizadas tradicionalmente para tratar la esquizofrenia, actúan bloqueando los receptores dopaminérgicos en el cerebro (*Walker E. et al. 2004*). Esta hipótesis también estaría respaldada por estudios post-mortem y

estudios realizados con la técnica de PET que indican que los niveles de receptor de dopamina D₂ en el cerebro de pacientes esquizofrénicos son superiores a los hallados en individuos no esquizofrénicos (*Seeman P. et al. 1990*). Por otro lado, también jugarían a favor de esta hipótesis los trabajos que apuntan anomalías en la presinapsis dopaminérgica en esquizofrénicos, implicando alteraciones en el almacenamiento, transporte, liberación, recaptación o metabolismo de dopamina (*Miyamoto S. 2003*). Las últimas tendencias postulan que más que una hiperactividad dopaminérgica generalizada, habría un desequilibrio de dopamina en determinadas regiones; se han observado elevados niveles de dopamina a nivel subcortical (núcleo acumbens), que se asocian con los síntomas positivos de la enfermedad, y niveles más bajos en otras regiones como la corteza frontal estarían asociados con los síntomas negativos (*Pani L. 2002*).

1.4.2.2 Hipótesis hipoglutamatérgica

A parte de la hipótesis dopaminérgica, se han desarrollado otras teorías basándose en el mecanismo de acción de drogas que producen cuadros psicóticos. Entre éstas, la fenciclidina y la ketamina son las que producen cuadros semejantes a los de la esquizofrenia, y en esquizofrénicos empeoran su sintomatología. Estos fármacos actúan bloqueando el receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), por lo que se ha postulado que la hipofunción de este receptor estaría relacionada con la enfermedad. Esta hipótesis también estaría reforzada por el hecho de que estudios post-mortem han encontrado índices anormales de glutamato, uno de los ligandos del receptor NMDA, en el cerebro de esquizofrénicos (“hipótesis hipoglutamatérgica”). Esta hipótesis sería compatible con la hipótesis dopaminérgica, ya que parece haber conexiones recíprocas entre ambos sistemas; estudios de PET sugieren que la administración aguda de antagonistas de este

receptor aumentaría la liberación de dopamina en el estriado, en cambio, una administración crónica produciría hipoactividad dopaminérgica en la corteza prefrontal (*Miyamoto S. 2003*); y por otro lado se ha propuesto que el bloqueo de receptor NMDA a nivel cortical, tendría lugar a través de la estimulación de los receptores D₃ (*Leriché L. et al. 2004*). Otros autores sugieren una posible implicación del neurotransmisor inhibitorio GABA, que explican sería necesaria para mantener el balance de excitación-inhibición (*Freedman R. 2003*).

1.4.2.3 Hipótesis serotoninérgica

Otra de las hipótesis postuladas es la “hipótesis serotoninérgica” de la esquizofrenia, que se basa en la implicación de los receptores de serotonina (principalmente los 5-HT₂) en fenómenos psicóticos, así como en la afinidad que los fármacos APs presentan por éstos (*Miyamoto S. 2003*).

1.4.2.4 Otras hipótesis

Dado el elevado índice de tabaquismo entre esquizofrénicos, se ha querido relacionar el receptor nicotínico con la enfermedad. En modelos animales, agonistas del subtipo $\alpha 7$ de estos receptores producen una clínica muy similar a la de la esquizofrenia, hecho que sugiere un posible papel de la acetilcolina en la enfermedad (*Sawa A. et al. 2003*).

Otra hipótesis postulada por algunos investigadores es que la esquizofrenia fuera una enfermedad autoinmune, basándose en que como ocurre en otras enfermedades de este tipo, la esquizofrenia se manifiesta en la adolescencia o edad adulta temprana, los brotes tienen lugar de forma cíclica y hay un componente hereditario. Algunos estudios han encontrado proteínas anormales en cerebro y médula de esquizofrénicos que no

están presentes en individuos normales, aunque estas proteínas también han sido halladas en algunos tipos de encefalitis (*APA 2004*).

1.5 Consecuencias de la esquizofrenia.

A pesar de que la prevalencia de la esquizofrenia es relativamente baja, su manifestación en edades tempranas y su cronicidad hacen que esta enfermedad constituya una de las enfermedades mentales más severas.

Esta enfermedad constituye la principal causa de incapacidad de origen psiquiátrico en el mundo entero, y la razón es obvia, ya que el sujeto pierde por completo el contacto con la realidad y, por consiguiente, toda capacidad para funcionar en los campos laboral, familiar y social, así como una pérdida de los cuidados personales básicos (higiene, aseo, alimentación) (*APA 2004*).

Las implicaciones desde el punto de vista económico son impresionantes. Tan solo en Estados Unidos la atención de los pacientes generan gastos directos que alcanzan los 19 billones de dólares anuales. Sin embargo, el impacto económico no deriva de los cuidados médicos, sino de la pérdida de la capacidad productiva y la carga asistencial para la familia, cuyo coste por año se estima, en dicha nación, cercano a 46 billones de dólares (*WHO 1998*).

Los índices de mortalidad en población esquizofrénica son por lo menos el doble que en población general. La principal causa de mortalidad es el suicidio, cuyo riesgo es doce veces mayor que en el resto de la población. En los últimos años ha aumentado la mortalidad debida a alteraciones cardiovasculares, que podría explicarse por estilos de vida insaludables o por efectos adversos de los fármacos APs (*APA 2004*).

1.6 Tratamiento

El tratamiento de los pacientes esquizofrénicos se basa en la utilización de fármacos antipsicóticos (APs) (ver apartado correspondiente a estos fármacos), pero en combinación con la terapia farmacológica, los tratamientos psico-sociales contribuyen al mejor pronóstico de la enfermedad así como a la reducción del número de recaídas, entre los que se incluye la terapia familiar, la psicoeducación y la implicación de un equipo multidisciplinar de profesionales sanitarios (*WHO 1998*).

2. OTRAS ENFERMEDADES MENTALES

Entre el amplio abanico de trastornos mentales únicamente haremos mención de algunos de ellos, como el trastorno bipolar y otros trastornos relacionados con la esquizofrenia, que dentro de su tratamiento incluyen a los fármacos APs (ver apartado 4.2.2).

2.1 Trastorno bipolar

El trastorno bipolar se caracteriza por elevaciones y descensos del estado de ánimo de carácter patológico, es decir, no se trata de los cambios de humor normales que todo el mundo experimenta en función de los acontecimientos de la vida, sino de la alternancia de episodios depresivos con otros episodios de euforia exagerada (manía o episodios maníacos). Estos episodios pueden variar en intensidad y en gravedad; los episodios de euforia pueden variar desde la hipomanía (la forma menos intensa) hasta la manía con síntomas psicóticos (la forma más grave) (*Manning J.S. et al. 1998*).

Durante los períodos de manía, una persona puede ser demasiado impulsiva y

energética, con un sentido exagerado de autoestima; mientras que la fase depresiva trae consigo sentimientos abrumadores de ansiedad, tristeza, apatía, alteraciones del sueño y alimentarios, baja autoestima e incluso pensamientos suicidas. Puede suceder que se den síntomas depresivos y maníacos de forma concurrente, o bien que su sucesión sea muy rápida, que es lo que se conoce como estado mixto.

Hay dos tipos principales de trastorno bipolar:

- En el *Tipo I* se alternan episodios depresivos graves con episodios maníacos graves, que requieren hospitalización.
- En el *Tipo II* rara vez aparecen episodios maníacos completos y en su lugar existen períodos de hipomanía. Dichos períodos hipomaníacos alternan con episodios de depresión mayor. En el extremo más leve del trastorno bipolar se encuentra la *ciclotimia*, definida por un patrón crónico de inestabilidad emocional, con síntomas tanto depresivos como maníacos. (*Manning J.S. et al. 1998*).

El tipo I de trastorno bipolar afecta aproximadamente al 0.8% de la población adulta, mientras que el tipo II afecta a aproximadamente un 0.5%. En cuanto a la afectación por sexos, hombres y mujeres se ven afectados por igual, aunque en el caso del bipolar II parece que la afectación sería ligeramente mayor en el sexo femenino. La edad media de aparición de este trastorno son 21 años, y aunque su curso es variable, en el 90% de los casos la afectación se presenta en forma de episodios a lo largo de la vida (*APA 2002*). Los episodios de manía se suelen presentar de forma abrupta, y pueden tener una duración de 2 semanas a 4-5 meses; los episodios de depresión suelen durar alrededor de 6 meses (*National Institute of Mental Health 2001*).

La causa del trastorno bipolar es neurobiológica. No se sabe a ciencia cierta cuáles son todos los componentes biológicos implicados en el trastorno, pero existen

evidencias de alteraciones en los sistemas de neurotransmisión serotoninérgico, noradrenérgico y dopaminérgico. El hecho de que se presente con mayor frecuencia en parientes de personas que padecen dicho trastorno, sugiere una base genética, aunque factores ambientales y el estilo de vida podrían tener un impacto tanto en el inicio como en el curso y la severidad de la enfermedad (*National Institute of Mental Health 2001*).

El diagnóstico del trastorno bipolar es clínico. Dado que es muy frecuente que las personas con trastorno bipolar presenten comorbilidad con otras enfermedades psiquiátricas o con consumo de sustancias de abuso, a veces es difícil discernir si los síntomas son primarios, o son consecuencia de los trastornos asociados (*Bowden C.L. 2005*).

El trastorno bipolar se trata con medicamentos estabilizadores del estado de ánimo, como el litio y fármacos antiepilépticos. Dichos medicamentos son efectivos para el tratamiento tanto de la fase maníaca como de la fase depresiva, al igual que para prevenir recaídas clínicas. Los medicamentos antidepresivos también pueden ser útiles durante la fase depresiva si se usan con un estabilizador del estado de ánimo. En las fases maníacas, los medicamentos APs sobre todo pueden ayudar al paciente con síntomas psicóticos. También es efectivo el uso de terapia electro-convulsiva; algunos estudios han encontrado en forma repetitiva que dicha terapia es el tratamiento más efectivo para la depresión que no se alivia con el uso de medicamentos (*National Institute of Mental Health 2001*).

Se ha observado que la suspensión o el mal cumplimiento de la pauta terapéutica, puede llevar a recaídas clínicas, así como las siguientes complicaciones:

- El alcoholismo y/o la drogadicción pueden ser usados como una estrategia para "automedicarse".
- Las relaciones personales y laborales verse afectadas como resultado de las

fluctuaciones en el estado de ánimo (afecta crónicamente al 60% de los pacientes con trastorno bipolar I).

- Los pensamientos y comportamientos suicidas (el índice de suicidio en el trastorno bipolar I es del 10-15%).
- Refractoriedad terapéutica a fármacos ya presentes (ej. litio) (*APA 2002*).

2.2 Otros trastornos mentales relacionados con la esquizofrenia

Debido a la similar sintomatología entre la esquizofrenia y otros trastornos psicóticos, muchas veces los criterios diagnósticos de estas patologías están muy próximos. Entre dichos trastornos destacaremos la reacción psicótica aguda, el trastorno esquizoafectivo, el trastorno de personalidad esquizotípico y el trastorno por ideas delirantes.

Si consideramos el síndrome psicótico, que es un término general que se refiere a la pérdida de contacto con la realidad, incluyendo particularmente delirios y alucinaciones, en la mayoría de ocasiones el comportamiento psicótico va asociado a la esquizofrenia, sin embargo, estos síntomas se pueden asociar a otros trastornos como:

- Dependencia a tóxicos y/o abstinencia
- Trastorno bipolar
- Tumores cerebrales
- Epilepsia
- Depresión psicótica
- Demencia (Alzheimer y otros trastornos cerebrales degenerativos)

El tratamiento varía según la causa de la psicosis, pero al igual que en pacientes

esquizofrénicos, el uso de drogas APs es el tratamiento de elección para disminuir las alucinaciones y delirios, además de la terapia de grupo (*APA 2000, WHO 2003*).

El trastorno esquizoafectivo es un trastorno que incluye elementos tanto de psicosis como de alteraciones del estado de ánimo, que pueden aparecer juntos o de manera alterna. Entre los trastornos del estado de ánimo se incluyen un estado de ánimo exaltado o deprimido con alteraciones del sueño, cambios en neurovegetativos, alteraciones de la concentración y una pobre adaptación sociolaboral, es decir síntomas que se podrían observar en un estado maníaco-depresivo (*WHO 2003*).

Se desconoce la causa exacta de este trastorno, pero los factores que afectan el desarrollo tanto de la psicosis como del trastorno del estado de ánimo pueden jugar un papel importante. Su incidencia también se desconoce, pero se cree que es menos común que la esquizofrenia o que los trastornos del estado de ánimo.

La combinación de síntomas afectivos y psicóticos observados en el trastorno esquizoafectivo se pueden ver en otras enfermedades, como en el trastorno bipolar, sin embargo, a diferencia de lo que ocurre en este último, el síntoma psicótico en el trastorno esquizoafectivo no se resuelve necesariamente con el tratamiento efectivo del trastorno del estado de ánimo; asimismo, los síntomas psicóticos generalmente persisten durante al menos dos semanas con un estado de ánimo normal (*APA 2000*).

Este trastorno puede aparecer como consecuencia de medicamentos que causen síntomas psicóticos o del estado de ánimo, como los esteroides, consumo de cocaína, anfetaminas y fenciclidina (PCP) y algunos pacientes con diagnóstico de epilepsia tienen particularmente más probabilidades de presentar esquizofrenia concurrente y síntomas de trastornos del estado de ánimo (*APA 2000*).

Según el *ICD-10*, el trastorno esquizotípico, o personalidad esquizotípica, "es un trastorno caracterizado por una conducta excéntrica y anomalías en el pensamiento y del afecto, que se parecen a los que se ven en la esquizofrenia, aunque en ningún momento han ocurrido anomalías esquizofrénicas definidas y características". Sin embargo, a pesar de la similitud que tiene con la esquizofrenia, su evolución y curso son usualmente los de un trastorno de la personalidad. Este trastorno se encuentra situado entre la personalidad esquizoide y la esquizofrenia. Consiste en un comportamiento y lenguaje extravagante, pero no prevalece la sintomatología psicótica evidente. La persona tiende a aislarse, posee un afecto inapropiado y ansiedad social. Pueden llegar a tener síntomas psicóticos transitorios, producto del estrés, pero esto no es lo habitual (WHO 2003).

Se ha postulado que este trastorno es producto de una anomalía en la neurotransmisión glutamatérgica y un descenso del tono inhibitorio GABAérgico. La verdadera etiología de la enfermedad aún se desconoce, pero se cree que la personalidad esquizotípica tiene un componente genético. Existe una incidencia mayor en los familiares de esquizofrénicos.

El trastorno esquizotípico se inicia al principio de la edad adulta, aunque en la infancia ya suele presentarse hipersensibilidad y ansiedad en el contexto social. La prevalencia de este trastorno es del 3% de la población general y puede ser ligeramente más común en varones. Se ha asociado a un riesgo elevado de desarrollar esquizofrenia u otro trastorno psicótico (*APA 2000*).

Algunas personas, en momentos puntuales, pueden beneficiarse de los medicamentos APs, pero en la mayoría de los casos se prefiere la terapia psicológica (*WHO 2003, MedlinePlus*).

El *DSM-IV* define el trastorno por ideas delirantes como “Grupo de trastornos caracterizado por la aparición de un único tema delirante o de un grupo de ideas delirantes relacionadas entre sí que normalmente son muy persistentes, y que incluso pueden durar hasta el final de la vida del individuo. El contenido del tema o conjunto de ideas delirantes es muy variable, a menudo es de persecución, hipocondriaco o de grandeza.” Debido a que los pacientes esquizofrénicos pueden presentar esta sintomatología, a veces es difícil hacer el diagnóstico de este trastorno. Lo más característico es que únicamente se presenten ideas delirantes, aunque pueden existir de modo intermitente síntomas depresivos y, en algunos casos, alucinaciones olfatorias y táctiles (*APA 2000*).

Se carece de información precisa acerca de la prevalencia de este trastorno, aunque la estimación más alta es de 0.03%. Suele comenzar hacia la edad media o avanzada de la vida, la media está en los 40 años, y su curso es muy variable, convirtiéndose en un trastorno crónico en el 30-40% de los casos (*WHO 2003*).

Entre la terapia farmacológica suelen haber fármacos APs.

3. NEUROTRANSMISIÓN DOPAMINÉRGICA

3.1 Dopamina

3.1.1 Dopamina como neurotransmisor del sistema nervioso central

No fue hasta 1958 que la dopamina fue reconocida propiamente como neurotransmisor, ya que su distribución cerebral no uniforme sugería un papel funcional específico. En la mayoría de neuronas del sistema nervioso central, la dopamina actúa como precursor de la noradrenalina; sólo 1 de cada 10^6 neuronas son deficientes en el enzima dopamina β -hidroxilasa, encargado de transformar la dopamina en

noradrenalina, y es en éstas donde la dopamina actúa como neurotransmisor (*Bannon M.J. et al. 2001*). Del contenido total de catecolaminas del cerebro, la dopamina representa más del 50%, y se puede decir que es la catecolamina más importante precisamente porque presenta una localización encefálica más elevada que la noradrenalina. Los cuerpos celulares de las neuronas que contienen dopamina se localizan principalmente en el cerebro medio, y pueden dividirse en tres grupos principales: nigroestriadas, mesocorticales y tuberohipofisarias.

3.1.2 Dopamina: síntesis, almacenamiento y liberación

El precursor de la dopamina es el aminoácido tirosina, adquirido a través de la dieta o bien a partir del aminoácido fenilalanina. La tirosina es transportada hasta el cerebro por sistemas de transporte de aminoácidos de baja afinidad, y posteriormente llega a las neuronas dopaminérgicas desde el espacio extracelular a través de transportadores de aminoácidos de baja y alta afinidad. Una vez en las neuronas, la tirosina es convertida en dihidroxifenilalanina (L-DOPA) por acción del enzima citosólico tirosinhidroxilasa, y normalmente este paso es el más limitante en la síntesis de dopamina. Es el enzima DOPA-descarboxilasa el encargado de convertir la L-DOPA en dopamina, paso que también tiene lugar en el citosol (*Elsworth J.D. et al. 1997*).

En las neuronas dopaminérgicas, la dopamina es transportada desde el citosol hasta vesículas donde se almacena, adquiriendo una concentración 10-1000 veces superior a la del citosol. Tal como muestra la **Figura 1**, tras la llegada de un potencial de acción, la dopamina es liberada a la sinapsis por exocitosis, proceso en el cual se produce una entrada de iones calcio que permiten la fusión de las vesículas con la membrana neuronal (*Elsworth J.D. et al. 1997*). Diversas drogas como la reserpina y anfetaminas actúan aumentando la liberación de dopamina de las vesículas al espacio

sináptico.

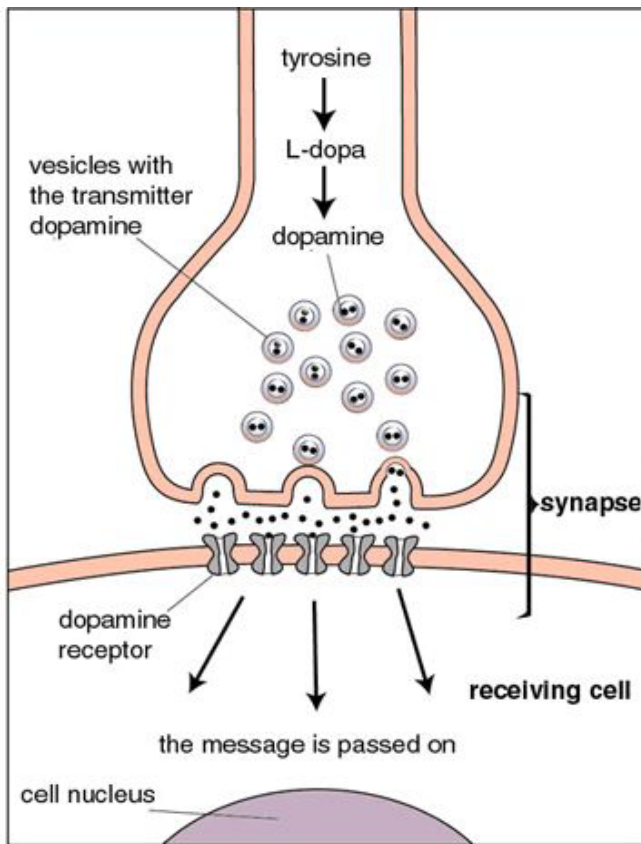


Figura 1. Sinapsis dopaminérgica (imagen tomada de la Universidad de Friburgo, revisión Dopamina).

3.1.3 Dopamina: recaptación

En las terminales dopaminérgicas existen sistemas de transporte de alta afinidad que juegan un papel decisivo en mantener la homeostasis del neurotransmisor. Se trata de proteínas de membrana capaces de transportar dopamina en ambas direcciones dependiendo del gradiente, aunque en condiciones normales lo más habitual es que la dopamina liberada a la sinapsis sea nuevamente transportada hacia la terminal nerviosa y concentrada entre 100-1000 veces, lo que se conoce con el nombre de recaptación (Elsworth J.D. et al. 1997). Dichos transportadores son proteínas sodio-cloro

dependientes, de expresión exclusiva en el sistema nervioso central (y retina), y constan de 12 dominios transmembrana (*Bannon M.J. et al. 2001*). El transportador de dopamina, también llamado DAT, es inhibido por drogas como la cocaína y las anfetaminas (*Greenwood T.A. et al. 2001*), y se lo ha relacionado con un amplio espectro de desórdenes psiquiátricos y neurológicos incluyendo la enfermedad de Parkinson, esquizofrenia, adicción a sustancias de abuso o la pérdida de atención debido a hiperactividad, de ello que constituya una importante diana terapéutica. Estudios *in vivo* mediante la técnica PET realizados en pacientes esquizofrénicos, sugieren alteraciones en la disponibilidad de transportador respecto la población control (*Laakso A. et al. 2000*).

3.1.4 Dopamina: metabolismo

Otro proceso que ayuda a mantener la homeostasis de la dopamina es su biodegradación. Este proceso se efectúa por dos vías diferentes: la dopamina puede experimentar desaminación oxidativa y convertirse en ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) por acción de la monoaminoxidasa (MAO) localizada en la membrana externa mitocondrial. Existen dos isoformas, la A y la B; la isoforma A es la que se encuentra en las neuronas dopaminérgicas y adrenérgicas, mientras que la isoforma B se localiza en células gliales, astrocitos y neuronas serotoninérgicas, siendo la dopamina sustrato de ambas. Por otro lado, la dopamina también puede ser convertida en 3-metoxitiramina a través de la catecol-o-metiltransferasa (COMT). Los dos productos de la degradación sufren transformación enzimática antes de dar origen al metabolito inactivo más importante de la dopamina, el ácido homovalínico. (*Elsworth J.D. et al. 1997, Flórez J. y Pazos A. 2003*).

3.2 Circuitos dopaminérgicos

A pesar de que las neuronas que utilizan la dopamina como neurotransmisor son muy pocas, este sistema de neurotransmisión juega un papel importantísimo regulando el movimiento, la conducta y liberación de hormonas (*Martin Dale 2000*).

Como ya hemos mencionado anteriormente, los circuitos dopaminérgicos se pueden dividir en: nigroestriado, mesolímbico-mesocortical y tuberohipofisario; tal como se puede ver en la **Figura 2**.



Figura 2. Circuitos dopaminérgicos (imagen tomada de la Revista Latinoamericana Virtual de Psiquiatría).

a) **Sistema nigroestriado:**

El sistema nigroestriado se origina en la sustancia negra, que es un núcleo de neuronas localizado en el mesencéfalo. Éste se puede dividir en dos partes: la compacta, formada por neuronas dopaminérgicas, y la reticulata, formada principalmente por

neuronas GABAérgicas. Las neuronas dopaminérgicas con origen en la sustancia negra constituyen el principal tracto dopaminérgico en el cerebro, y proyectan axones que proporcionan una densa inervación al núcleo caudado y al putamen del cuerpo estriado; aproximadamente un 80% de toda la dopamina que se encuentra en el cerebro se halla en el cuerpo estriado. Este sistema es el implicado en la regulación motora y la ejecución de tareas, permitiendo que el movimiento se realice de forma armoniosa y obedezca a las órdenes voluntarias del individuo de acuerdo con patrones motores bien establecidos (*Flórez J. y Pazos A. 2003*).

b) Sistema mesolímbico-mesocortical:

El sistema mesolímbico-mesocortical tiene su origen en el área tegmental ventral, también localizada en el mesencéfalo. Dicho núcleo contiene células dopaminérgicas que envían proyecciones a la corteza frontal y el lóbulo límbico, conformando los circuitos mesocortical y mesolímbico respectivamente.

El sistema mesolímbico se distribuye por el sistema límbico con excepción del hipocampo; principalmente se proyecta hacia el núcleo acumbens, tubérculo olfatorio, núcleo central de la amígdala, septum lateral y núcleo intersticial de la estría terminal (*Flórez J. y Pazos A. 2003*).

El sistema mesocortical se proyecta desde la sustancia negra y el área tegmental ventral hacia las cortezas motoras, promotoras y suplementarias y a las cortezas parietal, temporal y cingular posterior, es decir, hasta las principales áreas sensorimotoras y de asociación (*Flórez J. y Pazos A. 2003*).

Ambos sistemas contribuyen en mantener la atención, la ideación, la evaluación correcta de la realidad, la motivación y el control del pensamiento (*Flórez J. y Pazos A. 2003*), es decir, están implicados en todos aquellos procesos en los que la motivación

forma parte esencial de la conducta, ya sea fisiológica para atender necesidades elementales del individuo, o patológica, creada por hiperestimulación del sistema, que es lo que ocurre en procesos de adicción a sustancias de abuso. Los mecanismos implicados en estos últimos procesos se denominan sistemas de premio o recompensa, ya que son circuitos que al activarse producen un efecto placentero (*Wise R.A. et al. 1996*). La mayoría de sustancias que provocan adicción, interaccionan con receptores presentes en las neuronas dopaminérgicas a nivel de la vía mesolímbica-mesocortical, provocando un incremento de la liberación de dopamina de la neurona presináptica al espacio extracelular. La continua administración de estas sustancias produce una activación continua de la liberación de dopamina, consiguiéndose sensaciones positivas (“premios”), perdiéndose la sensibilidad a estímulos habituales. Cuando se interrumpe administración aparecen sensaciones desagradables, depresión o falta de motivación (*Noble E.P. et al. 1994*).

c) Sistema tuberohipofisario:

Este sistema se origina en el hipotálamo y se proyecta hacia la hipófisis. Las neuronas del sistema tuberohipofisario desempeñan un papel importante en la regulación de la liberación de las hormonas pituitarias, especialmente la prolactina. La dopamina juega un papel inhibitorio sobre la liberación de prolactina (*Martin Dale 2000*).

Adicionalmente a estas vías principales, se han encontrado interneuronas que contienen dopamina en el bulbo olfatorio y en la retina neural (*Flórez J y Pazos A, 2003*).

Las alteraciones de estas tres vías de transmisión se han asociado con diversas enfermedades. Así, la enfermedad de Parkinson se ha asociado con alteraciones en la

vía nigroestriada, la esquizofrenia con alteraciones en la vía mesolímbica-mesocortical y diversas alteraciones hormonales con la vía tuberoinfundibular (*Martin Dale 2000*).

El estriado es uno de los principales componentes de los ganglios basales, que como ya hemos mencionado con anterioridad, es responsable del control del movimiento. Lo que ocurre en los pacientes con Parkinson es que hay una pérdida de neuronas dopaminérgicas de la vía nigroestriada, dando lugar a claras anormalidades motoras. La inervación dopaminérgica hacia regiones límbicas y corticales también está alterada, pero en menor medida, y parece ser que la enfermedad no se manifiesta hasta que la pérdida neuronal en el estriado representa el 80%. Como tratamiento se utiliza L-dopa, ya que al ser precursor de la dopamina (ésta no atraviesa la barrera hematoencefálica), consigue paliar los efectos de la disminución de la actividad dopaminérgica (*Elsworth J.D. et al. 1997*).

El sistema mesolímbico-mesocortical parece jugar un papel importante en el desarrollo de la esquizofrenia. Especial relevancia tienen las conexiones con el núcleo acumbens, ya que la falta de regulación de las vías dopaminérgicas mesolímbicas provocarían una descoordinación en el núcleo acumbens, que a su vez sobre-estimularía ciertas regiones implicadas en el procesamiento de la información de los sentidos, contribuyendo a los síntomas positivos de la esquizofrenia (alucinaciones, delirios, pensamientos incoherentes,..). Por otro lado, dado que las vías dopaminérgicas mesocorticales juegan un papel fundamental en el buen funcionamiento cognitivo de la corteza prefrontal, alteraciones en este sistema estarían relacionadas con los síntomas negativos de la esquizofrenia (aislamiento social, retraimiento social, falta de iniciativa). (*Pani L. 2002, Abi-Dargham A. 2004*).

3.3 Receptores dopaminérgicos

3.3.1 Clasificación de los receptores dopaminérgicos

En los años 80 se propuso que había dos tipos de receptores dopaminérgicos que diferían en sus propiedades farmacológicas y bioquímicas, a los que se denominó D₁ y D₂. Posteriormente, se han clonado hasta 5 receptores (D₁-D₅), que han sido clasificados en dos subfamilias. Estas dos subfamilias se han denominado siguiendo la nomenclatura de los primeros dos receptores identificados, así la subfamilia D₁ incluye los receptores D₁ y D₅, y la subfamilia D₂ incluye los receptores D₂, D₃ y D₄ (*Martin Dale 2000*).

Todos los receptores dopaminérgicos pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteína G, con un extremo extracelular amino terminal, siete dominios transmembrana y un extremo intracelular carboxi terminal (ilustrado en la **Figura 3**).

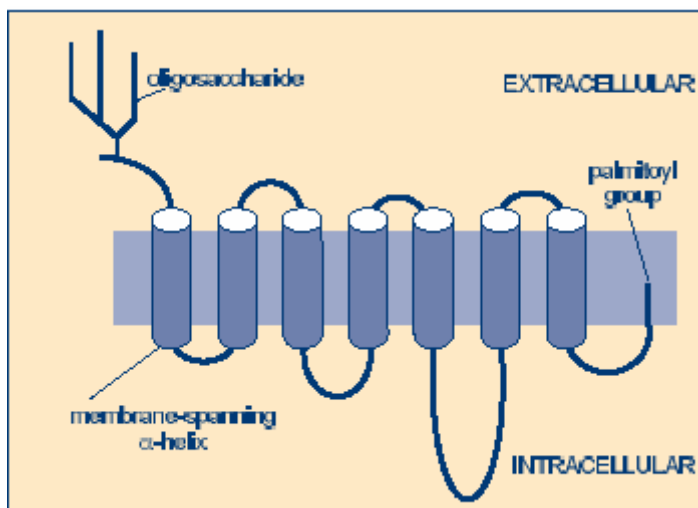


Figura 3. Representación esquemática de un receptor dopaminérgico acoplado a proteína G (*Strange P.G. 2000*).

Se ha visto que la homología entre los distintos receptores dopaminérgicos es elevada, aunque esta es mayor dentro de cada subfamilia. Por ejemplo, los receptores de

la subfamilia D₁ tienen el tercer loop intracelular corto y un largo extremo carboxi terminal, mientras que los de la subfamilia D₂ tienen el tercer loop intracelular largo y un corto extremo carboxi terminal. Este tercer loop intracelular es el que parece ser más importante para la interacción con la proteína G; de modo que para la subfamilia de receptores D₂ se han descrito distintas variantes en base a este loop, por ejemplo, existen variantes cortas y largas de los receptores D₂ y D₃ (las largas tienen una inserción en este loop). También se han descrito variantes polimórficas del receptor D₂ según cambios de un aminoácido en este loop, y para el receptor D₄ se han descrito variantes polimórficas en humanos con distintas longitudes de inserción en dicho loop (*Strange P.G. 2000*).

En cuanto a la señalización, existen diferencias entre ambas subfamilias. Los receptores D₁ y D₅ por medio de proteínas G del tipo G_s, activan la adenil ciclasa (AC) que a su vez se encarga de convertir el ATP en AMP cíclico (cAMP). En cambio, los receptores D₂, D₃ y D₄ actúan inhibiendo la AC por medio de proteínas G_i. Los receptores de la subfamilia D₂ activan también a los canales de K⁺ operados por receptores y estimulan a la fosfolipasa C (PLC), quizá por vía de subunidades βγ liberadas a partir de la proteína G_i activada, para convertir al bisfosfato de fosfatidilinositol (PIP₂) en trifosfato de inositol (IP₃) y diacilglicerol (DAG), con modulación secundaria del Ca²⁺ y las proteinquinasas. La señalización de los autorreceptores D₂ sería por disminución de la fosforilación de la tirosina hidroxilasa en el caso de la supresión la síntesis de dopamina, y posiblemente por modulación de las corrientes de Ca²⁺ o K⁺ en el caso de que limiten la descarga de dopamina (*Baldessarini R.J. et al. 1996*).

3.3.2 Localización de los receptores dopaminérgicos

La localización de los receptores dopaminérgicos puede ser presináptica o postsináptica, tal y como visualiza **la Figura 4**. Los receptores presinápticos, también llamados autorreceptores, constituyen uno de los principales mecanismos responsables de la regulación de la transmisión dopaminérgica, pero dado que podemos encontrar autorreceptores alrededor de toda la neurona dopaminérgica, es más correcto utilizar el término de autorreceptor que el de receptor presináptico. Así, cuando la dopamina liberada al espacio sináptico estimula los autorreceptores de las regiones somatodendríticas se produce una reducción de la actividad espontánea de la neurona, mientras que la estimulación de los autorreceptores presentes en las terminaciones nerviosas se traduce en una inhibición de la liberación de dopamina. Ambos procesos son consecuencia de la apertura de canales de potasio (*Flórez J. y Pazos A. 2003*). Todos los autorreceptores dopaminérgicos pertenecen a la subfamilia D₂, y son más sensibles al efecto de la dopamina que los receptores dopaminérgicos postsinápticos (*Elsworth J.D. et al. 1997*).

Los receptores postsinápticos son los responsables de la acción biológica de la dopamina. Los cinco distintos receptores dopaminérgicos pueden tener localización postsináptica.

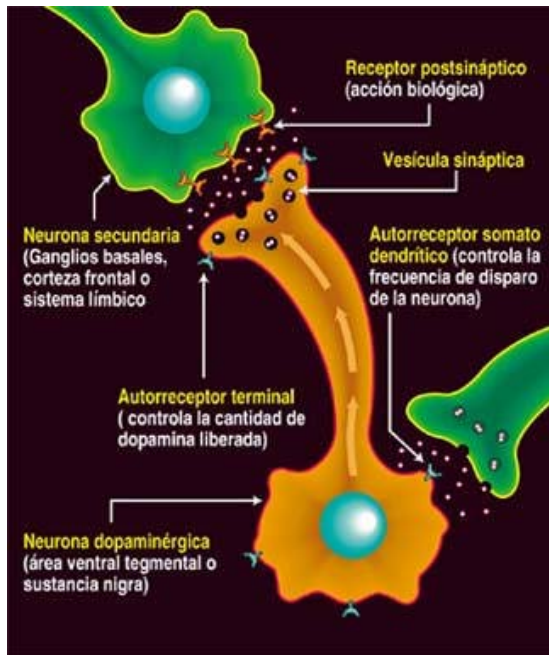


Figura 4. Localización de los autorreceptores y de los receptores postsinápticos en la sinapsis dopaminérgica (imagen tomada de la Revista Latinoamericana Virtual de Psiquiatría).

En la especie humana, encontramos receptores de dopamina tanto en el cerebro como en la periferia, dependiendo del tipo de receptor, tal como refleja la **Figura 5**. A nivel cerebral, salvo excepciones, los receptores de la subfamilia D_1 predominan sobre los de la D_2 , y dentro de la subfamilia D_1/D_5 , los D_1 son los más abundantes. La mayor densidad de receptores D_1 se encuentra en las áreas donde termina el sistema nigroestriado y mesolímbico, es decir, en el caudado, putamen, núcleo acumbens y tubérculo olfatorio, y en menor medida en hipotálamo, tálamo y corteza prefrontal. El receptor D_1 parece que estaría implicado en el control del movimiento, funciones cognitivas y funciones cardiovasculares. Los receptores D_5 son muy escasos y se encuentran principalmente en el hipotálamo, hipocampo y núcleos del tálamo; la función de estos receptores aún no está clara (Flórez J. y Pazos A. 2003, Strange P.G. 2000).

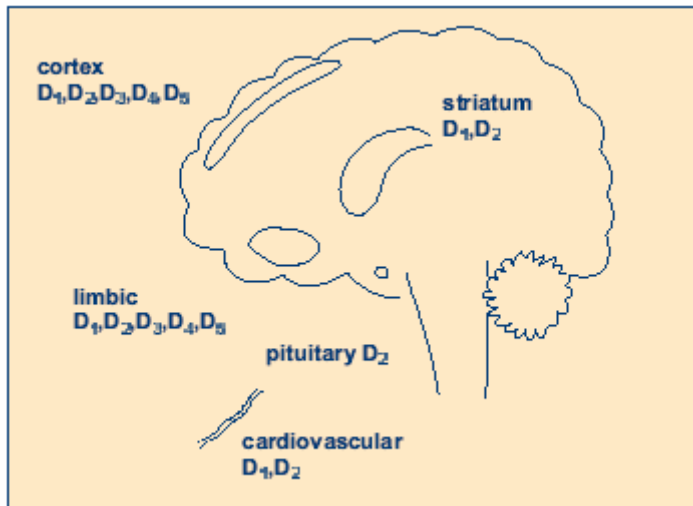


Figura 5. Distribución de los receptores dopaminérgicos en el cerebro y periferia (Strange P.G. 2000).

Dentro de la subfamilia D₂/D₃/D₄, los D₂ son los que predominan en el cerebro. Los receptores D₂, al igual que los D₁, se encuentran principalmente en los lugares donde proyectan las vías nigroestriada y mesolímbica, y en menor medida en la corteza cerebral y en la hipófisis. Como ya hemos indicado anteriormente, su localización puede ser postsináptica o bien actuar como autorreceptores. Estos receptores estarían implicados en la regulación de la función motora, de ciertos aspectos de la conducta y en la secreción de prolactina. Los receptores D₃ se localizan predominantemente en áreas límbicas y en menor medida en regiones de la corteza, y los encontramos en muy baja proporción en el estriado. Como ya hemos indicado, pueden actuar como receptores postsinápticos o como autorreceptores. Los receptores D₄ se expresan de forma mucho más débil, principalmente en la corteza y sistema límbico, y no existen prácticamente en el núcleo estriado. La función de los receptores D₃ y D₄ todavía no está clara, pero su localización en área límbicas sugiere que jugarían un papel importante en funciones cognitivas, emocionales y de la conducta. (Flórez J y Pazos A 2003, Martin Dale. 2000, Strange P.G. 2000).

3.3.3 Implicación de los receptores dopaminérgicos en la esquizofrenia

Basándose en la hipótesis de la hiperactividad dopaminérgica de la esquizofrenia, diversos estudios han intentado relacionar los receptores dopaminérgicos con la susceptibilidad a padecer esquizofrenia, la mayoría de ellos centrándose en el receptor D₂. En este sentido, estudios post-mortem en pacientes esquizofrénicos sugieren que estos pacientes tendrían mayor densidad de estos receptores que la población no esquizofrénica (*Seeman P. et al. 1990*). Por otro lado, estudios *in vivo* utilizando la técnica de SPECT han sugerido un incremento de la ocupación basal de receptores D₂ estriatales por dopamina en pacientes esquizofrénicos respecto a la ocupación encontrada en población control (*Abi-Dargham A. et al. 2000*). Un reciente estudio *in vivo* utilizando la técnica de PET respaldaría estos dos hallazgos, ya que sugiere nuevamente que en pacientes esquizofrénicos habría tanto una mayor densidad como disponibilidad de receptores D₂ a nivel del núcleo caudado (*Hirvonen J. et al. 2005*).

Otros estudios han tratado de analizar si la densidad de algún otro receptor de dopamina estaría alterada en los pacientes esquizofrénicos. En este sentido un estudio sugiere una sobreexpresión del receptor D₃ en linfocitos de esquizofrénicos, restando la expresión del receptor D₄ inalterada (*Ilani T. et al. 2001*). Estudios post-mortem en esquizofrénicos utilizando técnicas de *binding* irían en la misma dirección, ya que describen una mayor densidad del receptor D₃ en el estriado de esquizofrénicos (*Schwartz J.C. et al. 2000*). Estos resultados junto con la localización del receptor D₃ básicamente a nivel del núcleo acumbens, han hecho que muchos investigadores se inclinen por la hipótesis de que dicho receptor también podría tener un papel importante en la enfermedad (hipótesis del receptor D₃).

4. FÁRMACOS ANTIPSICÓTICOS

4.1 Historia y clasificación

La historia de los fármacos antipsicóticos tiene su inicio en el año 1950 con la clorpromazina, sintetizada por la compañía Rhone-Poulenc dentro de un programa de drogas antihistamínicas. Antes de ser utilizada por sus propiedades antipsicóticas fue utilizada como anestésico en cirugía por su efecto sedativo, y posteriormente se descubrieron sus propiedades más destacadas al ser administrada en un paciente en estado maniaco. De modo que al ver que la clorpromazina podía actuar tanto paralizando las neuronas (efecto neuropléjico) como produciendo el efecto contrario, se introdujo el término neuroléptico para clasificar a esta fenotiazina. Pero el impacto de esta droga en Estados Unidos fue muy bajo, ya que debido a diversas razones sociopolíticas sólo se utilizaba como antiemético, quedando así su uso en la psicosis prácticamente restringido a Europa; la droga más utilizada en Norte América en los años cincuenta era la reserpina, compuesto que actúa deplecionando las neuronas de dopamina y serotonina. De modo que debido al amplio uso de estas dos drogas en trastornos psiquiátricos, también se las denominó tranquilizantes mayores (*Kapur S. et al. 2003*).

El término antipsicótico (AP) no fue utilizado hasta el año 1963 después de que Carlsson estudiara el efecto clínico de la clorpromazina y el haloperidol (butirofenona). Basándose en sus observaciones sugirió que estas drogas actuaban bloqueando receptores de monoaminas, provocando un aumento de metabolitos de dichas monoaminas como efecto compensatorio. Posteriormente, Seeman postuló que los fármacos APs ejercían su acción interaccionando con receptores de dopamina, y dicha acción estaba estrechamente relacionada con la respuesta antipsicótica. Técnicas de

binding proporcionaron evidencia directa de que la potencia observada en clínica estaba estrechamente ligada a los receptores de dopamina D₂ del sistema mesolímbico-mesocortical (*Seeman P. 1987*).

En la década de los setenta fueron desarrolladas nuevas drogas APs en respuesta a los problemas existentes con los neurolépticos clásicos, entre los que pueden citarse la falta de eficacia en algunos pacientes, pobre mejoría de los síntomas negativos e importantes efectos secundarios, incluyendo los efectos extrapiramidales (EPS). Una de las series de nuevos fármacos fueron las dibenzazepinas tricíclicas, entre las que destacó la clozapina, que constituyó el primer AP atípico sintetizado. Aún hoy en día, la clasificación más aceptada de los fármacos APs, a pesar de su inespecificidad, es la de APs típicos, entre los cuales los más utilizados son clorpromazina y haloperidol, y APs atípicos. Aunque la clozapina es el prototipo de AP atípico, su utilización quedó limitada debido a sus serios efectos adversos, pero fue clave para que hubiera un gran interés en encontrar nuevos fármacos APs que permitieran tratar más efectivamente los síntomas variados de la esquizofrenia, reduciendo la incidencia de EPS, lo que provocó que a partir de los años 90s, se desarrollara una segunda generación de APs atípicos. Estos nuevos fármacos fueron sintetizados imitando el perfil farmacodinámico de la clozapina, es decir, se trató de desarrollar moléculas que bloquearan los receptores serotoninérgicos 5-HT₂, al igual que la clozapina. Esta estrategia permitió obtener compuestos por lo menos tan efectivos como los típicos en el tratamiento de los síntomas positivos de la esquizofrenia, que parecían más efectivos mejorando los síntomas negativos, con un menor riesgo de producir alteraciones motoras y obviando la agranulocitosis (principal efecto secundario producido por la clozapina). Entre dichos fármacos se encuentran APs como la risperidona, olanzapina, quetiapina, y ziprasidona (*Kapur S. et al. 2003*).

Actualmente diversas compañías siguen diferentes líneas de investigación para obtener APs más eficaces que los existentes y que causen efectos secundarios en el menor grado posible. En este sentido, aripiprazole es uno de los APs atípicos desarrollados más recientemente (*Mortimer A.M. 2004*).

4.2 Antipsicóticos atípicos frente a los típicos: EFICACIA

4.2.1 Eficacia en el tratamiento de la esquizofrenia

Independientemente de las propiedades sedantes o tranquilizantes de estos fármacos (efecto neuroléptico), en general, los fármacos APs actúan de manera decisiva mejorando o suprimiendo el trastorno esquizofrénico, especialmente los síntomas positivos. Se ha visto que la medicación AP reduce el riesgo de recaída, y cuando dicha medicación es interrumpida, incluso tras diversos años de terapia efectiva, el riesgo de recaída aumenta entre 60-70% (*Krausz M. 2002*).

El hecho de que existan tantos fármacos APs, nos plantea la cuestión de si son todos los APs igual de eficaces en el tratamiento de la esquizofrenia.

La incorporación de la clozapina a la terapia de la esquizofrenia marcó una diferencia fundamental en relación con los APs clásicos, tanto a nivel de eficacia como en la reducción de algunos de los efectos indeseables. Además de mejorar los síntomas positivos, la eficacia de la clozapina en el tratamiento de la esquizofrenia era superior a la de los APs típicos por tres razones: era eficaz en algunos pacientes que no respondían a los APs típicos, tenía mayor capacidad para mejorar los síntomas negativos y demostró posibles beneficios en síntomas cognitivos y afectivos (*Kapur S. et al. 2001*).

El hecho de que la clozapina presentara mayor eficacia que los APs típicos, hizo pensar que en general los APs atípicos eran más eficaces que los típicos en el tratamiento de la esquizofrenia (*Kapur et al. 2001, Krausz 2002*).

- Síntomas positivos: algunos estudios, aunque no todos, apuntan que en pacientes en los que los APs típicos no son efectivos, la clozapina sí que es efectiva. Los datos del resto de APs atípicos no están claros, parecen sugerir cierto beneficio en estos pacientes, aunque esta evidencia es muy leve (*Kapur et al. 2001*).
- Síntomas negativos: contrariamente a lo que se creía inicialmente, se ha visto que los APs típicos son eficaces en el tratamiento de los síntomas negativos primarios (inherentes a la enfermedad), aunque en menor grado que en el tratamiento de los síntomas positivos; lo que ocurre es que son más propensos a causar síntomas negativos secundarios (resultado de síntomas positivos mal controlados, aparición de efectos indeseables). Un amplio meta-análisis sugiere que la eficacia de los APs atípicos en el tratamiento de los síntomas negativos es ligeramente mayor que la de los típicos, aunque no está claro si esta superioridad es un reflejo del menor riesgo de producir EPS o es un efecto independiente en la mejora de los síntomas negativos primarios (*Leucht S. et al. 1999*).
- Síntomas afectivos: hay evidencias alentadoras de que los nuevos APs atípicos podrían tener efecto sobre los trastornos afectivos asociados a la esquizofrenia. Dichos resultados no son comparables con los obtenidos en estudios con APs típicos, ya que las dosis utilizadas para éstos son muy superiores.
- Síntomas cognitivos: a diferencia de los APs convencionales que no suponen ninguna mejora apreciable en las funciones cognitivas, parece que los atípicos sí que lo harían, aunque estos resultados son muy preliminares.
- Calidad de vida: los resultados sobre la mejora de la calidad de vida de los pacientes esquizofrénicos también han favorecido a los APs atípicos, aunque la diferencia entre ambos no parece significativa.
- Consumo de sustancias de abuso: se ha relacionado el tratamiento con clozapina

con el menor consumo de sustancias de abuso.

En resumen, hasta el momento, aunque existen datos que parecen indicarlo, no se puede afirmar que los APs atípicos, en general, presenten mayor eficacia en el control de la sintomatología psicótica que los APs típicos, ya que los resultados son poco consistentes.

4.2.2 Eficacia en el tratamiento del trastorno bipolar

A parte de su utilización en el tratamiento de la esquizofrenia, los fármacos APs han demostrado ser una terapia eficaz en el tratamiento de otras enfermedades con síntomas psicóticos como el trastorno bipolar, y en especial los APs atípicos. Sobre todo su eficacia radica en el tratamiento de los episodios maníacos, ya que su utilidad en episodios depresivos es bastante limitada. Sin embargo, algunos estudios sugieren que la utilización de estos fármacos en combinación con antidepresivos permite obtener mayor éxito terapéutico que la monoterapia antidepresiva (*Berk M. 2005, Calabrese J.R. 2005*).

4.3 Antipsicóticos atípicos frente a los típicos: EFECTOS SECUNDARIOS

Desde la introducción de los primeros APs, su utilización a largo plazo estuvo comprometida por la aparición, en un alto porcentaje de pacientes, de determinados trastornos de movimiento llamados efectos extrapiramidales (EPS, del inglés *extrapyramidal syndromes*). La incorporación de la clozapina supuso un avance muy importante debido a que presentaba un menor riesgo de EPS, aunque tenía otros problemas, ya que producía agranulocitosis en aproximadamente el 1% de los pacientes expuestos a dicho fármaco, y recientemente se ha asociado esta droga con diversos

casos de pericarditis mortal. Pero la potencial falta de EPS asociada a la clozapina hizo crecer el interés por desarrollar nuevos fármacos con su mismo perfil que no produjeran efectos tan graves como la agranulocitosis (*Kulisevsky J. et al. 2003*).

4.3.1 Efectos extrapiramidales (EPS)

El principal efecto secundario asociado al tratamiento con APs es la aparición de los trastornos del movimiento denominados EPS. Estos efectos incluyen parkinsonismo, acatisia y distonías, que son trastornos de aparición relativamente aguda (varias semanas y nunca más allá de los dos meses del inicio de la terapia), aparecen en aproximadamente un 90% de los pacientes tratados con APs típicos y con la aplicación de una serie de medidas son efectos reversibles. En un 20% de los pacientes aparecen los síntomas tardíos (no antes de los 3-6 meses del inicio del tratamiento, aunque lo más frecuente es que aparezcan tras 1-2 años) que incluyen la discinesia o distonía tardía y éstos suelen ser de carácter irreversible (*Academic Highlights 2000*).

Existen diversas escalas para evaluar la severidad de los EPS, como la *Simpson-Angus Scale* (SAS), la *Barnes-Akathisia Scale* (BAS) y la *Abnormal Involuntary Movement Scale* (AIMS), aunque a menudo también se mide la aparición de EPS por el requerimiento de medicación anticolinérgica para tratar sintomáticamente dichos efectos secundarios (*Kane J.M. 2001*).

- **Parkinsonismo**

Este parkinsonismo farmacológico presenta un complejo sintomático muy similar al de la enfermedad del Parkinson idiopática, constituido básicamente por rigidez, bradicinesia (lentitud en los movimientos), temblor y alteración de los reflejos posturales. En estos casos predominan la bradicinesia o acinesia (pérdida de movimiento), que suele afectar básicamente a nivel facial, y la rigidez; ambas suelen

ser de carácter simétrico, aunque la alteración de los reflejos posturales y la presencia de sialorrea también son frecuentes. El temblor, sobre todo en reposo, aparece con menor frecuencia, pero puede haber hasta un 50% de pacientes en los que el temblor se manifieste de forma asimétrica e incluso afectando la mandíbula, lengua y extremidades inferiores. El temblor peri-oral de baja frecuencia, también denominado temblor de conejo, es un signo muy característico de este tipo de parkinsonismo. (*Kulisevsky J. et al. 2003*).

La aparición de parkinsonismo no se da hasta al cabo de varios días o semanas de haber iniciado el tratamiento, y suele predominar en las mujeres (2:1). Para los APs típicos la afectación de los pacientes llega al 50%, y aunque es menos frecuente, también puede aparecer con el uso de APs atípicos. Con la risperidona y la olanzapina este efecto es proporcional al aumento de la dosis. Con el uso de quetiapina el parkinsonismo se halla prácticamente ausente (al igual que con el uso de ziprasidona, aunque la experiencia con este fármaco es más escasa) y es la opción más ventajosa para el control de la psicosis en enfermos con enfermedad de Parkinson idiopática (*Kane J.M. 2001*).

Para el tratamiento del Parkinson farmacológico, la medida más efectiva es la retirada del fármaco, y en la mayoría de los pacientes estos signos desaparecen tras los dos primeros meses de la retirada. Si la aparición de estos signos es debida al tratamiento con un AP típico, se puede intentar remplazarlo por un atípico, pero si son debidos al tratamiento con un AP atípico, se podría intentar reducir su dosis. Si no pueden realizarse estas medidas o los síntomas persisten, puede estar indicado iniciar tratamiento antiparkinsoniano con un fármaco anticolinérgico como el biperideno, aunque éste debería evitarse en pacientes ancianos, dementes y en aquellos que presenten discinesia tardía, ya que pueden empeorarla; en estos casos

puede ser útil la amantadina. Como último recurso puede utilizarse la levodopa, pero hay que tener en cuenta que podría exacerbar la enfermedad psiquiátrica subyacente (*Gray R. et al. 2000, Kulisevsky J. et al. 2003*).

○ **Acatisia**

La acatisia es un efecto secundario en el que se da una sensación subjetiva de inquietud, ansiedad y necesidad de moverse. Con frecuencia los pacientes refieren una clínica de piernas inquietas y una sensación interna de tensión en el cuerpo que les obliga a cambiar postura. Se acompaña de signos objetivos de hiperactividad motora como incapacidad de mantenerse sentado quieto o balancearse adelante y atrás, que en ocasiones puede malinterpretarse como ansiedad o agitación. Estos efectos suelen aparecer al inicio del tratamiento, normalmente al cabo de pocas horas o días, aunque también pueden ocurrir tras una exposición prolongada (acatisia tardía) (*Kulisevsky J. et al. 2003*).

La prevalencia de la acatisia es de 20-40% en pacientes tratados con APs, siendo más frecuente con el uso de los típicos. Se conocen una serie de factores de riesgo como el uso de APs de alta potencia, dosis altas y escalada de dosis rápida, y la toma concomitante de estimulantes (*Kulisevsky J. et al. 2003*).

La acatisia es el EPS más difícil de tratar, ya que es el peor entendido. Las primeras estrategias consisten en disminuir la dosis del AP, cambiarlo por otro de menor potencia o utilizar un fármaco atípico. Si esto no funcionara, se puede introducir un fármaco para controlar la acatisia; los más utilizados son beta-bloqueantes como el propranolol o el metoprolol, ya que los anticolinérgicos y las benzodiazepinas han demostrado menor eficacia. Como última opción se puede recurrir a la retirada del tratamiento AP (*Gray R. et al. 2000, Kulisevsky J. et al. 2003*).

- **Distonía aguda**

La distonía se caracteriza por la presencia de espasmos musculares prolongados que causan movimientos repetitivos o sostenidos de carácter torsional y que determinan la aparición de posturas anómalas. Aunque estas contracciones afectan principalmente a la musculatura craneocervical, también es posible una afectación axial e incluso llegar a ser generalizadas. Su aparición se suele dar en las primeras 48h de la instauración del tratamiento AP, y se ha visto que los pacientes que desarrollan un episodio distónico agudo tienen mayor predisposición a padecer nuevos episodios distónicos y a desarrollar cuadros tardíos (*Kulisevsky J. et al. 2003*).

La incidencia de la distonía aguda es de un 2-3% en pacientes tratados con APs, aunque ésta es mayor cuando se utilizan APs clásicos, siendo muy variable según los estudios considerados (0-90%) (*Gray R. et al. 2000*). Con los APs atípicos el riesgo es menor, pero su aparición no es rara en tratamientos con risperidona u olanzapina. Entre los factores de riesgo para su aparición está la edad (siendo más susceptibles los jóvenes), el sexo (con ligera predominancia masculina) y la potencia del AP sobre el receptor D₂ (*Kulisevsky J. et al. 2003*).

La primera medida para tratar la distonía aguda es reducir la dosis de AP o bien retirarlo. Si esto no es posible se pueden utilizar anticolinérgicos como el biperideno, la apomorfina a dosis bajas o las benzodiazepinas como relajantes musculares (*Gray R. et al. 2000*).

- **Síndromes tardíos**

Los síndromes tardíos incluyen la discinesia y la distonía tardía. Se trata de movimientos o posturas anormales e involuntarias de determinadas zonas musculares que, en el caso de la discinesia tardía son de tipo coreico y suelen afectar

fundamentalmente la musculatura craneal en forma de movimientos bucolinguomasticatorios, y en la distonía tardía son sostenidos y suelen afectar la musculatura cervicocraneal, aunque también pueden afectar tronco y extremidades. Suelen aparecer en un 20% de los pacientes expuestos de forma crónica a APs típicos, y esta frecuencia se ve incrementada en ancianos, mujeres, pacientes con lesiones cerebrales y en aquellos que han sufrido de forma precoz otros EPS. Se ha visto que en tratamientos con APs atípicos la proporción de casos baja en un 5-10%, aunque ésta es difícil de valorar ya que muchas veces se ha tratado previamente al paciente con otro AP (*Kulisevsky J. et al. 2003*).

Se pensó que el hecho de interrumpir el tratamiento AP impediría la aparición de los síndromes tardíos, pero se ha visto que no sólo no se disminuía la incidencia de discinesia tardía, sino que además se exacerbaba la clínica en aquellos pacientes que ya presentaban el cuadro. Otras terapéuticas utilizadas como el uso de vitamina E no han demostrado tener un impacto significativo. La mejor opción es cambiar el AP típico por uno atípico, y en población anciana los neurolépticos clásicos constituirían la última opción terapéutica (*Gray R. et al. 2000, Kane J.M. 2001*).

4.3.2. Consecuencias de los EPS

Los EPS iatrogénicos representan un importante problema para el paciente, el médico y las personas a cargo del enfermo. Este tipo de sintomatología no sólo crea incapacidad física debido a las alteraciones del movimiento, sino que también da lugar a un rechazo social, supone un obstáculo para la rehabilitación y genera pocas perspectivas en la búsqueda de empleo. Pero sobre todo, los EPS tienen un impacto muy negativo en el seguimiento del tratamiento por parte del enfermo que

frecuentemente acaba por abandonarlo. Para muchos pacientes este hecho supondrá una recaída, reingreso, o bien largas hospitalizaciones; desde el punto de vista económico, todo ello supondrá un mayor gasto sanitario.

Una revisión de diversos estudios, muestra que el 42% de los pacientes incumplen el tratamiento en los 2 años de su inicio (*Kane J.M. 2001*). Los clínicos han infraestimado históricamente la influencia de los EPS en el resultado final del tratamiento; un estudio describe que el 37% de los pacientes asociaba los efectos indeseables de los APs como justificación para el incumplimiento de la medicación, mientras que sólo un 7% de los clínicos reconocía esta asociación (*Hoge S.K. et al. 1990*). En particular, la acatisia se ha relacionado con el incumplimiento y el mayor riesgo de suicidio (*Kane J.M. 2001*). La negación de la enfermedad es posiblemente la causa más frecuente de incumplimiento de la terapia, y va muy unida a la intolerancia de los efectos indeseables de estos fármacos. El potencial para desarrollar EPS aumenta con el consumo crónico de AP. Como la terapia de la esquizofrenia suele ser de "por vida", los pacientes adolescentes presentan un riesgo particular de sufrir estos efectos indeseables. Otros grupos de riesgo elevado serán las personas mayores, y los pacientes con afectaciones neurológicas (por ejemplo con alguna forma de parkinsonismo).

La aparición de EPS a menudo conlleva la utilización de tratamientos adicionales, que pueden provocar interacciones farmacológicas, efectos adversos adicionales y suelen reducir ciertos aspectos de las funciones cognitivas (*Kane J.M. 2001*).

4.3.3 Otros efectos secundarios de los AP

- **Hiperprolactinemia**

Todos los APs típicos se han relacionado con el riesgo de aumentar la producción de prolactina, asociado a un bloqueo de la vía tuberoinfundibular. Los fármacos atípicos, como clase, no producen un incremento en la producción de esta hormona. La risperidona sería el único AP atípico que tendría un cierto riesgo de provocar hiperprolactinemia (*Kapur S. et al. 2001*).

- **Aumento de peso y efectos sobre la tolerancia a la glucosa**

Tanto los APs típicos como los atípicos provocan un aumento de peso en los pacientes tratados con dichos fármacos, y el riesgo es especialmente elevado con la olanzapina y la clozapina. El mecanismo por el cual aparece este efecto secundario no está claro, parece que sería por bloqueo de los receptores de serotonina 5-HT_{2C} y de histamina H₁ (*Kapur S. et al. 2001*).

Otro efecto secundario que produce el tratamiento AP es la intolerancia a la glucosa, que es mayor para los APs atípicos que para los típicos. Este efecto está sobre todo asociado a clozapina y olanzapina (*Kapur S. et al. 2001*).

- **Depresión**

El tratamiento con APs como la risperidona se ha asociado a la aparición de cuadros depresivos.

En resumen, si analizamos las diferencias entre APs típicos y atípicos teniendo en cuenta su eficacia y los efectos secundarios que producen, diríamos que en general las dos características atribuibles a los APs atípicos como clase presentan menor riesgo de EPS y no provocan hiperprolactinemia, o bien lo hacen de forma transitoria. Múltiples trabajos han intentado relacionar estas diferencias con las distintas

propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas de dichas drogas (*Kapur S. et al. 2001*).

4.4 Mecanismo de acción de los APs

4.4.1. Bloqueo del receptor D₂ estriatal

Como ya hemos mencionado anteriormente, a mediados de los años setenta ya se había relacionado el efecto clínico de estos fármacos con el bloqueo dopaminérgico. Técnicas de *binding* evidenciaron que los neurolépticos tenían elevada afinidad por los receptores del tipo D₂, y se relacionó la afinidad *in vitro* por este receptor con su eficacia clínica (*Seeman P. et al. 1976*).

A lo largo de los años ochenta y noventa, se vio que el bloqueo de los receptores D₂ y la eficacia clínica observada no seguían una relación lineal. Algunos pacientes que respondían bien al tratamiento AP mostraron bajos niveles de bloqueo D₂, poniendo en duda la hipótesis dopaminérgica (*Jones H.M. 2002*). Posteriormente se ha visto que aunque todos los fármacos APs que han demostrado eficacia clínica poseen al menos cierto grado de antagonismo por los receptores D₂, la mayor parte de ellos también tienen afinidad por distintos receptores de otros sistemas de neurotransmisión (serotoninérgicos, adrenérgicos, muscarínicos,..), por lo que a pesar de que se considera que el bloqueo D₂ es el principal responsable de la acción antipsicótica, parece que lo más probable es que también hubiera otros sistemas implicados (*Kapur S. et al. 2003*).

Se ha intentado relacionar el bloqueo dopaminérgico en las vías mesolímbica y mesocortical con la acción sobre los síntomas positivos y negativos de la esquizofrenia. Un estudio en un modelo animal con amisulpride, que es más selectivo por receptores D₂ y D₃ que otros AP, y cuya acción es particularmente pronunciada en regiones límbicas, se vio que no había relación directa entre la afinidad a estos receptores y la

eficacia clínica. A dosis bajas de amisulpride se vio que sobre todo mejoraban los síntomas negativos, y se relacionó este efecto con el bloqueo de receptores presinápticos en regiones corticales, donde la densidad de receptores es baja. A dosis altas, el bloqueo en el núcleo acumbens era mayoritariamente postsináptico, produciéndose una disminución en la transmisión dopaminérgica y obteniendo una mejoría de la sintomatología positiva (*Pani L. 2002*). Otros estudios han intentado relacionar el bloqueo de los receptores D₁ de la corteza prefrontal con la acción sobre los síntomas negativos (*Mortimer A.M. 2004*).

Como ya se ha mencionado, el principal problema del tratamiento AP es la aparición de los EPS. Su incidencia y su clínica están bien descritas, pero los mecanismos fisiopatológicos por los cuales aparecen aún no están claros. Parece que la causa más probable estaría relacionada con el grado de ocupación de los APs de los receptores dopaminérgicos de la vía nigroestriada. Dado que todos los APs tienen afinidad por el receptor D₂, y su amplia distribución en el sistema nigroestriado, se ha postulado que este receptor sería el que jugaría un papel más importante en la aparición de EPS. Esta teoría no explicaría el porqué los APs bloquean los receptores de dopamina en minutos, mientras que la aparición de los EPS agudos no tiene lugar hasta diversas horas o incluso días tras su administración (*Gray R. et al. 2000*).

Estudios farmacodinámicos con estas drogas, han sugerido que una ocupación de receptores D₂ en el estriado inferior al 70% no produciría EPS, una ocupación entre el 70-80% aumentaría el riesgo a padecerlos, y con una ocupación superior al 80% se podría afirmar que la aparición de EPS tendría una probabilidad muy elevada (*Kasper S. et al., 1999*). Datos obtenidos por las técnicas de PET y SPECT sugieren que, en relación con el riesgo de EPS, la clozapina y el haloperidol se sitúan en 2 extremos opuestos, precisamente a causa de su ocupación estriatal D₂, baja y alta

respectivamente. Tanto clozapina como quetiapina a dosis terapéuticas presentan una ocupación de receptores D₂ en el estriado muy baja, lo que correlaciona con el bajo riesgo de EPS; haloperidol, que presenta un riesgo de producir EPS muy elevado, a dosis terapéuticas presenta una ocupación de receptores D₂ en el estriado superior al 80%; fármacos que producen EPS en función de la dosis utilizada, como risperidona y olanzapina, presentan una ocupación de receptores D₂ en el estriado entre un 60-80% según la dosis (Kasper S. et al., 1999). En la **Figura 6** se visualiza la distinta ocupación D₂ estriatal para diversos APs a dosis terapéuticas.

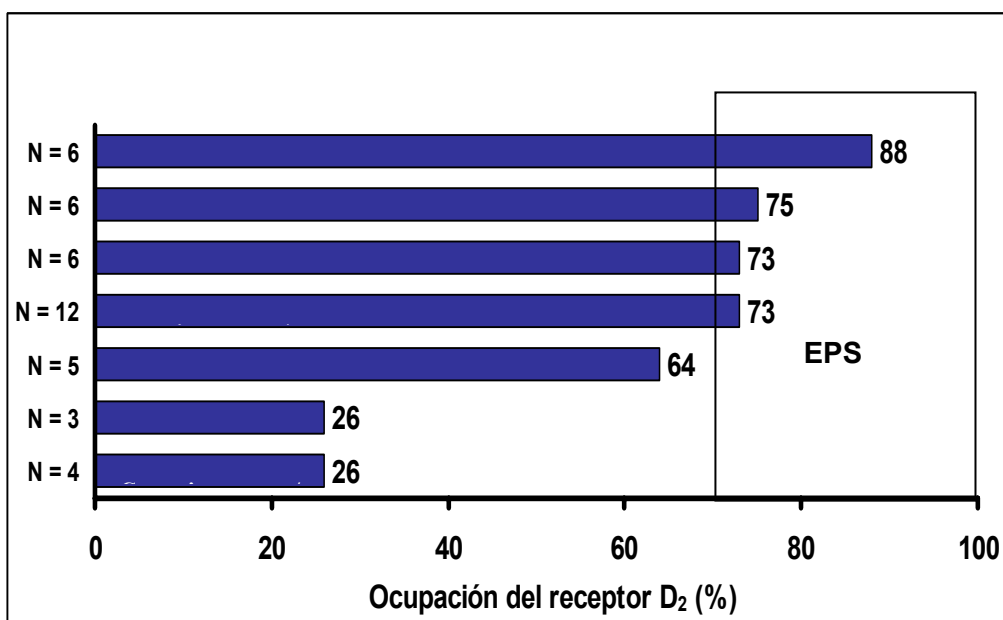


Figura 6. Índices de ocupación del receptor D₂ estriatal para distintos APs (Kasper S. et al., 1999).

La hipótesis más aceptada para explicar la aparición del parkinsonismo y las discinesias, sería la que considera que estarían provocados por el bloqueo del receptor D₂ dopaminérgico en la vía nigroestriada. Se ha propuesto que el parkinsonismo sería resultado de una alteración en el balance de las funciones de las vías nigroestriada y

pálidoestriada (*Ossowska K. 2002*). Al principio del tratamiento, los APs provocan un fuerte aumento de la velocidad de recambio de la dopamina en las vías nigroestriada y mesolímbica, principalmente debido a un bloqueo de receptores presinápticos, y parece que en algunas fases este efecto superaría el bloqueo postsináptico en el estriado (*Flórez J., Pazos A. 2003*). Parece que la aparición de la distonía aguda estaría relacionada con estados de hipo e hiperactividad dopaminérgica debido a fenómenos de tolerancia en el recambio de dopamina, junto con un desequilibrio brusco al inicio del tratamiento AP de otros sistemas como el colinérgico o el serotoninérgico (*Gray R. et al. 2000*). Las causas propuestas para la acatisia se relacionan con la vía noradrenérgica, de modo que el bloqueo de receptores presinápticos aumentaría la actividad noradrenérgica y por tanto favorecería su aparición, además del bloqueo dopaminérgico en el sistema mesolímbico-mesocortical (*Kulisevsky J. et al. 2003*).

Estudios post-mortem y recientes estudios *in vivo* utilizando la técnica de PET realizados en pacientes que habían recibido tratamiento AP durante largos periodos de tiempo han demostrado que experimentaban una “up” regulación de receptores D₂ en sus cerebros. Dicha “up” regulación dopaminérgica a nivel nigroestriatal se traduce en un aumento de la densidad de receptores D₂ en dicha región, cuyo efecto se piensa que sería el responsable de la discinesia tardía. Por otro lado, aunque la administración crónica de APs no produce cambios en la densidad de receptores D₁ en el estriado, se ha supuesto que sí que está aumentada la estimulación de dichos receptores, dando lugar a un fenómeno de “hipersensibilización” de los mismos. La discinesia tardía sería, por tanto, la consecuencia de una alteración en el balance de las funciones de los receptores D₁ y D₂ en el estriado (*Ossowska K. 2002*).

4.4.2. Otros mecanismos

A pesar de que los fármacos atípicos, principalmente actúan bloqueando los receptores D_2 , todavía no está claro si intervienen otros mecanismos de acción. En este sentido, hay diversas teorías que intentan explicar las diferencias en la clínica de estos fármacos:

1) Elevada afinidad por los receptores serotoninérgicos 5-HT₂

Una de las hipótesis sobre el carácter atípico de los APs consiste en el bloqueo de los receptores serotoninérgicos 5-HT_{2A}. La estimulación de estos receptores actúa como freno de la transmisión dopaminérgica, por lo que un fármaco que los antagonice la facilitará, evitando la aparición de EPS, tal y como visualiza la **Figura 7**. Debido a que a nivel subcortical la densidad de receptores 5-HT_{2A} es baja, la acción AP no se vería comprometida (Mortimer A.M. 2004).

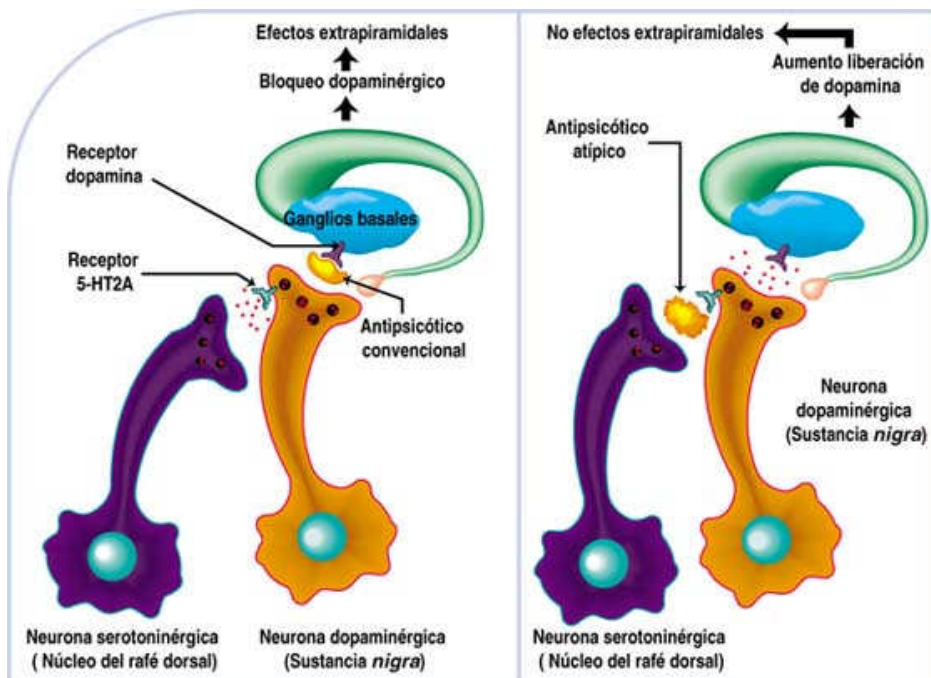


Figura 7. Receptores 5-HT_{2A} y aparición de EPS (imagen tomada de la Revista Latinoamericana Virtual de Psiquiatría).

Se ha propuesto que como mayor sea el cociente afinidad 5-HT_{2A}/ afinidad D₂, mayor carácter atípico tendrá un fármaco, pero a pesar de que la mayoría de los APs atípicos existentes en la actualidad presentan un cociente de afinidad 5-HT_{2A}/ D₂ elevado, y que datos de estudios en animales han evidenciado que la manipulación de los receptores 5-HT_{2A} permitiría modular la transmisión dopaminérgica, no se puede afirmar que la actividad sobre el receptor 5-HT₂ sea ni necesaria ni suficiente para conferir el carácter atípico. Si ordenamos diferentes APs según su carácter atípico (considerando la aparición de EPS como indicador) y por otro lado los ordenamos según su afinidad 5-HT_{2A}/ D₂, vemos que para la mayoría de ellos no hay coincidencia (*Kapur S. et al. 2003*):

Ausencia de EPS: quetiapina > olanzapina > risperidona

Afinidad 5-HT_{2A}/ D₂: risperidona > olanzapina > quetiapina

La **Tabla 1** relaciona la potencia de distintos APs sobre los receptores D1, D2 y 5-HT2 con la aparición de efectos adversos.

Tabla 1. Perfil farmacológico y de efectos adversos de haloperidol y distintos APs atípicos (*Kapur S. et al. 2001*).

Potencia sobre receptores	Haloperidol	Clozapina	Risperidona	Olanzapina	Quetiapina	Ziprasidona
D ₁	+++	++	-	+++	+	+
D ₂	++++	++	+++	+++	++	+++
5-HT ₂	+	++++	++++	++++	+++	+++
Riesgo EPS	++++	+/-	++	+	+/-	++
Hiperprolactinemia	++++	-	++++	+	-	+
Aumento de peso	+	++++	++	++++	++	-

2) Baja afinidad por los receptores dopaminérgicos D₃

Debido a la baja afinidad de los APs atípicos por los receptores D₃ respecto a los APs típicos, se ha sugerido que éste podría ser uno de los mecanismos de acción de estas drogas (ver **Tabla 2**). Por otro lado, el hecho de que ratones *knockout* para el gen DRD3 presenten hiperactividad motora (*Holmes A. et al. 2004*), ha hecho pensar que un intenso bloqueo de los receptores D₃ pudiera explicar en parte la aparición de EPS.

Tabla 2. Afinidad de distintas drogas APs por los receptores dopaminérgicos del tipo D₂ (valores obtenidos en experimentos de *binding* con células que sobre-expresaban los receptores, *Strange P.G. 2001*).

	k _i (nM)		
	D ₂	D ₃	D ₄
Clorpromacina	0.55	1.2	9.7
Haloperidol	0.53	2.7	2.3
Clozapina	35	83	22
Risperidona	1.3	6.7	7.5
Olanzapina	7.5	49	15
Quetiapina	105	340	2000

3) Elevada afinidad por los receptores dopaminérgicos D₄

El papel de los receptores D₄ fue sugerido al ver que la clozapina tenía una afinidad muy elevada por dichos receptores respecto a la afinidad por el receptor D₂ y al hecho de que dichos receptores tuvieran una localización mayoritariamente extraestriatal. Esta teoría perdió importancia al ver que otros AP, algunos de ellos típicos, también presentaban elevada afinidad por estos receptores y a veces incluso

mayor (ver tabla2), y algunos APs atípicos como quetiapina y amisulpride no presentan prácticamente afinidad por el receptor D₄ (*Kapur S. et al. 2001*).

4) Elevada disociación de los receptores dopaminérgicos D₂

Dado que la baja afinidad por el receptor D₂ por sí misma parece que sería suficiente para conferir el carácter atípico, se ha sugerido la velocidad de disociación de los APs del receptor D₂ sería el parámetro que explicaría mejor las diferencias entre la afinidad de los distintos APs por dicho receptor. Drogas con baja afinidad por los receptores D₂ se disociarían del receptor más rápidamente atenuando la transmisión dopaminérgica pero sin alterar el papel fisiológico del neurotransmisor, de modo que la actividad antipsicótica no se vería comprometida y se evitarían efectos secundarios debidos al bloqueo dopaminérgico como los EPS y la hiperprolactinemia. (*Kapur S. and Seeman P. 2001*).

En tratamientos a largo plazo se cree que la baja velocidad de disociación de los APs del receptor D₂ explicaría la “up” regulación a nivel nigroestriatal, la cual se piensa que es responsable de la aparición de la discinesia tardía. De similar modo, se ha postulado que la “up” regulación de receptores D₂ en las vías mesolímbica y mesocortical contribuiría al empeoramiento de los cuadros psicóticos. Esta teoría explicaría que fármacos con alta velocidad de disociación de los receptores D₂ como la clozapina sean eficaces en algunos pacientes en los que el tratamiento con APs típicos (con velocidad de disociación lenta) han dejado de funcionar (*Ross D.E. 2004*).

Aunque todavía no están claros los mecanismos por los cuales dicha rápida disociación permitiría la atipicidad, esta hipótesis se está considerando un buen predictor (*Kapur S. et al. 2001*).

5) Carácter agonista sobre los receptores dopaminérgicos D₂

Aripiprazol es un AP atípico que actúa como agonista parcial dopaminérgico a nivel presináptico en la vía mesocortical y como antagonista postsináptico en la vía mesolímbica, modulando la neurotransmisión en función del estado de la sinapsis, además de ser un potente antagonista 5-HT_{2A}, agonista 5-HT_{1A} y agonista α_1 , histaminérgico y muscarínico. Dicho fármaco no produce EPS ni hiperprolactinemia, y ha demostrado eficacia en el tratamiento de síntomas negativos de la esquizofrenia, por lo que se ha sugerido que el carácter agonista parcial de los APs podría ser el responsable de la atipicalidad (*Kapur S. et al. 2003*).

6) Elevada ocupación en regiones extraestriatales

Dado que el grado de ocupación del receptor D₂ en el estriado parece ser el mejor parámetro que explicaría la aparición de EPS, también se ha propuesto que los APs atípicos presentaran mayor grado de ocupación de los receptores D₂ en regiones extraestriatales, preferentemente en áreas límbicas y de la corteza prefrontal, en comparación con los fármacos típicos. Estudios de expresión del gen *c-fos* se han usado como indicador del bloqueo dopaminérgico, demostrando que la acción de fármacos como la risperidona y la clozapina sería predominantemente extraestriatal (*Ossowska K. 2002*). Otros estudios usando la técnica de PET, han demostrado que el fármaco amisulpride se uniría selectivamente a receptores D₂ y D₃ de áreas límbicas. Esta hipótesis estaría respaldada por el hecho de que en áreas con elevada concentración de dopamina como el estriado, el neurotransmisor puede desplazar la droga del receptor, en cambio, en zonas corticales donde la concentración de dopamina es menor, hay menos competición y el bloqueo de receptores estaría favorecido (*Bressan R.A. et al. 2003*).

4.4.3. Líneas de investigación actuales: nuevos mecanismos de acción

En la actualidad, se acepta que existen por lo menos cuatro clases de APs atípicos efectivos y bien tolerados: antagonistas D_2 de disociación rápida, antagonistas/agonistas parciales D_2 , antagonistas D_2/D_3 y antagonistas $D_2/5-HT_{2A}$. A pesar de esto, diversas compañías tienen programas de investigación para desarrollar nuevas drogas con carácter atípico, explorando mecanismos de acción alternativos que permitan mejorar su eficacia y disminuir sus efectos secundarios (*Mortimer A.M. 2004*). Entre éstos, destacan:

- Agonistas del autorreceptor $5-HT_{1A}$: serían capaces de sustituir el antagonismo sobre los receptores HT_{2A} , por lo que combinados con una acción antagonista D_2 , conferirían el carácter atípico. Se ha visto que fármacos como la clozapina y la ziprasidona son agonistas de este receptor (*Mortimer A.M. 2004*).
- Antagonistas $5-HT_{2A/2C}$: en combinación con la acción antagonista D_2 , serían más efectivos sobre los síntomas negativos y las alteraciones cognitivas que los compuestos que únicamente actúan sobre los receptores $5-HT_{2A}$.
- Agonistas del receptor NMDA, agonistas del subtipo 2 del receptor metabotrópico del glutamato, inhibidores del transportador de glicina y activadores del enzima glutamato descarboxilasa: contribuirían a aumentar la neurotransmisión glutamatérgica.
- Agonistas / antagonistas colinérgicos: clozapina y olanzapina se comportan como agonistas o antagonistas muscarínicos dependiendo del papel del receptor.
- Antagonistas adrenérgicos α_1 : en combinación con la acción antagonista D_2

y 5-HT_{2A}, contribuiría al carácter atípico.

- Agonistas de adenosina A_{2A}: en modelos animales han demostrado acción antipsicótica sin producir EPS.
- Drogas que “down” regulan el factor BDNF (*Brain-derived neurotrophic factor*), como la olanzapina.
- Agonistas de neurotensina.
- Drogas que reduzcan la expresión de la hsp70 (“Heat-shock protein-70”).

4.5 Tendencias actuales en la selección del AP

Son varios los factores que juegan en la elección de un AP; por un lado su alta o baja potencia, la necesidad o no de producir una sedación inicial, la probabilidad de producir EPS o síntomas vegetativos, o la necesidad de actuar sobre síntomas negativos. El haloperidol ha sido el AP más utilizado ya que conjuga su elevada potencia con una débil sedación y pocas reacciones vegetativas, pero tiene el grave inconveniente de provocar con facilidad EPS. La tendencia actual es la de iniciar el tratamiento con un AP atípico, debido a su mayor eficacia sobre síntomas negativos y a la mejora sobre las funciones cognitivas, conllevando un menor riesgo de EPS y por tanto facilitando el cumplimiento de la terapia. Entre los distintos fármacos atípicos, la elección vendrá condicionada principalmente por la sintomatología del paciente y la vulnerabilidad a desarrollar diabetes u obesidad. Si transcurridas entre una y cuatro semanas el tratamiento no ha mostrado eficacia, normalmente se incrementa la dosis del fármaco inicial o bien se cambia por otro fármaco atípico. En el caso de pacientes que no respondan al tratamiento atípico, se usará un AP típico, realizando una monitorización anual para controlar la aparición de discinesia tardía, y a ser posible utilizando formas inyectables *depot*, que se han asociado a un menor índice de incumplimiento. El uso de

clozapina únicamente estará indicado en el caso de que las terapias anteriores no funcionen (*Freedman R. 2003*).

En muchos casos, la esquizofrenia está asociada a otros síntomas mentales tales como ansiedad, depresión, obsesiones,... por lo que el hecho de que frecuentemente se tengan que combinar distintos tratamientos, también condicionará la elección del AP (*Freedman R. 2003*).

El factor económico tiene un peso que no podemos ignorar. Las diferencias de coste entre los dos grupos de APs son muy importantes, representando los atípicos un gran gasto farmacéutico que se magnifica si tenemos en cuenta que estos tratamientos son de "por vida".

5. POLIMORFISMOS GENÉTICOS

5.1 Farmacogenética y farmacogenómica

5.1.1 Definición de farmacogenética y farmacogenómica

El término Farmacogenética fue aplicado por primera vez por Vogel en 1959 (*Vogel F. 1959*), y se define como el estudio de las variaciones genéticas hereditarias que explican las diferencias interindividuales en la respuesta a los fármacos. Tradicionalmente estas variaciones se han subdividido en aquellas que afectan a procesos farmacocinéticos y las que afectan a procesos farmacodinámicos. Cuando aplicamos los conocimientos adquiridos en Farmacogenética al diseño de nuevos fármacos, es cuando utilizamos el término Farmacogenómica. El principio básico en Farmacogenómica es que muchas de las enfermedades más frecuentes comprenden grupos de entidades patológicas con clínica similar pero con diversas etiologías y distintas características moleculares y por tanto susceptibles de diferenciarse en las

dianas terapéuticas (*Vesell E.S. 2000*).

5.1.2 Definición de polimorfismo, SNPs y VNTRs

En los estudios de epidemiología molecular, se acepta arbitrariamente que un polimorfismo genético ocurre cuando existen variantes alélicas en la población con una frecuencia igual o superior a un 1 % (*Schork N.J. et al. 2000*). Las tasas de mutaciones espontáneas (por ejemplo por radiación ionizante residual) ocurren con una frecuencia entre 1×10^6 y 1×10^8 . Los genetistas clásicos consideran que cualquier alelo que persiste en una población con una frecuencia inferior a 10^6 , lo hace por alguna razón en concreto. Estas razones o “molecular drive” (*Dover G.A. 1986*), incluirían factores como: 1) la dieta y el clima; 2) la participación del alelo estudiado en procesos críticos para los procesos fisiológicos y 3) equilibrio entre polimorfismos.

En los últimos años se han identificado un gran número de mutaciones que afectan a un sólo nucleótido (single nucleotid polymorphism, SNP); se estima que hay entre 3 y 30 millones de SNPs en el genoma humano. Estos SNPs representan la causa más frecuente de polimorfismos, si bien también pueden darse inserciones, deleciones o duplicaciones del gen (*Wang D.G. et al. 1998, Halushka M.K. et al. 1999, Sachidanandam R. et al. 2001*). En ocasiones, el cambio en la secuencia de nucleótidos puede generar o eliminar un sitio donde puede actuar un enzima de restricción. La digestión de un fragmento de DNA que contenga el sitio adecuado donde actúa el enzima de restricción permite distinguir variantes alélicas en base al tamaño de los fragmentos de DNA resultantes. Este tipo de polimorfismo se ha referido como “restriction fragment length polymorphism (RFLP)” (*Schork N.J. et al. 2000*).

Otro tipo de polimorfismos genéticos son el resultado de la inserción o deleción de una sección de DNA. El más común de dichos polimorfismos es la existencia de un

número variable de repeticiones de un patrón de bases o nucleótidos en una determinada región. La repetición de varios centenares de pares de bases recibe el nombre de “variable number of tandem repeats (VNTRs)” o minisatélites, siendo las de dos, tres o cuatro repeticiones las más comunes. Dichos polimorfismos a menudo dan lugar a múltiples alelos (*Schork N.J. et al. 2000*).

5.1.3 El término original o “wild type” en la nomenclatura alélica de población humana

En estudios con animales de laboratorio, la primera secuencia (normalmente el alelo más común, o el alelo responsable de la actividad enzimática más elevada) es generalmente conocida como “wild-type”, y aquellas responsables de un actividad enzimática más baja o inexistente son conocidas como alelos mutantes. En humanos este término se demuestra claramente incorrecto ya que la prevalencia de un polimorfismo concreto es muy variable entre las diferentes etnias. Un buen ejemplo es el acetilador rápido (gen NAT2), que ha sido denominado por algunos autores como “wild-type”. Sin embargo aunque más de un 90% de japoneses son acetiladores rápidos, sólo un 10% de mediterráneos lo son. Esta variabilidad interétnica hace que el alelo más común en una raza no lo sea en otra. (*Kalow W. and Bertilsson I. 1994, Roses A.D. 2001*). Así, se sugiere sustituir la designación “wild-type” por el término secuencia de referencia, que definiría la primera secuencia (arbitrariamente) relacionada con cada gen.

5.1.4 ¿Qué constituye un gen?

Para un gen en el cual la región promotora no ha sido caracterizada completamente, se propone que se considere el inicio del gen al menos 3 Kb previas al

sitio de inicio de la transcripción. Si se conocen secuencias reguladoras en el extremo 5', entonces el final de esa región 5' será la que se define como el inicio. La mayoría de los sitios 5' de iniciación de la transcripción se utilizan para iniciar la numeración de los nucleótidos de un gen. La siguiente base para iniciar la numeración en dirección 5' tiene la numeración -1. Si los estudios de iniciación de la transcripción todavía no se han completado, se utiliza la adenina del codón de inicio "ATG" del transcrito del gen dándole numeración +1 (*Antonarakis S.E.. 1998*). ¿Hasta que punto la región 3' del final del exón se considera como parte del gen? Aunque todavía sabemos poco sobre la transcripción en eucariotas, parece razonable que 150 pares de bases en dirección 3' del último exón, sean suficientes para incluirlas dentro del gen (*Shilatifard A. 1998, Yarnell W.S. and Roberts J.W. 1999*).

5.1.5 Tipos de SNPs y funcionalidad

Nebert (*Nebert D.W. 1999, 2000*) sugiere que los SNPs pueden clasificarse en tres grupos:

1) SNPs de regiones codificantes (cSNPs): son aquellos que alteran la secuencia de aminoácidos de la proteína codificada. Cuando esta alteración de lugar a una consecuencia visible y diferencial en el fenotipo, diremos que es un polimorfismo funcional. Los cSNPs funcionales son los que mayoritariamente intervendrán en Farmacogenética. Considerando una estimación de 75.000 genes en el genoma humano y una estimación de alrededor de 4 cSNPs de media por gen, puede predecirse un total de 240.000-400.000 cSNPs en el genoma humano (*Cargill M. et al. 1999*).

2) SNPs perigénicos (pSNPS) están localizados dentro o en la región circundante de los genes. Estos incluyen mutaciones en todos los intrones,

mutaciones silenciosas en el codón y cambios en regiones no codificantes del mRNA, la región 5' flanqueante- desde la zona 5' promotora, que es funcional, hasta el lugar del inicio de la transcripción- y al menos 150 pares de bases por detrás del último exón. El ADN no codificante adyacente a regiones codificantes, parece ser también funcional en un grado significativo. Por tanto vemos que no sólo los cambios en las secuencias codificantes van a provocar cambios funcionales sino que algunos pSNPs tendrán también un gran impacto en el fenotipo, como ocurre en los procesos evolutivos (*King & Wilson 1975*). Hay docenas de casos establecidos en los cuales pSNPs afectan a la expresión génica; por ejemplo, los nucleótidos del intrón 2 del gen humano APOB, implicados en el síndrome de insensibilidad androgénica (*Brooks & Levy-Wilson 1992*).

3) Finalmente, los SNPs intergénicos (iSNPs) localizados entre gen y gen a lo largo del genoma ("junk DNA"), son el resultado de sitios erróneos casuales y estos configuran el resto de 2 a 29 millones de SNPs existentes a lo largo del genoma humano. Un ejemplo de iSNP ilustrativo podría ser las secuencias de DNA no codificante de 10 kb en la región de baja recombinación en el Xq13.3 (*Kaessmann et al. 1999*) que son utilizadas para el análisis de diferencias étnicas y tribales.

Las recientes predicciones de aproximadamente 142,600 (en vez de 75,000) genes en el genoma humano, aumentarían las predicciones estimadas de 240,000-400,000 cSNPs a 460,000-760,000 cSNPs, aunque Nelson (*Nelson, 1999, 2000*) ya ha sugerido un número mucho más pequeño de SNPs significativamente funcionales.

Hay que remarcar que la mayoría de las variantes alélicas hasta la fecha, se han encontrado en regiones codificantes, y esto es así porque esta es la parte de ADN que, como es lógico, se ha estudiado de forma más exhaustiva.

5.1.6 Relación genotipo-fenotipo

En relación al genotipo que presenta un SNP hay dos maneras de demostrar su relación con el fenotipo:

- 1) mutagénesis dirigida y caracterización de la proteína alterada
- 2) asociación estadística.

El primer método es sencillo, utilizando ensayos de expresión del cDNA, combinados con mutagénesis dirigida; por ejemplo este tipo de ensayo puede utilizarse para determinar la actividad enzimática, la afinidad por el receptor u otra función de la proteína, tasas de formación de metabolito del fármaco, etc. También pueden utilizarse sistemas combinados de transcripción-traducción *in vitro*. Esta aproximación suele ser útil para demostrar la presencia o la ausencia de un cambio funcional codificado por un cSNP, pero raramente para un cambio funcional por un pSNP. Hay que subrayar que probablemente más de la mitad de los cSNPs, que presentan un cambio en la secuencia de aminoácidos, no afectarán la funcionalidad del producto génico.

Por otro lado, para los pSNPs, tales ensayos, con la posible excepción de las mutaciones en los lugares de “splicing” (por ejemplo en el intrón y causando un producto erróneo de “splicing”) no serán tan sencillas. Cualquier candidato a un polimorfismo pSNP requerirá cálculos complejos, por ejemplo, demostrar la asociación con otro cambio de un nucleótido distante, de la proximidad del gen defectivo en desequilibrio de ligamiento o de una apreciación de cada estructura genética individual (*Shapiro, 1999*). En la mayoría de casos, las pruebas para demostrar la asociación entre un pSNP y un fenotipo inequívoco requerirán el estudio de grandes poblaciones de alelos (*Cargill et al. 1999; Halushka et al. 1999*).

5.1.7 La importancia de la relación genotipo- fenotipo clínico

En genética clásica el fenotipo es un rasgo visible como el color de los ojos. Sin embargo el concepto de fenotipo clínico puede definirse de la forma que se desee, aunando varias características clínicas que nos lleguen a definir un fenotipo respondedor al fármaco, o un fenotipo sensible a la toxicidad del fármaco (*Nebert D.W. 1999,2000*). En otras palabras, la definición de fenotipo clínico es enteramente arbitrario. Estos fenotipos clínicos complejos responden a la interacción de varios genes. Para poder llevar a cabo la relación de estos fenotipos (respondedores versus no respondedores, sensibles versus resistentes) con un genotipo concreto lo más recomendable es seleccionar los extremos de dichos fenotipos. Lógicamente será en estos subgrupos de población fenotípicamente más respondedores o más susceptibles, donde hipotéticamente vamos a encontrar con mayor frecuencia los genotipos favorables o adversos. Es recomendable descartar el grupo intermedio de pacientes con la finalidad de disminuir la complejidad del estudio. De esta forma es posible estudiar muestras de tamaño pequeño, pero muy informativas.

5.1.8 Avances tecnológicos que facilitan el desarrollo de la Farmacogenética

Dada la previsible identificación de cientos de miles de SNPs, es ya necesario el estudio simultáneo de muchos polimorfismos genéticos en un solo individuo. Actualmente se están estudiando diferentes estrategias moleculares para analizar múltiples SNPs, en base a sus posibilidades de automatización (*McLeod H.L. et al. 2001*).

5.2 Base genética de la esquizofrenia y de los EPS

Como ya hemos mencionado en anteriores capítulos, diversos estudios realizados en familiares con distinto grado de parentesco, incluyendo gemelos, parecen indicar que tanto la esquizofrenia como el trastorno bipolar estarían fuertemente influenciados por factores genéticos. Algunos autores incluso han sugerido que estas dos enfermedades podrían compartir genes que conferirían susceptibilidad a padecerlas (Berrettini W. 2004, Maier W. et al. 2005). Estudios farmacogenómicos de *linkage* así como diversos estudios de asociación de genes candidatos han identificado distintas regiones cromosómicas que podrían tener cierta implicación tanto en la esquizofrenia (Prasad S. et al. 2002, Berry N. et al. 2003, Kirov G. et al. 2005, Owen M.J. et al. 2005) como en el trastorno bipolar (Craddock N. et al. 2001, Blackwood D.H.R. et al 2001). Otros estudios también han relacionado anomalías cromosómicas con estas enfermedades. Los estudios de *linkage* incluyen colecciones de muestras de DNA y datos clínicos de miembros de familias con la patología estudiada, con el fin de encontrar regiones cromosómicas implicadas; posteriormente, los estudios de asociación, tratan de identificar mutaciones responsables de la enfermedad (Schmith V.D. et al. 2003).

La **Figura 8** ilustra las zonas cromosómicas (en color rojo) donde se localizarían los genes candidatos que conferirían susceptibilidad a padecer esquizofrenia, según estudios de asociación y de *linkage* (Prasad S. et al. 2002).

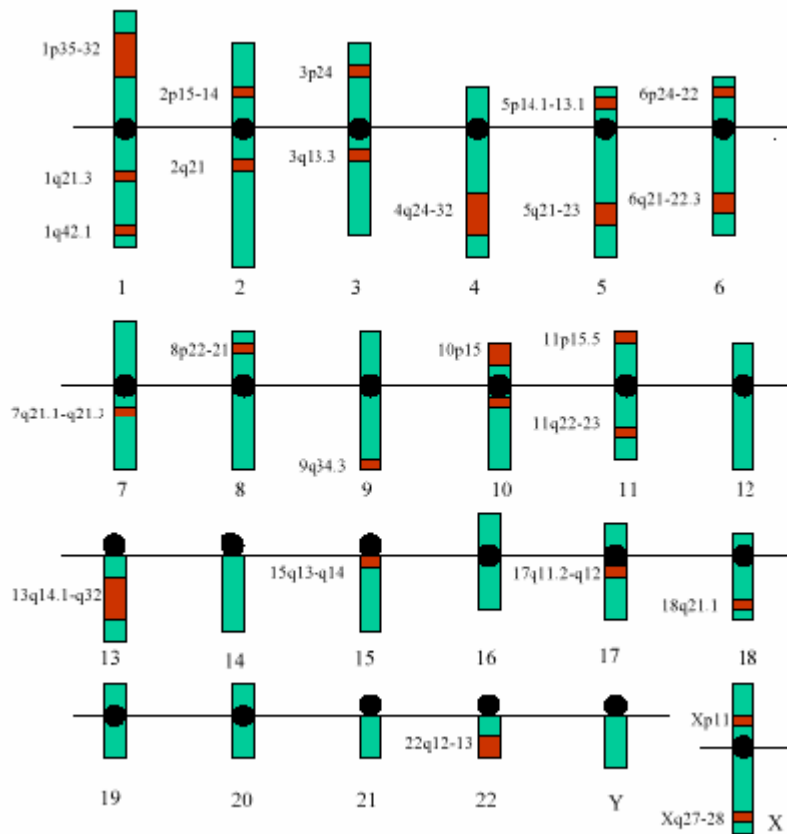


Figura 8. Zonas del cromosoma que conferirían susceptibilidad a padecer esquizofrenia (Prasad S. et al. 2002).

Algunas de las regiones cromosómicas identificadas en estos estudios están relacionadas con la transmisión dopaminérgica, ya que se han identificado las regiones 11q22.5, 3q13.3 y 11p15.5, donde se encuentran los genes que codifican para los receptores de dopamina D₂, D₃ y D₄, respectivamente (Prasad S. et al. 2002).

A parte de los genes identificados mediante técnicas farmacogenómicas, muchos de los genes susceptibles, tanto para relacionarlos con la aparición de enfermedades psiquiátricas como con la respuesta a fármacos, se han escogido según lo que se conoce hasta el momento del mecanismo de acción de las drogas usadas para tratar la esquizofrenia y del de drogas que inducen síntomas psicóticos. Por tanto, será de especial interés el estudio de genes que codifican para receptores de dopamina, para

receptores de serotonina, para sus transportadores, para enzimas que intervengan en el metabolismo de dichos neurotransmisores y en el metabolismo de fármacos,... entre otros. Dada la gran diversidad, nosotros hemos centrado esta tesis en el sistema dopaminérgico, que de momento es el elemento clave en la esquizofrenia y en el mecanismo de acción de los APs. Tanto para los receptores de dopamina como para su transportador, se han encontrados diversos polimorfismos genéticos, siendo los de los receptores de la familia D₂ los que más se han relacionado tanto con la esquizofrenia o trastorno bipolar como con la respuesta al tratamiento AP (*Wong A.H.C. et al. 2000*).

5.3 Farmacogenética del sistema dopaminérgico

5.3.1 Receptor D₂

5.3.1.1 Gen DRD2 y sus polimorfismos

El gen que codifica para el receptor D₂ humano (DRD2) fue clonado por primera vez por Grandy en 1989. Se localiza en el brazo largo del cromosoma 11 (11q22-23) y consiste en ocho exones separados por siete intrones. Se han descrito dos isoformas del gen, D2_{long} y D2_{short}, según la presencia o no de 29 aminoácidos en el tercer bucle citoplasmático del receptor (*Grandy D.K. et al. 1989*).

Desde el clonaje del gen DRD2 se han descrito diversos polimorfismos. La **Figura 9** muestra algunos de los más estudiados.

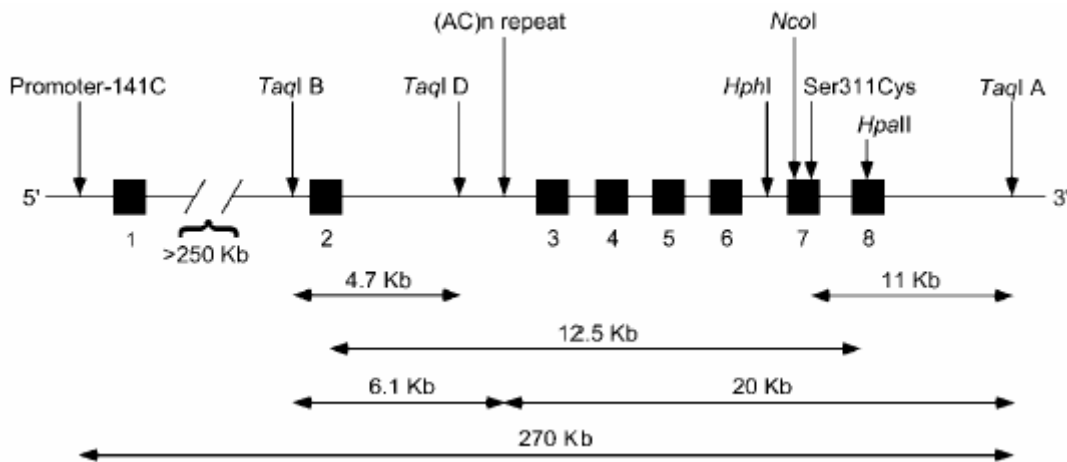


Figura 9. Receptor de dopamina D₂ humano y localización de los polimorfismos genéticos estudiados más comunes (Noble E.P. 2003).

Entre los polimorfismos descritos para el gen DRD2, haremos mención de tres por ser los que más se han relacionado con enfermedades neuropsiquiátricas: DRD2 TaqIA, DRD2 TaqIB y DRD2 -141C Ins/Del.

El polimorfismo DRD2 TaqIA, se basa en una mutación detectada por RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) que se encuentra cerca del extremo 3', a unas 10kb 3' del exón 8, dentro de la región codificante del gen. (Grandy D.K. *et al.* 1993). Para este polimorfismo se han descrito dos alelos: DRD2 TaqIA₁ y DRD2 TaqIA₂.

El polimorfismo DRD2 TaqIB, también detectado por RFLP. Se encuentra en el extremo 5' dentro de la región codificante del gen aunque muy cercano a la región promotora, junto al exón 2 (Hauge X.Y. *et al.* 1991). Los dos alelos descritos para este polimorfismo son: DRD2 TaqIB₁ y DRD2 TaqIB₂.

El polimorfismo DRD2 -141C Ins/Del se encuentra en la región del promotor, a unas 250kb del extremo 5' del gen. Consiste en la presencia o ausencia de una citosina

en la posición -141 (*Arinami T. et al. 1997*). Los alelos descritos son DRD2 -141C Ins y DRD2 -141C Del.

La **Tabla 3** muestra las prevalencias de los fenotipos originados por estos tres polimorfismos en población caucásica sana.

Tabla 3. Densidad de receptores dopaminérgicos estimados en el sistema estriado (ratio entre radioligando unido y libre, B/F-ratio) y polimorfismos en el gen DRD2 del receptor de la dopamina (*Jönsson E.G. et al. 1999a*). Estudio hecho en 56 voluntarios sanos caucásicos (43 hombres y 13 mujeres de entre 25 y 83 años).

	<i>m/m</i>	<i>m/wt</i>	<i>wt/wt</i>	
DRD2 TaqIA	A1A1	A1A2	A2A2	
	3.5%	28.6%	67.9%	t = -2.5
B/F ratio	3.4	3.5	4	p = 0.01
DRD2 TaqIB	B1B1	B1B2	B2B2	
	3.5%	32.1%	64.3%	t = -2.5
B/F ratio	3.4	3.5	4	p = 0.01
DRD2 -141C Ins/Del	Del/Del	Ins/Del	Ins/Ins	
	3.6%	19.6%	76.8%	t = 3.0
B/F ratio	4.5	4.1	3.7	p = 0.02

m: mutado

wt: *wild type*

5.3.1.2 Polimorfismos del gen DRD2 y densidad de receptores D₂

Existe una gran variabilidad interindividual en la densidad de receptores D₂ cerebrales, como se demuestra a través de estudios con la técnica de PET en población sana mediante técnicas *in vivo*. Esta variabilidad puede ser explicada por influencias ambientales o por las características genéticas personales. Por un lado la edad, los períodos menstruales, el consumo de fármacos neurolépticos, de alcohol, nicotina, cocaína y opiáceos pueden afectar la densidad de receptores D₂. Pero la gran variabilidad observada (hasta de 3 veces) sugiere además una fuerte contribución genética que explicaría estas diferencias (Jönsson *et al* 1999a).

Diversos estudios han intentado analizar la influencia de polimorfismos del gen DRD2 sobre la densidad de receptores. En 1991, mediante técnicas *in vitro*, Noble (Noble E.P. *et al*. 1991) ya halló relación entre el alelo A₁ del polimorfismo DRD2 TaqIA y el menor *binding* a los receptores D₂ en muestras *post-mortem* del núcleo caudado; el *binding* máximo para muestras con el alelo A₁ era al menos un 30% inferior que el las muestras con sin dicho alelo. Posteriormente, en 1997, Thompson (Thompson J. *et al*. 1997) relacionó de nuevo este alelo con el reducido *binding* hallado para el receptor D₂ en diversos núcleos del estriado, pero esta vez mediante técnicas *post-mortem* utilizando [³H]raclopride en población caucásica; la reducción de la densidad de receptores D₂ para las muestras con el alelo A₁ fue del 30-40% respecto a las provenientes de homocigotos para el alelo A₂. Poco después, Pohjalainen (Pohjalainen T. *et al*. 1998) en un estudio realizado *in vivo* en voluntarios sanos caucásicos, vio que la disponibilidad de receptores D₂ en el estriado, valorada por PET con el radioligando [¹¹C]raclopride, mantenía relación con el alelo A₁, relacionándolo también con la densidad del receptor (aunque esta relación no tenía significación estadística), sin verse afectada la afinidad, tal como muestra la tabla 3. En este estudio se vio que la influencia

de dicho alelo en hombres era más pronunciada que en mujeres. El estudio *in vivo* realizado por Jönsson (*Jönsson E.G. et al. 1999a*) en voluntarios sanos caucásicos utilizando la misma técnica *in vivo* con (^{11}C) raclopride, confirmó la relación entre el alelo A₁ y la baja densidad de receptores D₂ en el estriado, encontrando también relación entre el alelo B₁ del polimorfismo DRD2 TaqIB y la baja densidad de dichos receptores en el estriado. Sin embargo, otro estudio realizado en voluntarios sanos *in vivo*, no consiguió replicar estos resultados, no encontrando asociación alguna entre estos alelos y la densidad de receptores D₂ (*Laurelle M. et al. 1998*).

El estudio de Jönsson en voluntarios sanos (*Jönsson E.G. et al. 1999a*) es el que relaciona por primera vez el alelo Del del polimorfismo DRD2-141C con la elevada densidad de receptores D₂ en el estriado, ya que estudios anteriores sugirieron bien una relación de dicho alelo con una disminución de la actividad del promotor *in vitro* (*Arinami T. et al. 1997*) o bien no se encontró ninguna relación (*Pohjalainen T. et al. 1999*).

5.3.1.3 Polimorfismos DRD2 y riesgo de enfermedades genéticas

La mayoría de la literatura acerca de los polimorfismos del gen DRD2 los relaciona con la tendencia al consumo de alcohol y otras sustancias de abuso (*Blum K. et al. 1990, Comings D.E. et al. 1994*).

La mayor parte de los estudios que han tratado de encontrar relación entre estos polimorfismos y la esquizofrenia o el trastorno bipolar han sido negativos. Para los polimorfismos DRD2 TaqIA y TaqIB sólo existe un estudio realizado en población esquizofrénica francesa que encuentra asociación positiva con los alelos A₂ y B₂, relacionándolos con el exceso de transmisión dopaminérgica (*Dubertret et al. 2001*). Para el polimorfismo DRD2 -141C Ins /Del, en cambio, existen más trabajos donde se

sugiere que el alelo Del conferiría protección frente a la esquizofrenia, tanto en población japonesa (*Arinami T. et al. 1997, Ohara K. et al. 1998*) como en población caucásica (*Jönsson E.G. et al. 1999b*), aunque un reciente trabajo de meta-análisis en población británica no consigue replicar estos resultados (*Breen G. et al. 1999*).

Los estudios que han intentado relacionar polimorfismos del gen DRD2 con el trastorno bipolar han resultado negativos, como lo refleja un reciente estudio en población polaca (*Leszczynska-Rodziewicz A. et al. 2005*).

Otros estudios han sugerido una posible relación entre polimorfismos del gen DRD2 trastornos como la obesidad, migraña o trastornos de la personalidad. (*Noble E.P. 2003*)

5.3.1.4 Polimorfismos DRD2 y respuesta a fármacos

Se ha postulado que los polimorfismos del gen DRD2 podrían estar relacionados tanto con los efectos terapéuticos de diversos fármacos APs como con los EPS que éstos inducen.

En cuanto a la eficacia antipsicótica, en la literatura hay trabajos tanto con APs típicos como atípicos. Un estudio reciente sugiere relación entre el alelo DRD2 TaqIA₁ y la mejora de la sintomatología positiva en población esquizofrénica japonesa y caucásica tras el tratamiento con APs típicos como nemonapride o haloperidol (*Wilffert B. et al. 2005*). Otros estudios también relacionan este alelo con la mejor respuesta terapéutica en pacientes esquizofrénicos tratados con APs atípicos como risperidona o clozapina (*Yamanouchi Y. et al. 2003, Malhotra A.K. et al. 2004*).

Los resultados obtenidos para el polimorfismo DRD2 -141C Ins/Del son más controvertidos. Mientras algunos estudios no encuentran asociación entre este polimorfismo y el efecto clínico de los APs (*Wilffert B. et al. 2005*), otros relacionan el

alelo Del con una mejor respuesta clínica en pacientes esquizofrénicos tratados con risperidona (*Yamanouchi Y. et al. 2003*), y finalmente otros estudios describen que sería el alelo Ins el que mejoraría la sintomatología esquizofrénica tras el tratamiento con clozapina (*Wilffert B. et al. 2005*).

La bibliografía existente acerca de la relación entre los polimorfismos DRD2 y el riesgo de EPS es más reducida. Los estudios que intentan asociar el polimorfismo -141C Ins/Del con la susceptibilidad de desarrollar EPS han generado resultados controvertidos. Algunos estudios sugieren que la frecuencia del alelo Del sería superior en pacientes esquizofrénicos que desarrollan EPS que en aquellos que no los desarrollan (*Inada T. et al. 1999, Nakazono Y. et al. 2005*), mientras que otros estudios no han logrado encontrar ningún tipo de asociación (*Mihara K. et al. 2001, Kaiser R. et al. 2002*).

Para los polimorfismos DRD2 TaqIA y TaqIB no se ha descrito ninguna relación con el riesgo de EPS (*Mihara K. et al. 2000, Kaiser R. et al. 2002*). Parece que esta asociación sólo se daría en la aparición de discinesia tardía en pacientes que reciben tratamiento crónico, ya que se ha sugerido que el alelo A₂ sería más frecuente en pacientes que desarrollan este efecto secundario (*Chen C-H. et al. 1997, Dahmen N. et al. 2001*), aunque otros estudios no lo hayan podido corroborar (*Segman R.H. et al. 2003*).

5.3.2 Receptor D₃

5.3.2.1 Gen DRD3 y sus polimorfismos

El gen que codifica para el receptor de dopamina D₃ (DRD3) se localiza en el cromosoma 3q13.3 y consiste en seis exones y cinco intrones, superando los 40.000 pares de bases. Se han descrito tres variantes del receptor en las que según la delección

del segundo y/o tercer exón (*Giros B. et al. 1990*).

Se han descrito distintos polimorfismos del gen DRD3, tal como muestra la **Figura 10**. El primer polimorfismo descrito, y también el más analizado, fue el DRD3 Ser9Gly, o también llamado DRD3 Ball. Dicho polimorfismo consiste en la sustitución del aminoácido serina por el aminoácido glicina en la posición 9 del extremo extracelular N-terminal del receptor, debido a un cambio del nucleótido adenina por el nucleótido guanina en el exón 1 del gen (*Lannfelt L. et al. 1992*). La **Tabla 4** muestra las frecuencias de los posibles genotipos de este polimorfismo descritas para población general caucásica.

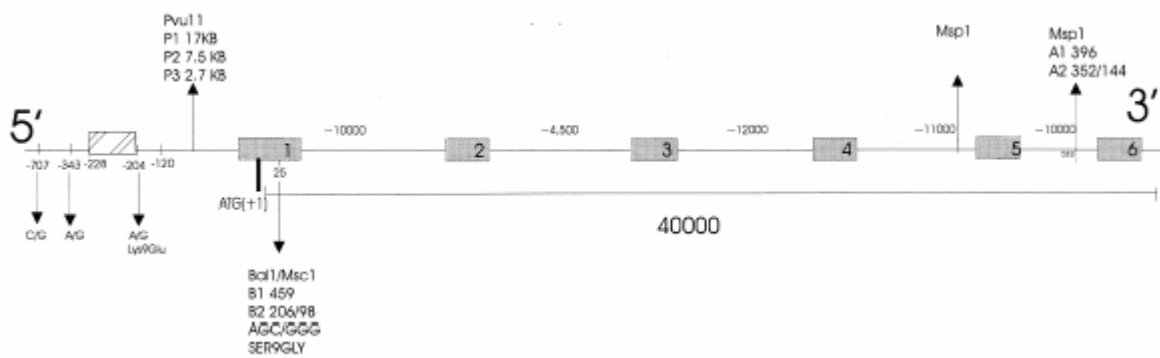


Figura 10. Receptor de dopamina D₃ humano y localización de los polimorfismos genéticos estudiados más comunes (*Wong A.C.H. et al. 2000*).

Tabla 4. Genotipos DRD3 Ser9Gly y su prevalencia en población británica (*Shaikh S. et al. 1996*) y canadiense (*Joover R. et al. 2000*).

Genotipos DRD3 Ser9Gly	Población británica (n=109)	Población canadiense (n=89)
Ser/Ser	30%	47%
Ser/Gly	52%	48%
Gly/Gly	18%	4.5%

En cuanto a las alteraciones fenotípicas asociadas al polimorfismo DRD3 Ser9Gly, un estudio funcional en células CHO reveló diferencias alélicas en la afinidad por dopamina. Las células homocigotas para el alelo Gly mostraban una significativa mayor afinidad por dopamina que las heterocigotas y las homocigotas Ser/Ser, postulándose que, probablemente, la sustitución de un residuo polar de serina por un residuo apolar de glicina sería capaz de alterar la estructura terciaria del receptor, y en consecuencia, se vería afectada la afinidad por la unión a dopamina (*Basile V.S. et al. 2002*), aunque todavía no está claro si realmente este polimorfismo afectaría la unión del receptor al ligando ni a la transducción de la señal.

5.3.2.2 Polimorfismos DRD3 y riesgo de enfermedades genéticas

El primer estudio que relacionó el polimorfismo DRD3 Ser9Gly con la esquizofrenia se realizó en población francesa y asociaba los genotipos homocigotos, tanto para el alelo Ser como para el alelo Gly, con el riesgo de padecer dicha enfermedad (*Crocq M.A. et al. 1992*). Desde esta primera asociación, más de 30

estudios han tratado de confirmar estos resultados, pero a pesar de que la mayor parte de ellos no han sido capaces de replicar esta asociación (*Szekeres G. et al. 2003, Joober R. et al. 2000*), un meta-análisis en población sueca relacionó nuevamente los genotipos homocigotos (Ser/Ser y Gly/Gly) para este polimorfismo con la esquizofrenia (*Jönsson E.G et al. 2003*). Otros estudios han reportado asociación positiva únicamente para el genotipo Ser/Ser en determinados subgrupos de pacientes o etnias (*Schwartz J-C. et al. 2000, Dubertret C. et al. 1998*), y otros han relacionado el alelo Ser con el riesgo de padecer dicha enfermedad (*Shaikh S. et al. 1996*). También se ha sugerido que la homocigosis para este polimorfismo conferiría susceptibilidad de padecer trastorno esquizoafectivo (*Meszaros K. et al. 2000*).

A pesar de que un estudio relacionó el alelo DRD3 Ser con la susceptibilidad de padecer trastorno bipolar (*Parsian A. et al. 1995*), otros estudios no han hallado ninguna asociación (*Shaikh S. et al. 1993, Elvidge G. et al 2001*).

5.3.2.3 Polimorfismos DRD3 y respuesta a fármacos

En cuanto a la farmacogenética del polimorfismo DRD3 Ser9Gly, los datos no están claros. Algunos estudios han reportado mayor frecuencia del alelo Ser entre pacientes que no respondían al tratamiento con APs atípicos respecto a los que sí respondían (*Szekeres G. et al. 2004*), en cambio otros han encontrado asociación positiva entre el alelo Gly y la peor respuesta al tratamiento AP (*Joobar R. et al. 2000*).

El trabajo de *Steen V.M. et al. 1997* fue el primero en relacionar el polimorfismo DRD3 Ser9Gly con la discinesia tardía en pacientes esquizofrénicos tratados con APs. Entre los estudios realizados a posteriori, aunque algunos no han conseguido encontrar asociación positiva, la mayor parte de ellos coinciden en relacionar bien el genotipo Gly/Gly o el alelo Gly con dicho efecto secundario (*Basile V.S. et al. 2002*). Un reciente

estudio de meta-análisis ha confirmado esta asociación (Lerer B. et al. 2000).

Hay pocos estudios que relacionen este polimorfismo con la aparición de EPS agudos. Entre estos destaca el de Eichhammer P. et al. 2000, realizado en población caucásica, que encuentra asociación positiva entre el genotipo DRD3 Gly/Gly y la aparición de acatisia en esquizofrénicos que recibían tratamiento AP.

5.3.3 Transportador de dopamina (DAT)

5.3.3.1 Polimorfismos del transportador de dopamina (DAT)

El gen que codifica para el transportador de dopamina humano, también denominado SLC6A3 (*solute carrier family 6, member 3*) está localizado en el cromosoma 5p15.3 (Giros B. et al. 1992, Vandenberg D.J. et al. 1992). El gen tiene más de 60 kb y consiste en 15 exones separados de 14 intrones.

El VNTR (*variable number tandem repeat*) es uno de los polimorfismos del DAT más estudiados. Está localizado en la región no codificante 3' del gen, junto a la cola de poliA, y consiste en 40 pares de bases que se van repitiendo. Las repeticiones pueden ir de 3 a 13, aunque las de 9 (*9R) y 10 (*10R) son las más frecuentes (Vandenberg D.J. et al. 1992). La **Tabla 5** muestra las frecuencias genotípicas descritas para población general caucásica.

Tabla 5. Genotipos SLC6A3 VNTR más frecuentes y su prevalencia en población italiana (Persico A.M. et al. 1997) y canadiense (Joober R. et al. 2000).

Genotipos SLC6A3 VNTR	Población italiana (n=84)	Población canadiense (n=89)
5/5		
6/6		
7/7		
9/9	8.3%	4.5%
9/10	48.8%	41.5%
10/10	41.7%	54%
9/11	1.2%	
10/11		

Dado que la localización de este polimorfismo no afecta a la estructura ni a la función de la proteína resultante, se ha postulado que puede tener un efecto regulatorio a nivel transcripcional y translacional (Nakamura Y. et al., 1998). De hecho algunos estudios han tratado de relacionar este polimorfismo con el fenotipo del transportador DAT. Estudios *in vitro* (Michelhaugh S.K. et al. 2001; Fuke S. et al. 2001; Miller G.M. et al. 2002) han sugerido que el polimorfismo SLC6A3 VNTR podría afectar la expresión del gen y en consecuencia la disponibilidad de la proteína, aunque los resultados referentes a la expresión de los alelos *9R y *10R son controvertidos. Recientes estudios utilizando la técnica de neuroimagen SPECT *in vivo* (van Dyck C. et al. 2005; Heinz A. et al. 2000; Jacobsen L.K. et al. 2000; Martínez D. et al. 2001; Lynch D.R. 2003) también han intentado relacionar este polimorfismo con la densidad del transportador en diferentes poblaciones (voluntarios sanos, alcohólicos, pacientes

esquizofrénicos y pacientes con la enfermedad de Parkinson, respectivamente), obteniendo resultados discrepantes.

También se han descrito diversos polimorfismos que afectan la región codificante del gen, pero la mayoría de ellos consisten en el cambio de un único nucleótido produciéndose un cambio de aminoácido conservativo (*Bannon M.J. et al. 2001*)

5.3.3.2 Polimorfismos SLC6A3 y riesgo de enfermedades genéticas

Se ha intentado asociar el polimorfismo SLC6A3 VNTR con diversos desórdenes neuropsiquiátricos tales como la esquizofrenia, el trastorno bipolar o el déficit de atención/hiperactividad (*Greenwood T.A. et al. 2001*). A pesar de que algunos estudios encuentran asociación positiva entre los genotipos SLC6A3 VNTR 9/9 y 10/10 y el riesgo de sufrir esquizofrenia (*Persico A.M. et al. 1997*), la mayor parte de ellos no lo han corroborado, como también demuestra un reciente meta-análisis (*Gamma F. et al. 2005*). Otros estudios sugieren asociación entre dicho polimorfismo y el trastorno bipolar (*Greenwood T.A. et al. 2001, Georgieva L. et al. 2002*).

5.3.3.3 Polimorfismos SLC6A3 y respuesta a fármacos

En cuanto al tratamiento AP, tampoco se ha logrado establecer asociaciones significativas entre el polimorfismo SLC6A3 VNTR y la respuesta al tratamiento en enfermos esquizofrénicos (*Joobert R. et al. 2000, Szekeres G et al. 2004*). Por otro lado, también se ha estudiado la posible relación entre dicho polimorfismo y la aparición de discinesia tardía en pacientes esquizofrénicos tratados con fármacos APs (*Segman R.H. et al. 2003*). Hasta el momento no se ha publicado ningún estudio que examine la posible relación con la susceptibilidad de padecer EPS.

5.3.4 Polimorfismos del receptor de dopamina D₄

Para el gen que codifica para receptor de dopamina D₄ (DRD4), localizado en el cromosoma 11p15.5, se han descrito diferentes regiones polimórficas, tanto en el promotor como a lo largo de la región codificante (*Wong A.H.C. et al. 2000*). Uno de los más estudiados ha sido el polimorfismo localizado en el tercer exón que consiste en la repetición dos, cuatro o siete veces de 48 pares de bases, y afecta la tercer bucle citoplasmático del receptor, por lo que se ha sugerido que podría estar implicado en la distinta afinidad de ligandos por el receptor (*Wilffert B. et al 2005*).

A pesar de que estudios de *linkage* y de asociación han sugerido una posible relación entre el gen DRD4 y la esquizofrenia, la mayoría de estudios realizados no han encontrado asociación alguna (*Ohara K. et al. 1996*).

En cuanto a la farmacogenética, se ha sugerido que polimorfismos de este gen podrían estar implicados en la respuesta al tratamiento AP (*Ohara K. et al. 1996, Zalsman G. et al. 2003*). Menos son los estudios que relacionan los polimorfismos del gen DRD4 con la aparición de trastornos del movimiento inducidos por dicha terapia, y los existentes no han logrado encontrar ninguna asociación (*Segman R.H. et al. 2003*).

- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS -

6. HIPÓTESIS

6.1 Riesgo de EPS

Centrando nuestro estudio en el sistema dopaminérgico, tal como se ha postulado, la aparición de efectos extrapiramidales (EPS) por fármacos APs se debería principalmente a la acción de dichos fármacos sobre los receptores dopaminérgicos D₂ (y D₃) en el estriado, por lo que, una vez el AP llega a una sinapsis dopaminérgica de esta área del cerebro (ver **Figura 11**), habrían tres variables a considerar:

- a) Tipo de AP y sus características farmacodinámicas.
- b) Densidad de receptores y afinidad que presenten por sus ligandos.
- c) Disponibilidad de dopamina.

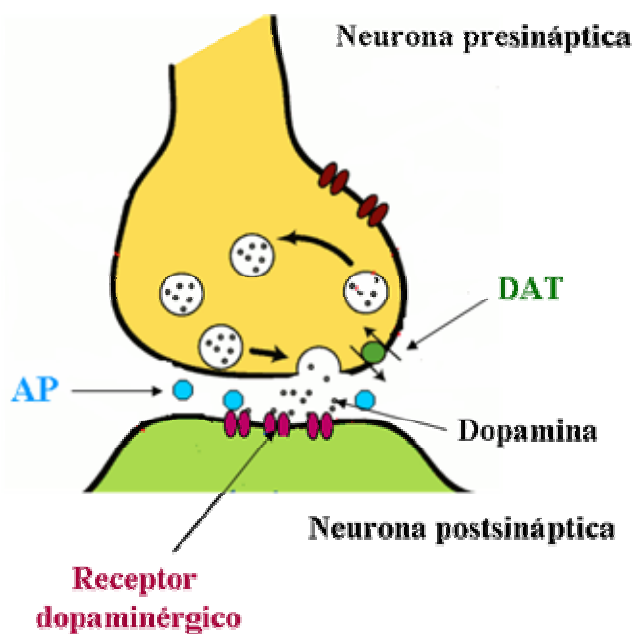


Figura 11. Sinapsis dopaminérgica: variables a considerar en la aparición de EPS

(imagen tomada de Wikipedia Enciclopedia)

Dejando de lado la primera variable, que es externa al individuo, si consideramos los receptores D₂, una menor densidad de receptores a nivel del estriado supondría una situación de riesgo basal para desarrollar EPS, ya que las consecuencias del bloqueo dopaminérgico (efectos extrapiramidales) por APs serán mucho más evidentes en aquellos individuos que presenten un número inferior de receptores. Según la hipótesis planteada, este estudio debería demostrar un exceso de genotipos DRD2 TaqIA₁, DRD2 TaqIB₁, y DRD2 -141C Del, asociados a una menor densidad de receptores, en el grupo de pacientes tratados con APs que presenten EPS.

En cuanto a la afinidad del receptor por sus ligandos, se ha postulado que para el receptor D₃, ésta se vería influenciada por el polimorfismo Ser9Gly. Aunque dicho receptor se ha relacionado en menor medida con la aparición de EPS que el receptor D₂, nuestra hipótesis considera que el genotipo que se ha asociado a una mayor afinidad del receptor por sus ligandos (tanto dopamina como APs), que de acuerdo con lo descrito sería el DRD3 Gly/Gly, conferiría mayor riesgo de EPS.

Por otro lado, asumimos un mayor riesgo de EPS en pacientes con menor disponibilidad de dopamina; en esta situación los APs tendrían que competir con menor cantidad de dopamina para ocupar los receptores D₂ y en consecuencia la probabilidad de aparición de EPS sería mayor. Dado que dicha disponibilidad está regulada por la recaptación que realiza el transportador de dopamina, nuestra hipótesis considera que una mayor expresión de DAT correlacionaría con una menor disponibilidad de dopamina, y conferiría mayor riesgo de EPS. Es difícil señalar qué genotipo esperamos encontrar, ya que la relación genotipo-fenotipo no es clara; la bibliografía existente no consigue discernir cuál de los alelos más comunes produciría mayor expresión del transportador.

6.2 Riesgo de esquizofrenia

La teoría más aceptada de la esquizofrenia es la de la hiperactividad dopaminérgica, por lo que se podrían cumplir las siguientes hipótesis:

- a) Que los enfermos tuvieran mayor densidad de receptores dopaminérgicos que la población general, tal como han sugerido diversos estudios *in vivo* (Seeman P. et al. 1990, Hirvonen J. et al. 2005).
- b) Que la afinidad de dichos receptores por la dopamina fuera mayor en esquizofrénicos que en la población general.
- c) Que los pacientes tuvieran mayor cantidad de dopamina que el resto de la población.

Según la primera hipótesis planteada, cabría esperar una mayor prevalencia de genotipos asociados a una mayor densidad de receptores D₂ (DRD2 TaqIA₂ y DRD2 TaqIB₂) en esquizofrénicos. Los estudios que relacionan el polimorfismo DRD2-141C Ins/Del con la densidad de receptores D₂ son contradictorios (Jönsson E.G. et al. 1999a), pero dado que diversos estudios sugieren que el alelo Del conferiría protección frente a la esquizofrenia; nuestra hipótesis considera que el alelo DRD2-141C Del estaría asociado a una baja densidad de receptores D₂, lo que daría protección a padecer la patología.

En segundo lugar, cabría esperar una mayor prevalencia del genotipo DRD3 Gly/Gly, que se ha relacionado con una mayor afinidad del receptor D₃ por la dopamina, en pacientes esquizofrénicos respecto a la población general.

En último lugar, si consideramos la hipótesis del exceso de dopamina cerebral en la población esquizofrénica, es lógico pensar que estos pacientes tendrían menor

densidad de transportador respecto a la población general. Como ya hemos mencionado en el apartado anterior, para el polimorfismo SLC6A3, dada la escasa información fenotípica existente, es difícil decir qué genotipo deberíamos esperar que tuviera mayor prevalencia entre los enfermos.

7. OBJETIVOS

1. Analizar la prevalencia de los polimorfismos entre el grupo de pacientes que ha desarrollado EPS (casos) y el que no lo ha hecho (controles) tras recibir tratamiento AP, con el fin de evaluar si existe alguna relación entre los polimorfismos estudiados y el riesgo de aparición de EPS.
2. Intentar conocer la relación genotipo-fenotipo DAT en población esquizofrénica, relacionando los genotipos SLC6A3 VNTR con los datos de la densidad del transportador obtenidos por la técnica *in vivo* de SPECT.
3. Estudio descriptivo de la prevalencia de los polimorfismos DRD2 TaqIA, DRD2 TaqIB, DRD2 -141C Ins/Del y DRD3 Ser9Gly en población general de referencia, al igual que del polimorfismo SLC6A3 VNTR.
4. Comparar la prevalencia de los polimorfismos entre población general y enfermos esquizofrénicos para comprobar si los polimorfismos a estudiar confieren riesgo de sufrir la enfermedad.

- MATERIALES Y MÉTODOS -

8. DISEÑO DEL ESTUDIO

Inicialmente este estudio se diseñó con el objetivo de relacionar distintos polimorfismos genéticos con la aparición de EPS en enfermos que recibían terapia antipsicótica (AP). Para ello, se diseñó un estudio observacional caso-control prospectivo con pacientes que recibían tratamiento AP y desarrollaban EPS (casos) o no los desarrollaban (controles).

Por otro lado, nuestro estudio coincidió con otro proyecto, en el que estaban implicados tanto Servicio de Psiquiatría como el de Medicina Nuclear del Hospital Clínico de Barcelona, que pretendía predecir la susceptibilidad de EPS a través de la valoración por SPECT del fenotipo del transportador de dopamina (DAT), en el que se trabajaba con los mismos pacientes incluidos en nuestro estudio. Dada la escasa información funcional de los polimorfismos genéticos del transportador de dopamina, junto con el hecho de que ambos proyectos trabajaran de forma simultánea con los mismos pacientes, hizo que creyéramos que era interesante realizar un estudio genotipo-fenotipo DAT en el subgrupo de pacientes esquizofrénicos de los que se disponía de datos de SPECT, con el fin de dilucidar si existía asociación.

El hecho de disponer de una muestra de pacientes esquizofrénicos bien diagnosticada, hizo que nos planteáramos hacer un estudio de riesgo de esquizofrenia, aprovechando que disponíamos de muestras correspondientes a un grupo de controles poblacionales que se habían utilizado en estudios farmacogenéticos anteriores (*Lafuente et al. 2000*); lo que también nos sirvió para obtener datos descriptivos de las prevalencias genotípicas en población general. Para el único polimorfismo para el que no se realizó un estudio de riesgo de esquizofrenia fue para el polimorfismo SLC6A3 del transportador de dopamina, aunque sí que se evaluó en un subgrupo de población

control con el fin obtener las prevalencias genotípicas en nuestra población y validar la metodología.

Debido al bajo número de individuos con trastorno bipolar reclutados, no nos planteamos evaluar el riesgo para dicho trastorno asociado a los polimorfismos estudiados.

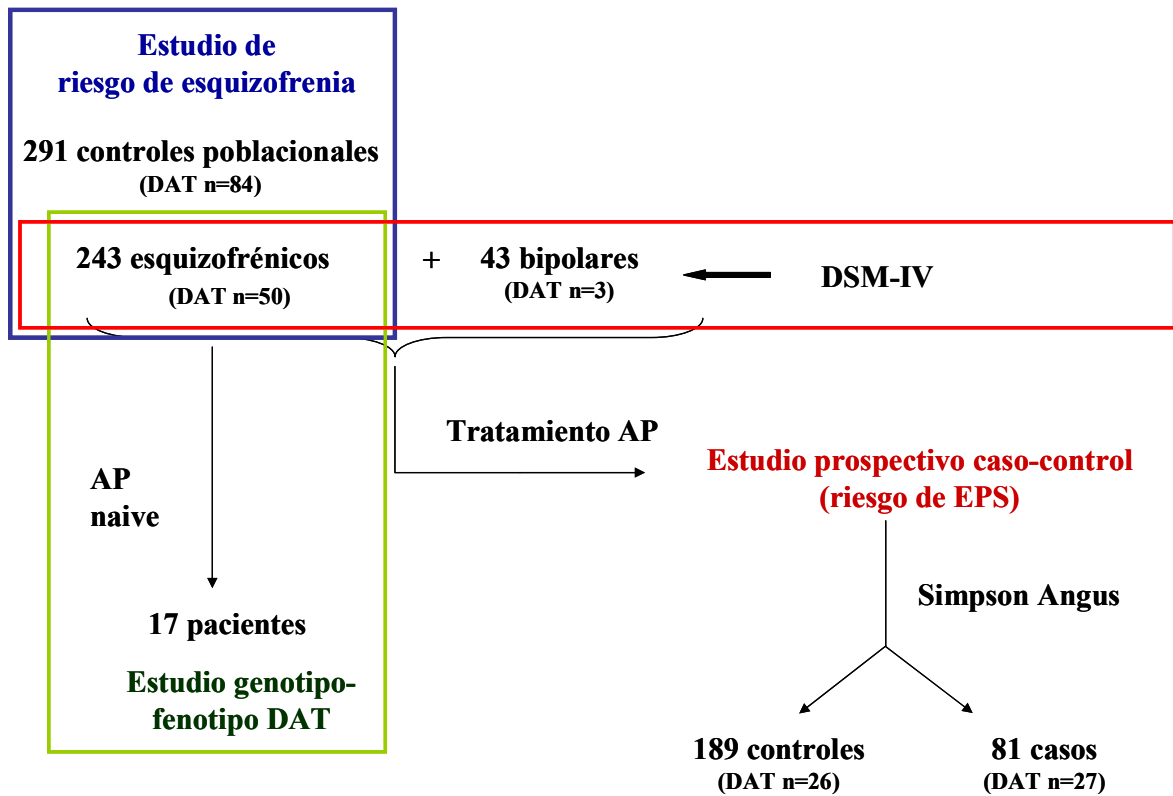


Figura 12. Diseño del estudio: estudio caso-control, estudio genotipo-fenotipo DAT y estudio de riesgo de esquizofrenia.

9. SUJETOS

9.1 Reclutamiento de pacientes

Los pacientes fueron reclutados en el Servicio de Psiquiatría del Hospital Clínico de Barcelona durante el período comprendido entre los años 2002-2004. Tal como muestra la **Figura 12**, según el criterio DSM-IV (*APA 2004*, ver **ANEXO 1**), 243 individuos fueron diagnosticados con esquizofrenia y desórdenes psicóticos relacionados, y 43 fueron diagnosticados con trastorno bipolar. Tanto dentro del grupo de esquizofrénicos como del de bipolares, se identificaron distintos subgrupos de pacientes. De estos individuos se recogieron datos sociodemográficos y de hábitos tóxicos, así como el tratamiento que recibían.

La aparición de EPS inducida por la terapia AP fue básicamente evaluada usando la escala Simpson-Angus (ver **ANEXO 2**). Entre todos los pacientes diagnosticados como esquizofrénicos o bipolares que recibían tratamiento AP, 81 presentaron EPS (Simpson-Angus>3) durante el periodo de hospitalización, y fueron considerados como CASOS. 189 pacientes no presentaron EPS (Simpson-Angus≤3) durante el mismo periodo, y se consideraron como CONTROLES. El período de hospitalización fue al menos de 15 días para los controles, descartando como controles los pacientes que estuvieron hospitalizados un tiempo inferior a dicho período. Los pacientes que recibieron tratamiento anticolinérgico fueron descartados del estudio.

En el estudio de correlación genotipo-fenotipo DAT se incluyeron 61 pacientes con esquizofrenia, trastornos psicóticos relacionados y trastorno bipolar (únicamente se dispuso de información diagnóstica de 53 pacientes), que fueron los individuos que

inicialmente se incluyeron en el proyecto de análisis del fenotipo. Finalmente, sólo se pudo realizar esta asociación en 17 pacientes, en los que se había determinado su fenotipo basal durante su primer brote psicótico, previamente a recibir tratamiento AP; posteriormente, algunos de estos sujetos desarrollaron EPS tras ser tratados con 6 ± 2 mg/día de risperidona durante 4 semanas, y otros no lo hicieron, tal como muestra la **Figura 12.**

Con el fin de evaluar la posible asociación entre los polimorfismos genéticos que describimos más adelante y el riesgo de EPS, se realizó el estudio genético en los 81 casos y 189 controles; a excepción del polimorfismo SLC6A3 VNTR, que únicamente se evaluó en el subgrupo de 61 pacientes (32 casos y 29 controles).

9.2 Controles poblacionales

Como grupo control se utilizó un grupo formado por 291 individuos que fueron reclutados en el Servicio de Traumatología del Hospital Clínico de Barcelona con características sociodemográficas que han sido descritas con anterioridad en estudios genéticos de riesgo de cáncer colorectal (*Lafuente et al. 2000*). Se trata de pacientes que fueron atendidos en dicho Servicio durante los años 1996-1997, con una media de edad de 61 años, y que fueron ingresados para tratamiento con prótesis de cadera, fracturas pélvicas y fracturas en las extremidades. De estos individuos se recogieron datos sociodemográficos, de hábitos tóxicos y otros antecedentes patológicos. Ninguno de ellos presentaba esquizofrenia ni ninguna otra enfermedad mental, y también fueron excluidos aquellos individuos que consumían sustancias de abuso.

9.3 Consentimiento informado

De cada individuo se obtuvo muestra de sangre, junto con el consentimiento informado escrito.

El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Clínico, de acuerdo con las siguientes consideraciones éticas:

El grupo de investigación se comprometió a respetar los principios de la Declaración de Helsinki, debiendo desarrollar el estudio de acuerdo con el protocolo y con procedimientos normalizados de trabajo que aseguren el cumplimiento de las normas de Buena Práctica Clínica (GCP), tal como se describe en las Normas Tripartitas Harmonizadas de la ICH para Buena Práctica Clínica 1996. El protocolo, el formulario de consentimiento informado propuesto, fueron revisados por un Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) / Comité de Ética Independiente (CEI). Cualquier modificación del protocolo, que no fueran cambios administrativos, ha sido siempre presentada como una enmienda al protocolo con la debida aprobación de dicho comité. La confidencialidad de los datos de cada paciente ha sido respetada en todo momento. Los datos originales han sido conservados en el centro de salud y sólo han tenido acceso los investigadores del estudio y la/s persona/s encargada/s de su monitorización, o en caso de inspección por parte de las Autoridades Sanitarias Españolas.

9.4 Cálculo de la CEDD

En el estudio caso-control, el tipo AP que recibían los pacientes no fue criterio de exclusión. Con el fin que los datos fueran comparables y de minimizar el efecto del tipo de AP utilizado, se hizo un cálculo de la dosis diaria equivalente de clorpromacina (CEDD) para cada AP (*Woods S.W. 2003*). Dichas dosis equivalentes se calculan teniendo en cuenta la dosis mínima diaria efectiva para cada AP, de modo que se ha establecido que las dosis equivalentes a 100mg/día de clorpromacina son 2mg/día de haloperidol, 2mg/día de risperidona, 5mg/día de olanzapina, 75mg/día de quetiapina,

60mg/día de ziprasidona y 7.5mg/día de aripiprazol. La conversión del fármaco amisulpride (n=4) y del LAIR (*Long Acting Injectable Risperidone*) no fue posible debido a la inexistencia de tablas de conversión disponibles.

En el cálculo de la CEDD se incluyó la adición de dosis en el caso de que fueran administrados dos APs conjuntamente; esto se dio en 8 casos y en 29 controles. Se categorizó la CEDD en tres grupos: baja ≤ 200 mg, media 201-399mg, y alta ≥ 400 mg. En esta nueva variable, se pudo añadir la dosis de amisulpride de cada correspondiente categoría (baja ≤ 25 mg, media 25-50mg, y alta ≥ 50 mg), así como de LAIR (baja ≤ 400 mg, media 401-599mg, y alta ≥ 600 mg).

10. MÉTODOS ANALÍTICOS

El aislamiento de DNA se llevó a cabo a partir de 300 μ l de sangre entera, previa obtención del consentimiento informado, usando técnicas estándar. De cada muestra de DNA se analizaron los siguientes polimorfismos genéticos:

- DRD2 TaqIA
- DRD2 TaqIB
- DRD2 -141C Ins/Del
- DRD3 Ser9Gly
- SLC6A3 VNTR

Para analizar la asociación entre los distintos polimorfismos y el riesgo de esquizofrenia, todos los polimorfismos genéticos evaluados se estudiaron en los 291 controles y los 211 esquizofrénicos, excepto para el polimorfismo SLC6A3 VNTR que únicamente se evaluó en 84 individuos del grupo control y en 53 pacientes esquizofrénicos.

Todos los polimorfismos genéticos evaluados se estudiaron en los 81 casos y los 189 controles, excepto para el polimorfismo SLC6A3 VNTR que únicamente se evaluó en 32 casos y en 29 controles.

10.1 Genotipado DRD2 TaqIA y DRD2 TaqIB

La secuencia genómica de 310 pares de bases (pb) correspondiente al polimorfismo TaqIA del gen DRD2 se amplificó mediante la técnica de PCR (*polymerase chain reaction*) con la pareja de oligonucleótidos 5'-CCG TCG ACG GCT GGC CAA GTT GTC TA y 5'-CCG TCG ACC CTT CCT GAG TGT TCA TCA, a una concentración de 250nM (*Noble EP et al. 1994*). Los oligonucleótidos 5'-GAT ACC CAC TTC AGG AAG TC y 5'-GAT GTG TAG GAA TTA GCC AGG se usaron para amplificar mediante PCR el fragmento de 459 pb que incluye el polimorfismo TaqIB del gen DRD2, a una concentración de 250nM (*Castiglione C.M. et al. 1995*).

La reacción de PCR se llevó a cabo en un volumen de 30µl mediante los siguientes reactivos: MgCl₂ 1.25mM, 0.2mM de cada dNTP (GeneCraft, Lüdinghausen, Germany), 0.5µM de los correspondientes oligonucleótidos, 500ng de DNA, 1 unidad de taq polimerasa (Suprathem, GeneCraft, Lüdinghausen, Germany) y el correspondiente tampón de PCR. Tras una desnaturalización inicial a 94°C durante 4 minutos, el DNA fue amplificado mediante 30 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 65°C y 30 segundos a 72°C, seguido de un paso de extensión final de 5 minutos a 72°C.

En el caso del polimorfismo DRD2 TaqIA, 10µl del producto de PCR fue digerido con 2.5 unidades del enzima de restricción TaqI (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) durante 22 horas a 65°C. Para el polimorfismo DRD2 TaqIB, 10µl del producto de PCR fueron igualmente digeridos con 2.5 unidades del enzima de restricción TaqI a

una temperatura de 65°C, pero en este caso el tiempo de digestión fue de 5 horas. Los productos de digestión fueron visualizados por electroforesis en geles de agarosa al 3%, conteniendo 0.65µg/ml de bromuro de etidio.

Para el polimorfismo DRD2 TaqIA se han descrito 3 posibles genotipos:

- El homocigoto predominante o *wild type* A₂A₂ que como resultado de la digestión muestra dos fragmentos de 180 y 130 pb.
- El heterocigoto A₁A₂ que tras la digestión se presenta en tres fragmentos de 310, 180 y 130 pb.
- El homocigoto de baja frecuencia o mutado A₁A₁ que se mantiene sin digerir y por tanto con el tamaño de 310pb correspondiente al fragmento inicial.

Para el polimorfismo DRD2 TaqIB también han sido descritos 3 posibles genotipos:

- El homocigoto predominante o *wild type* B₂B₂ que como resultado de la digestión muestra dos fragmentos de 267 y 192 pb.
- El heterocigoto B₁B₂ que tras la digestión se presenta en tres fragmentos de 459, 267 y 192 pb.
- El homocigoto de baja frecuencia o mutado B₁B₁ que se mantiene sin digerir y por tanto con el tamaño de 459pb correspondiente al fragmento inicial.

10.2 Genotipado DRD2 -141 C Ins/Del

La secuencia genómica de 304 pb correspondiente al polimorfismo -141C Ins/Del del gen DRD2 se amplificó mediante la técnica de PCR utilizando la pareja de oligonucleótidos 5'-ACT GGC GAG CAG ACG GTG AGG ACC C y 5'-TGC GCG CGT GAG GCT GCC GGT TCG G (*Arinami T et al. 1997*).

Para amplificar el fragmento se usó la polimerasa Pfu (Promega, Madison, WI,

USA), y la reacción se suplementó con una concentración final de formamida del 4%, tal y como se describe en el trabajo de Arinami (*Arinami T et al. 1997*). La reacción de PCR se llevó a cabo en un volumen de 30µl, utilizando los siguientes reactivos: 0.2mM de cada dNTP (GeneCraft, Lüdinghausen, Germany), 0.5µM de los correspondientes oligonucleótidos, 500ng de DNA y el correspondiente tampón de PCR. Tras una desnaturalización inicial a 98°C durante 1 minuto, el DNA fue amplificado mediante 35 ciclos de 20 segundos a 98°C y 5 minutos a 74°C, seguido de un paso de extensión final de 5 minutos a 74°C.

La distinción entre los diferentes genotipos se llevó a cabo mediante la digestión de 10µl de producto de PCR con 10 unidades del enzima de restricción BstN1 (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA) a 60°C durante toda la noche en presencia de albúmina bovina (BSA) 1x. Los fragmentos de DNA fueron visualizados por electroforesis en gel de agarosa al 2% conteniendo 0.65µg/ml de bromuro de etidio. Se distinguieron tres genotipos distintos para el polimorfismo DRD2 -141C Ins/Del:

- El homocigoto predominante o *wild type* InsIns que como resultado de la digestión muestra dos fragmentos de 160 y 144 pb.
- El heterocigoto InsDel que tras la digestión se presenta en tres fragmentos de 304, 160 y 144 pb.
- El homocigoto de baja frecuencia o mutado DelDel que se mantiene sin digerir y por tanto con el tamaño de 304pb correspondiente al fragmento inicial

En todos estos ensayos se incluyeron estándares internos positivos para los enzimas de restricción.

10.3 Genotipado DRD3 Ser9Gly

La secuencia genómica de 463 pb correspondiente al polimorfismo Ser9Gly del gen DRD3 se amplificó mediante la técnica de PCR utilizando la pareja de oligonucleótidos 5'-GCT CTA TCT CCA ACT CTC ACA y AAG TCT ACT CAC CTC CAG GTA (*Lannfelt L. et al. 1992*).

La reacción de PCR se llevó a cabo en un volumen de 25µl mediante los siguientes reactivos: MgCl₂ 1.5mM, 0.2mM de cada dNTP (GeneCraft, Lüdinghausen, Germany), 0.25µM de los correspondientes oligonucleótidos, 250ng de DNA, 1 unidad de taq polimerasa (Suprathem, GeneCraft, Lüdinghausen, Germany) y el correspondiente tampón de PCR. Tras una desnaturalización inicial a 95°C durante 5 minutos, el DNA fue amplificado mediante 30 ciclos de 40 segundos a 95°C, 30s a 55°C y 40s a 72°C, seguido de un paso de extensión final de 5 minutos a 72°C.

La distinción entre los diferentes genotipos se llevó a cabo mediante la digestión de 10µl de producto de PCR con 1.5 unidades del enzima de restricción MluNI (Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, Germany) a 37°C durante toda la noche. El enzima reconoce la secuencia palindrómica (TGGCCA Y ACCGGT), de modo que corta el fragmento amplificado en distintos puntos generando cinco bandas de 304 (alelo Ser), 206 (alelo Gly), 111 (constante), 98 (alelo Gly) y 47(constante) pb. Los fragmentos de DNA fueron visualizados por electroforesis en gel de agarosa al 2% conteniendo 0.65µg/ml de bromuro de etidio. Se distinguieron tres genotipos distintos para el polimorfismo DRD3 Ser9Gly:

- El homocigoto predominante o *wild type* SerSer que como resultado de la digestión muestra tres fragmentos de 304, 111 y 47 pb.
- El heterocigoto SerGly que tras la digestión se presenta los cinco posibles

fragmentos.

- El homocigoto de baja frecuencia o mutado GlyGly que como resultado de la digestión muestra cuatro fragmentos de 206, 111, 98 y 47 pb.

En todos estos ensayos se incluyeron estándares internos positivos para los enzimas de restricción.

10.4 Genotipado SLC6A3 VNTR

La secuencia genómica correspondiente al polimorfismo SLC6A3 VNTR del gen DAT se amplificó mediante la técnica de PCR utilizando la pareja de oligonucleótidos 5'-TGT GGT GTA GGG AAC GGC CTG AG y 5'-CTT CCT GGA GGT CAC GGC TCA AGG (*Vandenbergh et al., 1992*).

La reacción de PCR se llevó a cabo en un volumen de 30µl mediante los siguientes reactivos: MgCl₂ 2mM, 0.2mM de cada dNTP (GeneCraft, Lüdinghausen, Germany), 0.5µM de los correspondientes oligonucleótidos, 500ng de DNA, 1.5 unidades de taq polimerasa (Supratherm, GeneCraft, Lüdinghausen, Germany) y el correspondiente tampón de PCR.

Tras una desnaturalización inicial a 94°C durante 3 minutos, el DNA fue amplificado mediante 35 ciclos de 40 segundos a 94°C, 2 minutos a 72°C y 2 minutos a 72°C, seguido de un paso de extensión final de 5 minutos a 72°C. 10µl del producto de PCR fueron visualizados mediante electroforesis en geles de azarosa al 2% conteniendo 0.65µg/ml de bromuro de etidio. El tamaño de los fragmentos obtenidos dependerá del número de repeticiones de la secuencia de 40 pares de bases: 280bp (5 repeticiones), 320bp (6 repeticiones), 360bp (7 repeticiones), 400bp (8 repeticiones), 440bp (9 repeticiones), 480bp (10 repeticiones), 520bp (11 repeticiones) y 600bp (13 repeticiones).

10.5 Fenotipo DAT

Para el estudio de la expresión *in vivo* del transportador DAT en el estriado se usó la técnica de (^{123}I) FP-CIT (DatSCAN®) SPECT (*single photon emission computerized tomography*).

Todas las medidas se efectuaron en el Departamento de Medicina Nuclear del Hospital Clínico de Barcelona. En resumen, una hora antes de la inyección de 185 MBq de (^{123}I) FP-CIT (DatSCAN®, GE Healthcare), todos los sujetos recibieron 300mg de solución de Lugol para evitar la llegada del yodo radiactivo a la glándula tiroidea.

Las tomografías SPECT se llevaron a cabo transcurridas 3h a partir de la inyección del radiotrazador usando una gammacámara (Helix, G.E.M.S.) acoplada a un colimador de alta resolución.

Las imágenes fueron procesadas en un SP1 Elscint Computer (Apex SP-X, software versión 3.12) y reconstruidas mediante filtros Metz (FWHM=10mm; factor=3) que permitieron la reconstrucción espacial. El tamaño de píxel fue 3.9mm, y no se realizaron correcciones atenuantes. Todas las imágenes fueron reconstruidas con una amplitud de 1 píxel.

El análisis cuantitativo se realizó usando regiones circulares de interés (ROIs) que se establecieron en tres cortes oblicuos consecutivos, de 3.9mm de grosor, paralelos al plano frontal-cerebelo. Las regiones se situaron en el núcleo caudado (4 píxels Ø; volumen total 2.2ml); el putamen anterior, medio y posterior (2 píxels Ø; volumen total 0.6ml para cada uno); y la corteza occipital (unión no específica; 6 píxels Ø; volumen total 5.0ml). Para cada hemisferio se obtuvieron (^{123}I) FP-CIT binding ratios (r_s):

$$r_s = 100 \times m_s / m_o$$

Donde m_s y m_o son las medias de las cuentas por píxel en las ROIs en el

estriado y el occipital, respectivamente. Esta fórmula se usó para calcular las ratios del estriado total (S=W), del núcleo caudado (S=C), putamen total (S=P) y putamen anterior (S=AP), medio (S=MP) y posterior (S=PP). El estriado total representa la suma de las ROI del núcleo caudado y de putamen total. (Mateos J.J. et al. 2005)

10.6 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados usando el programa de análisis estadístico SPSS (versión 10). Se diseñó una base de datos que contempló todos los datos sociodemográficos, clínicos y sobre todo farmacológicos de los pacientes. Para las variables continuas se calcularon las medias y las desviaciones estándar. Los análisis univariantes permitieron detectar aquellas variables asociadas con el riesgo de padecer esquizofrenia y para identificar factores clínicos relacionados con la aparición de EPS. Los análisis multivariantes (regresiones logísticas politómicas) se usaron para estimar la contribución independiente de cada variable identificada a través de los análisis univariantes. En todos estos análisis se calcularán las correspondientes OR (intervalos de confianza del 95%). En el estudio de correlación genotipo-fenotipo, para comparar las medias de los fenotipos de los diferentes grupos de genotipos, se llevará a cabo un análisis de la covarianza (ANCOVA).

- RESULTADOS -

11. POLIMORFISMOS DRD2 TaqIA/IB, DRD2 -141CIns/Del y DRD3 Ser9Gly y RIESGO de EPS

Según la Escala Simpon-Angus, del total de pacientes incluidos en el estudio de riesgo de EPS que recibían terapia AP, 81 pacientes presentaron EPS y fueron clasificados como casos, mientras que 189 no desarrollaron dichos efectos secundarios y se clasificaron como controles.

La **Tabla 6** muestra las características demográficas de ambos grupos, que presentaron una distribución similar en términos de sexo y hábito tabáquico; en edad, sin embargo la diferencia entre los dos grupos resultó estadísticamente significativa ($p=0.01$), lo que obligó a ajustar por dicho factor al hacer el análisis multivariante.

El diagnóstico psiquiátrico del grupo de pacientes se realizó siguiendo el criterio DSM-IV, tal y como se mencionó en el apartado Materiales y métodos. Como se puede ver en la **Tabla 6**, para el grupo de los casos, un 69% de los individuos presentaba esquizofrenia o un trastorno psiquiátrico relacionado, y el 31% restante correspondía a pacientes con trastorno bipolar. Para el grupo de los controles, el 87.9% de los pacientes fueron diagnosticados como esquizofrénicos o pacientes con trastornos relacionados, mientras que el 12.1% restante fueron diagnosticados como pacientes con trastorno bipolar. Entre los trastornos que se relacionaron con la esquizofrenia se incluye una serie de patologías que por su similar sintomatología, están relacionadas con la esquizofrenia, tales como el trastorno esquizoafectivo, el trastorno psicótico agudo, el trastorno por ideas delirantes y el trastorno esquizotípico. Para algunos pacientes (10 casos y 23 controles), no se consiguió hacer un diagnóstico exacto, siendo clasificados

como individuos con psicosis no específicas.

Tabla 6. Características de los pacientes casos y controles tratados con fármacos APs en el estudio de riesgo de EPS.

	Casos (EPS)	%	Controles (No EPS)	%	p
N	81		189		
Características demográficas					
Edad	32,6 ± 13		37,6 ± 16		0,01
Sexo (hombre)	43/81	53%	105/189	55%	
Tabaquismo ¹					
Fumadores	23/52	44%	72/147	49%	
Ex-fumadores	4/52	8%	20/147	14%	
No fumadores	25/52	48%	55/147	37%	
Diagnóstico psiquiátrico ²					
Esquizofrenia	49/71	69%	146/166	98%	
Trastorno bipolar	22/71	31%	20/166	12%	

¹ De algunos pacientes no se dispuso de información sobre el hábito tabáquico (29 casos y 42 controles sin contabilizar).

² De algunos pacientes no se dispuso de información diagnóstica (psicosis no específicas: 10 casos y 23 controles).

La **Figura 13** muestra los diferentes EPS que presentó el grupo de los casos, siendo la bradicinesia el más prevalente, seguido de la distonía, que como ya hemos mencionado, se evaluaron según la Escala Simpon-Angus.

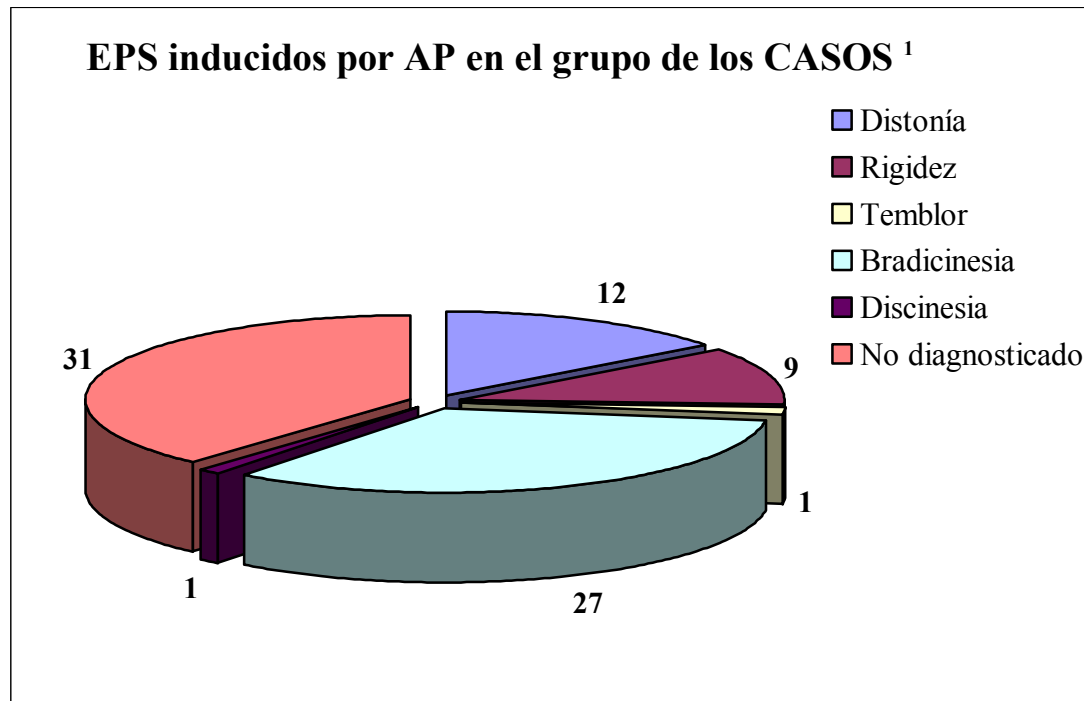


Figura 13. EPS inducidos por el tratamiento AP en el grupo de los casos.

¹ 31 casos con EPS sin especificar

Tal como muestra la **Tabla 7**, los pacientes recibieron diferente tratamiento AP, siendo la risperidona el fármaco más frecuente (59% de los casos y el 44% de los controles). La distribución de los distintos APs entre los esquizofrénicos y los pacientes con trastorno bipolar fue similar, observándose un predominio de los APs atípicos entre los controles.

Tabla 7. Distribución de las diferentes drogas APs utilizadas en casos y controles.

Fármaco AP	CASOS (n=81)	CONTROLES (n=189)
Risperidona	48 (59%)	84 (44%)
Haloperidol	13 (16%)	9 (4%)
Clozapina	1 (1%)	24 (12%)
Amisulpiride	3 (3%)	1 (0,5%)
Olanzapina	3 (3%)	32 (16%)
Zuclopentixol	5 (6%)	1 (0,5%)
Ziprasidona	4 (4%)	10(5%)
Quetiapina	1 (1%)	24 (12%)
LAIR	1 (1%)	1 (0,5%)
Trifluoperacina		1 (0,5%)
n.e.	2 (2%)	2 (1%)

n.e. No especificado

La **Tabla 8** muestra la media y la desviación estándar de la dosis de AP calculada como dosis diaria equivalente de clorpromacina (ver apartado Materiales y métodos) y categorizada en tres subgrupos (baja, media y alta), tanto en casos como en controles. La dosis total de AP en el grupo de los casos resultó significativamente más elevada que en el grupo de controles ($p=0.03$).

La dosis de AP entre pacientes con trastorno bipolar fue ligeramente mayor a la utilizada en pacientes con esquizofrenia (376.9 ± 159 mg/día y 337.8 ± 172 mg/día, respectivamente), aunque la diferencia no resultó significativa ($p=0.07$).

Tabla 8. Dosis de AP media y desviación estándar, calculada y categorizada como CEDD¹ (mg/día) en tres subgrupos, en casos y controles.

Dosis de AP	CASOS	CONTROLES
Baja	142,7±48 (n=9; 12%)	162,7±48 (n=58; 31%)
Media	296,6±30 (n=37; 49%)	290,7±33 (n=69; 37%)
Alta	564,3±158 (n=29; 38%)	547,1±147 (n=57; 30%)
Total²	381,7±183 (n=75)	329,8±178 (n=184)
n.e.	6	5

¹ Calculada como se describe en el apartado de Material y métodos.

² p=0.03

n.e. No especificado

La **Tabla 9** y la **Tabla 10** muestran el análisis univariante del riesgo de EPS dependiendo de la dosis de AP y de la edad, respectivamente. El análisis del efecto de cada una de dichas variables se realizó ajustando por la otra variable, con el fin de evaluar los dos efectos de forma independiente. Para la dosis de AP, se realizaron los cálculos comparando las categorías de dosis media y alta versus la baja. Edades inferiores a 31 años fueron las que más afectaron el riesgo de EPS, hasta llegar a duplicarlo.

El hecho de que ambas variables afecten de forma significativa el riesgo de EPS hizo necesario tenerlas en cuenta a la hora de realizar los análisis estadísticos con los datos genotípicos, teniendo que ajustar por ambas.

Tabla 9. Análisis multivariante del riesgo de EPS dependiente de la dosis de AP.

Casos vs Controles			
Dosis	OR	IC	p
Baja			
Media	3,4	1,5-7,7	0,003
Alta	3,2	1,3-7,5	0,007

Ajustado por edad

*OR comparando la categoría media vs baja y la alta vs baja (basal)

Tabla 10. Análisis multivariante del riesgo de EPS dependiente de la edad.

Casos vs Controles			
	OR	IC	p
Edad <31 ¹	2	1,1-3,6	0,01

Ajustado por dosis de AP

¹ Mediana

La **Tabla 11, 12 y 13** muestran el genotipo y la frecuencia alélica de los polimorfismos TaqIA/TaqIB y -141CIns/Del del gen DRD2, y Ser9Gly del gen DRD3, respectivamente, para el grupo de los casos y para el de los controles, siendo muy similares para ambos grupos. Entre los polimorfismos TaqIA y TaqIB se detectó *linkage disequilibrium* ($X^2=326.7$, d.f.=4, $p<0.001$). No se halló ningún individuo con el genotipo DRD2 -141C DelDel, ni entre el grupo de los casos ni entre el de los controles.

Tabla 11. Distribución descriptiva de los genotipos y frecuencias alélicas del polimorfismo DRD2 TaqIA/IB en casos y controles.

	Casos (EPS)	%	Controles (No EPS)	%
DRD2 TaqIA/IB ¹				
Homocigoto A ₁ A ₁	2/81	2,4%	3/189	1,5%
Heterocigoto A ₁ A ₂	28/81	34,5%	68/189	35,9%
Alelo A ₁ (frecuencia)		19,7%		19,5%

¹ TaqIA y TaqIB mostraron *linkage disequilibrium*. Se obtuvieron los mismos resultados para ambos polimorfismos.

Tabla 12. Distribución descriptiva de los genotipos y frecuencias alélicas del polimorfismo DRD2 -141C Ins/Del en casos y controles.

	Casos (EPS)	%	Controles (No EPS)	%
DRD2 -141C Ins/Del				
Homocigoto DelDel	-	-	-	-
Heterocigoto InsDel	14/81	17,2%	24/189	12,6%
Alelo Del (frecuencia)		8,6%		6,3%

Tabla 13. Distribución descriptiva de los genotipos y frecuencias alélicas del polimorfismo DRD3 Ser9Gly en casos y controles.

	Casos (EPS)	%	Controles (No EPS)	%
DRD3 Ser9Gly				
Homocigoto GlyGly	8/81	10,0%	19/189	10,0%
Heterocigoto SerGly	35/81	43,0%	80/189	42,0%
Alelo Gly (frecuencia)		31,0%		31,0%

Para explorar potenciales asociaciones entre los polimorfismos analizados y la aparición de EPS, se usaron análisis multivariantes, ajustando por dosis categorizadas y por edad, tal como muestra la **Tabla 14, 15 y 16**. Se calculó el riesgo asociado, con los genotipos y con la frecuencia alélica, resultando ambos análisis muy similares. No se observaron diferencias en la susceptibilidad de EPS inducidos por drogas APs para ninguno de los polimorfismos estudiados.

Tabla 14. Análisis multivariante del riesgo de EPS asociado a los genotipos DRD2 TaqIA y al alelo A₁.

	OR	IC	p
Homocigoto A ₁ A ₁	0,98	0,15-6,25	0,98
Heterocigoto A ₁ A ₂	0,93	0,51-1,68	0,8
Alelo A ₁ ¹	0,94	0,55-1,59	0,83

Ajustado por edad y dosis de AP (CEDD)

¹Homocigotos A₁A₁ y heterocigotos A₁A₂ vs homocigotos A₂A₂

Tabla 15. Análisis multivariante del riesgo de EPS asociado a los genotipos DRD2 - 141C Ins/Del y al alelo Del.

	OR	IC	p
Homocigoto DelDel	-	-	-
Heterocigoto InsDel	0,95	0,42-2,15	0,9
Alelo Del ¹	0,95	0,42-2,15	0,9

Ajustado por edad y dosis de AP (CEDD)

¹Homocigotos DelDel y heterocigotos InsDel vs homocigotos InsIns.

Tabla 16. Análisis multivariante del riesgo de EPS asociado a los genotipos DRD3 Ser9Gly y al alelo Gly.

	OR	IC	p
Homocigoto GlyGly	0,98	0,36-2,66	0,97
Heterocigoto SerGly	0,98	0,54-1,78	0,95
Alelo Gly ¹	0,98	0,64-1,52	0,95

Ajustado por edad y dosis de AP (CEDD)

¹Homocigotos GlyGly y heterocigotos SerGly vs homocigotos SerSer.

Tal como muestran la **Tabla 17** y la **Tabla 18**, se estratificaron los pacientes en dos grupos, casos y controles, en base a su diagnóstico; 1) esquizofrénicos y pacientes con trastornos psicóticos relacionados (Tabla 17) y 2) pacientes con trastorno bipolar (Tabla 18). Se realizó un análisis multivariante, ajustando por dosis categorizadas y por edad, para ambos grupos. Para los pacientes esquizofrénicos no se encontró asociación significativa entre ninguno de los polimorfismos estudiados y la susceptibilidad de EPS

inducidos por APs. En los pacientes con trastorno bipolar, en cambio, se observó una tendencia hacia un efecto protector para el alelo DRD2 TaqIA₁, con un valor de OR de 0.17, aunque en el límite de significación estadística.

Tabla 17. Análisis multivariante del riesgo de EPS asociado a los diferentes alelos de los polimorfismos TaqIA, -141C Ins/Del y Ser9Gly en pacientes esquizofrénicos.

Pacientes esquizofrénicos			
	OR	IC	p
TaqIA Alelo A ₁	1,1	0,6-2,0	0,85
-141C alelo Del	1,0	0,4-2,8	1
Ser9Gly Alelo Gly	1,1	0,7-2,0	0,6

Cada análisis es un análisis multivariante independiente ajustado por edad y dosis de AP

Tabla 18. Análisis multivariante del riesgo de EPS asociado a los diferentes alelos de los polimorfismos TaqIA, -141C Ins/Del y Ser9Gly en pacientes con trastorno bipolar.

Pacientes con trastorno bipolar			
	OR	IC	p
TaqIA Alelo A ₁	0,17	0,03-0,97	0,05
-141C alelo Del	0,50	0,06-3,99	0,51
Ser9Gly Alelo Gly	0,56	0,19-1,7	0,31

Cada análisis es un análisis multivariante independiente ajustado por edad y dosis de AP

12. POLIMORFISMO SLC6A3 VNTR y SUSCEPTIBILIDAD de EPS

La **Tabla 19** muestra las características de los pacientes utilizados en el estudio de susceptibilidad de EPS inducido por tratamiento AP. Como ya se ha mencionado anteriormente, el grupo de los casos corresponde a pacientes que presentaron EPS, mientras que el de los controles corresponde a aquellos que no presentaron EPS al recibir tratamiento AP. Estos dos grupos coinciden con los utilizados en el estudio de susceptibilidad de EPS para los polimorfismos DRD2 TaqIA/IB, -141C Ins/Del y DRD3 Ser9Gly, pero en este caso la n utilizada es más pequeña (n=61), y eran individuos que inicialmente estaban incluidos en el estudio genotipo-fenotipo DAT. Al igual que el estudio de los polimorfismos acabados de citar, ambos grupos presentaron una distribución similar en términos de sexo y hábito tabáquico; en edad, sin embargo el grupo de los casos parecía más joven y, por otro lado, también recibió dosis de APs más altas (calculadas como CEDD) que el de los controles, aunque en este caso las diferencias entre ambos no fueron significativas.

El diagnóstico psiquiátrico de los pacientes se hizo siguiendo el criterio DSM-IV, incluyendo pacientes esquizofrénicos, pacientes con trastornos psiquiátricos relacionados (trastorno esquizoafectivo, trastorno psicótico agudo, trastorno por ideas delirantes y trastorno esquizotípico) y pacientes con trastorno bipolar. Todos los pacientes con trastorno bipolar incluidos en este estudio presentaron EPS, tal como muestra la **Tabla 19**.

Tabla 19. Características de los pacientes casos y controles tratados con fármacos APs en el estudio de riesgo de EPS para el polimorfismo SLC6A3 VNTR.

	Casos (EPS)	Controles (No EPS)
Total de pacientes tratados con AP		
n (61) ¹	32	29
Edad	28,6 ± 8,1	31,8 ± 12,4
Sexo (hombre)/total	17/32 (53,1%)	18/29 (62,1%)
Fumadores/total ^{2,3}	11/17 (64,7%)	12/19 (63,1%)
Dosis ⁴	391,8 ± 224,2	345,4 ± 152,2
Diagnóstico psiquiátrico ⁵		
Esquizofrenia y trastornos relacionados/total	24/27 (88,8%)	26/26 (100%)
Trastorno bipolar/total	3/27 (11,1%)	0/26 (0%)

¹ 47 pacientes del estudio de riesgo de esquizofrenia.

² Para algunos pacientes no se disponía de la información sobre el hábito tabáquico (15 casos y 10 controles sin contabilizar). No se incluyó a los ex-fumadores.

³ Dosis de AP calculada como CEDD (mg/día)

⁴ Diagnóstico psiquiátrico siguiendo el criterio DSM-IV. No se disponía de la información diagnóstica de algunos pacientes con psicosis sin especificar (5 casos y 3 controles sin contabilizar).

Los EPS observados en este subgrupo de casos fueron los mismos que los observados en el grupo total de casos (n=81) utilizado en el estudio de los otros polimorfismos genéticos (ver **Figura 13**); siendo la bradicinesia el EPS más prevalente, seguido de la distonía.

Entre los diferentes AP utilizados en estos subgrupos de pacientes, la risperidona fue el más utilizado, y la distribución de los AP entre casos y controles fue muy similar, según se puede observar en la **Tabla 20**, al igual que se describió para los grupos completos.

Tabla 20. APs recibidos por pacientes casos y controles en el estudio de riesgo de EPS para el polimorfismo SLC6A3 VNTR.

	Casos (EPS)	Controles (No EPS)
n (61)	32	29
Tratamiento AP ¹		
Risperidona	16/31 (51,6%)	21/29 (72,4)
Haloperidol	7/31 (22,5%)	
Clozapina	1/31 (3,2%)	3/29 (10,3%)
Olanzapina	1/31 (3,2%)	2/29 (6,8%)
Zuclopentixol	4/31 (12,8%)	
Ziprasidona	2/31 (6,4%)	1/29 (3,4%)
Quetiapina	1/31 (3,2%)	1/29 (3,4%)
LAIR	1/31 (3,2%)	1/29 (3,4%)

¹ No se disponía de la información sobre el tratamiento AP de algunos pacientes (1 caso sin contabilizar)

La **Tabla 21** muestra los genotipos y frecuencias alélicas del polimorfismo SLC6A3 VNTR en el grupo de casos y en el de controles, para los alelos más comunes observados (*9R y el *10R), aunque también se detectaron individuos con el alelo *11R (frecuencia alélica 0.03).

Tabla 21. Distribución descriptiva de los genotipos y frecuencias alélicas estudiadas en casos y controles.

	Casos (con EPS)	Controles (sin EPS)
N	32	29
DAT Alelo 9*R		
Homocigotos/total	2/32 (6,2%)	2/29 (6,8%)
Heterocigotos/total	15/32 (46,8%)	15/29 (51,7%)
Frecuencia alélica	0,296	0,327
DAT Alelo 10*R		
Homocigotos/total	14/32 (43,7%)	11/29 (37,9%)
Heterocigotos/total	15/32 (46,8%)	16/29 (55,1%)
Frecuencia alélica	0,671	0,655

Para analizar posibles asociaciones entre los alelos DAT *9R y DAT *10R con la susceptibilidad EPS inducidos por terapia AP, se realizó un análisis multivariante, ajustando por dosis de AP categorizada (ver apartado 11), edad, sexo y hábito tabáquico, tal como muestra la **Tabla 22**. Para ninguno de dichos alelos se obtuvieron diferencias significativas entre ambas poblaciones, tanto si se consideraban los

genotipos como si se utilizaban las frecuencias alélicas; sin embargo, se observó una tendencia, aunque sin significación estadística, hacia un mayor riesgo de EPS entre los individuos con el alelo *10R (OR=1.4) y hacia la protección entre los que tenía el alelo *9R (OR=0.7).

Tabla 22. Análisis multivariante de la susceptibilidad de EPS inducido por tratamiento AP asociado a diferentes alelos del polimorfismo SLC6A3 VNTR (DAT *9R y DAT *10R).

	Riesgo de EPS		
	p	OR	IC
DAT Alelo 9*R	0,4	0,7	0,2-1,7
DAT Alelo 10*R	0,4	1,4	0,5-3,7

Cada análisis es un análisis multivariante independiente, ajustando por sexo, edad, hábito tabáquico y dosis de AP.

La **Tabla 23** muestra las características demográficas del grupo de individuos sanos utilizado como población control con el fin de validar el método utilizado. Estas poblaciones coinciden con las utilizadas en el estudio de riesgo de esquizofrenia para los polimorfismos DRD2 TaqIA/IB, -141C Ins/Del y DRD3 Ser9Gly, pero en este caso la n utilizada es más pequeña (n=92). En este subestudio, la muestra escogida está sesgada hacia el sexo masculino y hacia el tabaquismo.

Tabla 23. Características demográficas del grupo de población control utilizado en el genotipado SLC6A3 VNTR.

	Población general control
N	92
Características demográficas	
Edad	59,1 ± 11,9
Sexo (hombre)	84/92 (91,3%)
Tabaquismo ¹	
Fumadores/total	54/92 (58,7%)
Ex-fumadores/total	8/92 (8,7%)
No fumadores/total	30/92 (32,6%)

¹ Para algunos pacientes no se disponía de la información sobre el hábito tabáquico (16 individuos).

El genotipo y la frecuencia alélica del polimorfismo SLC6A3 VNTR en la población control se muestra en la **Tabla 24**. Los alelos más comunes observados fueron el *9R, *10R y *11R (frecuencia alélica=0.011). Sólo hubo un individuo con el genotipo *6R/*10R.

Tabla 24. Distribución descriptiva de los genotipos SLC6A3 VNTR y frecuencias alélicas estudiadas en el grupo de población control.

	Población general control
N	92
DAT Alelo 9*R	
Homocigotos/total	8/92 (8,7%)
Heterocigotos/total	35/92 (38,0%)
Frecuencia alélica	0,277
DAT Alelo 10*R	
Homocigotos/total	46/92 (50,0%)
Heterocigotos/total	38/92 (41,3%)
Frecuencia alélica	0,706

13. CORRELACIÓN GENOTIPO SLC6A3 VNTR-FENOTIPO DAT

La **Tabla 25** muestra las características demográficas y clínicas de los pacientes incluidos en el estudio genotipo-fenotipo, clasificados según su genotipo SLC6A3. Los alelos más comunes fueron el *9R y el *10R. Únicamente hubo un individuo con el alelo *11R (heterocigoto *10R/*11R).

Tabla 25. Características demográficas y clínicas de los pacientes incluidos en el estudio genotipo-fenotipo.

	Genotipo SLC6A3 VNTR		
	*9R/*9R	*9R/*10R	*10R/*10R
n (17) ¹	3	6	7
Edad	26,0 ± 0,0	22,4 ± 3,3	24,8 ± 6,5
Sexo (hombre)/total	1/3 (33,3%)	4/6 (66,6%)	3/7 (42,8%)
Diagnóstico psiquiátrico ²			
Esquizofrenia	2/3	3/4	5/7
Trastornos psicóticos relacionados ³	1/3	1/4	2/7
[¹²³I] FP-CIT medias	4,79 ± 0,14	4,43 ± 0,58	4,37 ± 0,47

¹ Un paciente esquizofrénico, varón, de 24 años de edad, presentó el genotipo *10R/*11R ([¹²³I] FP-CIT ratio media=4.4). No fue incluido.

² No se disponía de la información diagnóstica de algunos pacientes con psicosis sin especificar.

³ Entre los trastornos psicóticos relacionados con la esquizofrenia se incluyeron pacientes con trastorno psicótico agudo y con trastorno esquizotípico.

La **Figura 14** muestra la correspondencia entre la distribución del binding estriatal a la proteína DAT, expresada como [¹²³I] FP-CIT ratios estriado/occipital medias ± SEM (datos de 17 pacientes esquizofrénicos AP-naive), y los genotipos más frecuentes encontrados para el polimorfismo SLC6A3 VNTR. El análisis de la covarianza (ANCOVA) se llevó a cabo ajustando y sin ajustar por edad, pero no se obtuvieron diferencias significativas en ninguno de los dos casos. Se observó una tímida tendencia a una mayor [¹²³I] FP-CIT ratio en los individuos homocigotos para el alelo

*9R (n=3), con una media de 4.79 ± 0.14 ; seguida por los heterocigotos *9R/*10R (n=6, media de 4.43 ± 0.58); y de los homocigotos para el alelo *10R (n=7, media 4.37 ± 0.47). Un paciente con el poco frecuente genotipo *10R/*11R no se incluyó en la **Figura 13** (media de 4.4). No se observaron diferencias entre las [^{123}I] FP-CIT ratios de los pacientes que desarrollaron EPS (n=7, media 4.51 ± 0.25) y los que no los presentaron (n=10, media 4.42 ± 0.53).

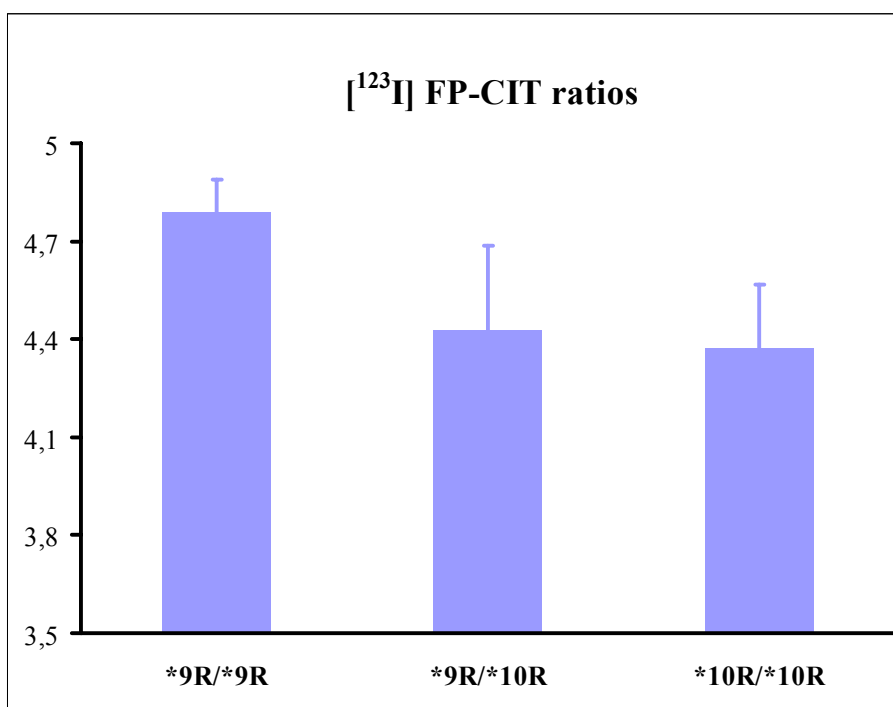


Figura 14. Relación entre la expresión de DAT en el estriado y el polimorfismo SLC6A3 en pacientes esquizofrénicos.

La **Figura 15** muestra tres imágenes correspondientes a tres cortes consecutivos, oblicuos y paralelos al plano fronto-cerebelo, de 3.9mm de grosor. Las imágenes fueron obtenidas por [^{123}I]FP-CIT SPECT en el Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Clínic de Barcelona, y corresponden a pacientes incluidos en el estudio genotipo-fenotipo DAT (*Mateos J.J. et al. 2005*). Las regiones circulares de interés marcan el

núcleo caudado, el putamen anterior, medio y posterior, y la corteza occipital.

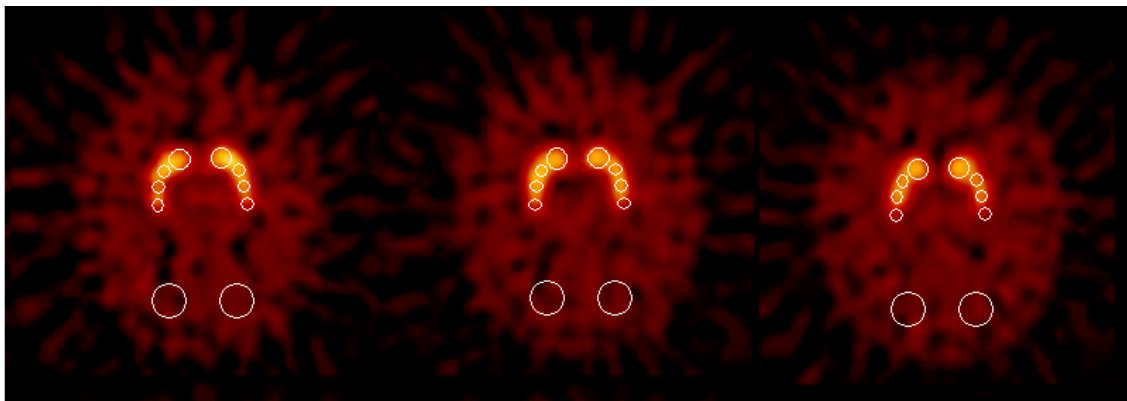


Figura 15. Imágenes obtenidas por [¹²³I]FP-CIT SPECT de pacientes incluidos en el estudio genotipo-fenotipo DAT.

14. POLIMORFISMOS DRD2 TaqIA/IB, DRD2 -141CIns/Del y DRD3 Ser9Gly y RIESGO DE ESQUIZOFRENIA

Con el fin de analizar si los polimorfismos evaluados suponían riesgo de sufrir esquizofrenia, se realizó un estudio descriptivo en población general y se compararon las prevalencias obtenidas en estos controles con las obtenidas en los pacientes.

La **Tabla 26** muestra las características demográficas del grupo de individuos sanos utilizado como población control y de los pacientes con esquizofrenia y trastornos relacionados. Debido a que la distribución de la población control estaba desviada hacia una edad elevada y hacia el sexo femenino, fue particularmente importante hacer un ajuste para estas dos variables.

Tabla 26. Características del grupo control y de los pacientes esquizofrénicos.

	Pacientes con esquizofrenia y trastornos relacionados	Población general control
n	243	291
Características demográficas		
Edad	34,0 ± 13 ¹	61,8 ± 12
Sexo (hombre)	132/243 (54,3%) ¹	112/291 (38,4%)
Tabaquismo²		
Fumadores	104/181 (57,5%) ¹	105/291 (36,0%)
Drogas de abuso³		
Negativo	126/186 (67,8%)	-
Cocaína	2/186 (1,1%)	-
Cannabis	35/186 (18,8%)	-
Alcohol	9/186 (4,8%)	-
Metadona	1/186 (0,5%)	-
Alcohol + cocaína	1/186 (0,5%)	-
Alcohol + cannabis	4/186 (2,1%)	-
Cocaína + cannabis	6/186 (3,2%)	-
Politoxicomanía	2/186 (1,1%)	-

¹ p<0,001 (vs grupo control, X²)² Dentro del grupo de fumadores también se consideraron los ex fumadores. Para algunos pacientes no se disponía de la información sobre el hábito tabáquico (58 individuos sin contabilizar).³ No existía información disponible sobre el consumo de drogas de abuso de la población control, ni de 57 pacientes.

Dado la elevada prevalencia en el consumo de drogas de abuso de los pacientes esquizofrénicos, se recogieron los datos de consumo de dichas drogas, así como el hábito tabáquico. En cuanto al tabaquismo, vemos el número de fumadores es mayor en el grupo de pacientes que en la población control, por lo que también se tuvo que realizar un ajuste para dicha variable. Debido a la falta de información disponible sobre el consumo de sustancias de abuso de la población control, no fue posible estudiar la contribución de los hábitos tóxicos en el riesgo de desarrollar esquizofrenia.

El diagnóstico psiquiátrico del grupo de pacientes se realizó siguiendo el criterio DSM-IV, tal y como se mencionó en el apartado Materiales y métodos. A parte de los pacientes que se diagnosticaron como esquizofrénicos, también se incluyeron en este grupo pacientes con patologías que por su similar sintomatología, están relacionadas con la esquizofrenia, tales como el trastorno esquizoafectivo, el trastorno psicótico agudo, el trastorno por ideas delirantes y el trastorno esquizotípico. Del total de 243 pacientes considerados, la **Figura 16** muestra qué porcentaje de pacientes se diagnosticaron con cada uno de los trastornos mencionados.

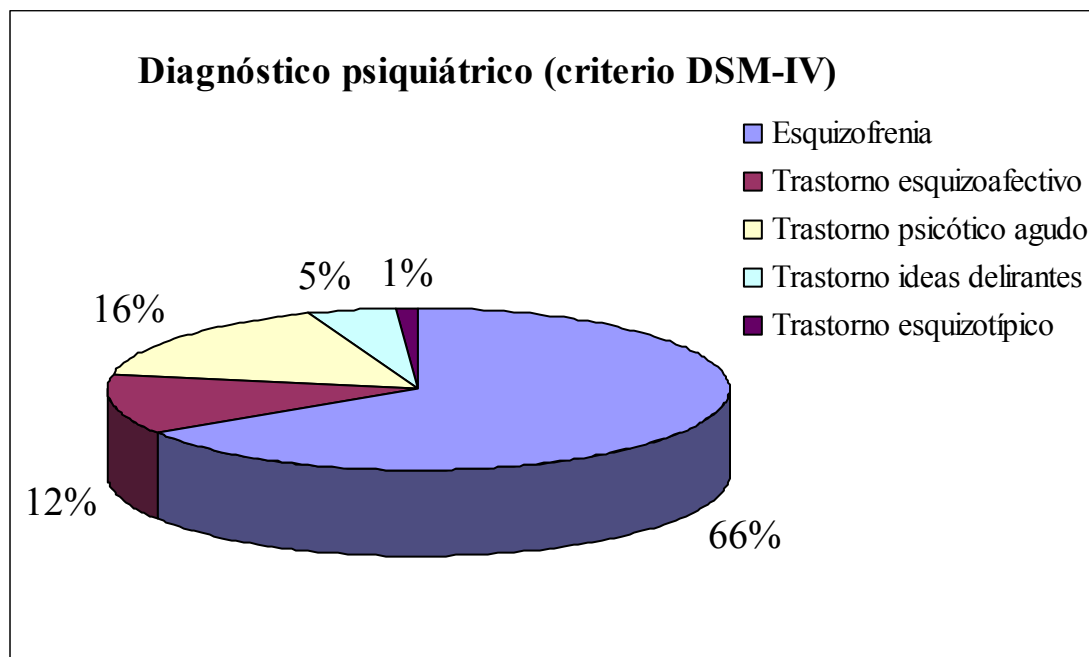


Figura 16. Diagnóstico psiquiátrico del grupo de pacientes siguiendo el criterio DSM-IV.

Los genotipos y las frecuencias alélicas de los diferentes polimorfismos genéticos estudiados (DRD2 TaqIA, DRD2 TaqIB, DRD2 -141C Ins/Del y DRD3 Ser9Gly), se muestran en la **Tabla 27**.

Los resultados obtenidos para los polimorfismos DRD2 TaqIA y IB fueron los mismos, concluyendo que ambos polimorfismos estaban en *linkage disequilibrium* ($X^2=326.7$, d.f.=4, $p<0.001$).

Tabla 27. Distribución descriptiva de los genotipos y frecuencias alélicas estudiadas en el grupo de población control y en el grupo de pacientes.

	Pacientes con esquizofrenia y trastornos relacionados		Población general control	
		%		%
DRD2 TaqIA/IB ¹				
Homocigoto A ₁ A ₁	5/243	2,1%	13/287	4,5%
Heterocigoto A ₁ A ₂	81/243	33,3%	90/287	31,3%
Alelo A ₁ (frecuencia)		18,7%		20,2%
DRD2 -141C Ins/Del				
Homocigoto DelDel	2/243	0,8%	2/291	0,7%
Heterocigoto InsDel	33/243	13,6%	54/291	18,6%
Alelo Del (frecuencia)		7,6%		9,9%
DRD3 Ser9Gly				
Homocigoto GlyGly	19/243	7,8%	32/291	11,0%
Heterocigoto SerGly	107/243	44,0%	134/291	46,0%
Alelo Gly (frecuencia)		29,8%		34,0%

¹ TaqIA y TaqIB mostraron *linkage disequilibrium*. Se obtuvieron los mismos resultados para ambos polimorfismos.

Con el fin de explorar potenciales asociaciones de los alelos analizados con la susceptibilidad de padecer esquizofrenia, se realizaron análisis multivariantes independientes para cada polimorfismo, ajustando por sexo, edad y hábito tabáquico.

Tabla 28. Análisis multivariante¹ del riesgo de esquizofrenia asociado a los genotipos DRD2 -141C Ins/Del y al alelo Del.

	OR	IC	p
Homocigoto DelDel	1,06	0,0-25,0	0,97
Heterocigoto InsDel	0,3	0,1-0,7	0,007
Alelo Del ²	0,4	0,2-0,8	0,02

¹Ajustado por edad, sexo y hábito tabáquico

²Homocigotos DelDel y heterocigotos InsDel vs homocigotos InsIns.

El polimorfismo -141C Ins/Del resultó estar fuertemente asociado con la esquizofrenia, y el alelo Del fue identificado como factor protector, reduciendo el riesgo de desarrollar esquizofrenia en un 60%, tal como muestra la **Tabla 28**. Se calculó el riesgo asociado, con los genotipos (el cálculo sólo es adecuado para el heterocigoto, debido a la baja prevalencia del homocigoto DelDel) y con la frecuencia alélica.

Para los otros polimorfismos estudiados, no se obtuvo significación estadística, ya sea considerando los genotipos o bien haciendo el análisis con la frecuencia alélica, tal como muestran las **Tablas 29 y 30**. Se observó un ligero grado de protección frente al riesgo de esquizofrenia para el alelo A₁, con una OR=0.8, más evidente entre los individuos con el genotipo homocigoto A₁A₁, pero que no llegó a ser estadísticamente significativo.

Tabla 29. Análisis multivariante¹ del riesgo de esquizofrenia asociado a los genotipos DRD2 TaqIA y al alelo A₁.

	OR	IC	p
Homocigoto A ₁ A ₁	0,4	0,06-2,8	0,4
Heterocigoto A ₁ A ₂	0,9	0,5-1,8	0,9
Alelo A ₁ ²	0,8	0,5-1,4	0,5

¹Ajustado por edad, sexo y hábito tabáquico

²Homocigotos A₁A₁ y heterocigotos A₁A₂ vs homocigotos A₂A₂.

Tabla 30. Análisis multivariante¹ del riesgo de esquizofrenia asociado a los genotipos DRD3 Ser9Gly y al alelo Gly.

	OR	IC	p
Homocigoto GlyGly	0,8	0,3-1,8	0,5
Heterocigoto SerGly	0,9	0,5-1,5	0,6
Alelo Gly ²	0,9	0,6-1,3	0,5

¹Ajustado por edad, sexo y hábito tabáquico

²Homocigotos GlyGly y heterocigotos SerGly vs homocigotos SerSer.

- DISCUSIÓN -

15. VALIDEZ DE LOS ESTUDIOS FARMACOGENÉTICOS

Los estudios farmacogenéticos en el campo de la psiquiatría, han proporcionado información de gran utilidad, tanto para el análisis de los factores de riesgo asociados a enfermedades, como para el estudio de la distinta respuesta a fármacos como los APs. Además, la utilización de técnicas farmacogenéticas presenta una serie de ventajas frente a otras técnicas de análisis fenotípico. En primer lugar, el genotipo de un sujeto es invariable, no se ve afectado por la evolución de la enfermedad ni por el tratamiento que reciba, pudiéndose evaluar en cualquier periodo de su vida. En segundo lugar, las técnicas de biología molecular proporcionan una información muy precisa del genotipo de un individuo, de modo que los errores metodológicos en dichos análisis juegan un papel muy pequeño. En tercer lugar, la cantidad de información pública disponible sobre el genoma humano ayuda a diseñar estudios más dirigidos. El fácil acceso a dicha información, junto con los avances en técnicas moleculares, ha hecho factible el genotipado a gran escala. No obstante, aunque la realización de macroestudios con muchos individuos y múltiples SNPs, son necesarios para confirmar asociaciones entre polimorfismos genéticos y un determinado fenotipo clínico, estudios exploratorios, como éste, con sólo centenares de muestras son imprescindibles como paso previo al diseño del estudio confirmativo a gran escala.

Gran parte de la variabilidad del genoma humano se atribuye a los SNPs. La elevada frecuencia de SNPs encontrada en el genoma humano (uno por cada 1.000-2.000 pares de bases) hace que sean de gran utilidad en la caracterización de rasgos fenotípicos y en el estudio de enfermedades (*Sachidanandam R. et al. 2001*). En los últimos años se ha propuesto que los SNPs supondrían la nueva generación de marcadores para la identificación de locus asociados a patologías complejas, y se han

utilizado en enfermedades como la migraña con aura, la psoriasis o la esquizofrenia (*Schmith V.D. 2003*). El análisis de la posible asociación de SNPs con el mayor riesgo de desarrollar enfermedades como la esquizofrenia es uno de los principales retos de la farmacogenética, así como la posible relación con la respuesta a fármacos y con la aparición de efectos adversos.

A pesar de la cantidad de AP disponibles en la actualidad, no siempre dicha terapia supone una solución definitiva. Entre el 10-20% de los pacientes no responden al tratamiento inicial, un 20-30% adicional sufre recaídas, y otros padecen graves efectos secundarios que los llevan a interrumpir la medicación. Por todo ello, sería de gran interés el poder obtener un predictor biológico o clínico de la respuesta y de la aparición de efectos secundarios.

16. FACTORES DE RIESGO DE EPS INDUCIDOS POR APs: edad y dosis

El principal efecto secundario del tratamiento antipsicótico (AP) son los llamados efectos extrapiramidales (EPS). Se ha estimado que un 90% de los pacientes tratados con APs típicos desarrollan EPS.

A pesar de la introducción de los APs atípicos, que han sido asociados con un menor riesgo de inducir EPS, la aparición de dichos efectos adversos continúa siendo un importante problema en la práctica clínica. En enfermedades como la esquizofrenia, una porción de pacientes tratados con AP atípicos continúan sin experimentar una total remisión de su sintomatología positiva, y no se ha conseguido encontrar un tratamiento efectivo para gran parte de los síntomas negativos y cognitivos; además, esta nueva generación de APs lleva una serie de efectos secundarios asociados (aumento de peso,

diabetes, anormalidades lipídicas). Por todo ello, en un alto porcentaje de pacientes se siguen utilizando fármacos como el haloperidol o fármacos atípicos como la risperidona que mantienen el riesgo de EPS (*Kapur S. et al. 2001*).

La **Figura 17** muestra las ventas anuales (en millones de dólares) del año pasado, a nivel mundial, para algunos fármacos APs, utilizados en el tratamiento de la esquizofrenia. Vemos que, al igual que en nuestro estudio, se tiende a una mayor utilización de los APs atípicos.

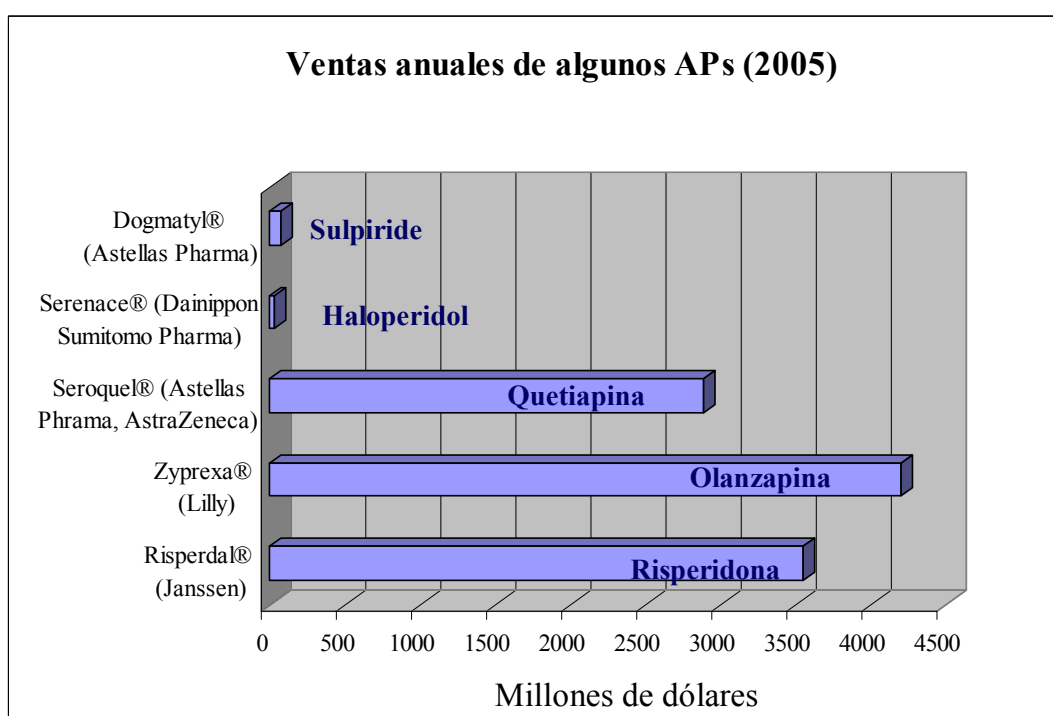


Figura 17. Ventas mundiales anuales, correspondientes al año 2005, para algunos APs (*Integrity, Prous Science*).

La aparición de EPS como la acatisia, el parkinsonismo o la distonía, no únicamente crea una incapacidad física relacionada con las alteraciones de movimiento, sino que producen, también, desestabilización emocional, por lo que se ha relacionado la aparición de EPS inducidos por la terapia AP con el bajo cumplimiento terapéutico,

que es, por otra parte, la mayor causa de recaída (*Kane J.M. 2001*).

Se ha sugerido que el sexo y la edad podrían actuar como factores de riesgo en la aparición de EPS. Entre los efectos que se han relacionado con el sexo de los pacientes destaca el parkinsonismo, que parece tener una incidencia dos veces mayor en mujeres que en hombres; y la distonía aguda, que tendría un ligero predominio en hombres (*Kulisevsky J. et al. 2003, Van Harten P. et al. 1999*). En nuestro estudio no parece que esta variable afecte a la aparición de EPS. El hecho de que algunos efectos sean más comunes en un sexo y otros en el sexo contrario, podría hacer que ambas poblaciones quedaran compensadas. Esto explicaría que, en nuestro estudio, no encontremos una distribución diferente por sexo entre casos y controles. De hecho, nuestros resultados concuerdan con los descritos en un estudio realizado en pacientes esquizofrénicos canadienses, donde se describe una influencia del sexo sobre el riesgo de EPS; dicho estudio se llevó a cabo en pacientes tratados con risperidona, que es también el fármaco más utilizado en los pacientes de nuestro trabajo (*Labelle A. 2001*).

En cuanto a la edad, nosotros describimos que son los pacientes más mayores los que están más protegidos frente a los EPS; en edades inferiores a los 31 años se duplicaría el riesgo de aparición de dicho efecto secundario ($p=0.01$). Diversos estudios han reportado mayor sensibilidad a la aparición de EPS en niños y adolescentes. Se ha descrito que el pico máximo de incidencia de distonía y parkinsonismo estaría entre la franja comprendida entre los 10 y 19 años de edad; en edades adultas la incidencia va disminuyendo hasta llegar a valores mínimos entre los 40 y 49 años; a partir de dicha edad, únicamente para el parkinsonismo, la incidencia volvería a aumentar, pero nunca llegaría a los valores descritos en niños y adolescentes (*Lewis R. 1998*).

No está claro el porqué de esta mayor sensibilidad en edades tempranas. Algunos trabajos sobre disponibilidad de fármaco y sobre receptores irían en sentido contrario. Así, algunos estudios han demostrado que para una dosis equivalente, los niveles plasmáticos de APs de pacientes jóvenes son inferiores a los de los adultos, probablemente debido a un mayor metabolismo hepático; por tanto, desde el punto de vista farmacocinético, deberían mostrar más protección para EPS. Por otra parte, estudios realizados en población adulta sana mediante la técnica de PET, han sugerido que con la edad, hay una disminución de la densidad de receptores de D₂ en los núcleos caudado y putamen (*Volkow N.D. et al. 1998*). El hecho de que se haya postulado que existe relación entre la incidencia de EPS y la ocupación de receptores de dopamina D₂ (*Kasper S. et al., 1999*), llevaría a pensar que a mayor edad existe mayor riesgo de EPS (*Lewis R. 1998*), aunque nosotros no lo hemos podido evidenciar.

La distribución del tabaquismo en ambos grupos, casos y controles, fue similar, con lo que no debemos esperar interacción con esta variable. Hemos de recordar que los hidrocarburos aromáticos policíclicos del tabaco son inductores del citocromo P450, con lo que cabría esperar que en los pacientes fumadores estuviera aumentado el metabolismo de los APs, pudiendo ser menos vulnerables a la aparición de EPS.

En nuestro estudio podemos ver como en el grupo de los casos el porcentaje de pacientes tratados con APs típicos como el haloperidol es mayor que en el de los controles. Entre los APs atípicos que se han asociado con un riesgo muy bajo de EPS, se encuentran fármacos como la clozapina, olanzapina y quetiapina. En nuestro trabajo vemos que dichos APs están presentes tanto en el grupo de los controles como en el de los casos, aunque en menor medida en estos últimos.

Las dificultades en el reclutamiento de estos pacientes son muchas y diversas, y ha sido imposible unificar el AP, como era nuestra intención inicial. Para obviar dichas diferencias y con el fin de homogenizar en lo posible la variable fármaco, se hizo una conversión para cada AP y para cada dosis, calculando la dosis diaria equivalente de clorpromacina (CEDD) (*Woods S.W. 2003*).

En general, se ha descrito que el riesgo de EPS viene marcado por la dosis; esto se cumple para todos los APs típicos, y dentro de los atípicos para fármacos como la risperidona, olanzapina y potencialmente con ziprasidona, en cambio, no se cumple con fármacos como la quetiapina (*Kane J.M. 2001*). En nuestro estudio se reproduce esta asociación, ya que la CEDD del grupo de los casos fue significativamente mayor que la de los controles, siendo el riesgo de EPS tres veces mayor en los casos que en los controles para los rangos más altos de dosis.

Los fármacos APs han demostrado ser eficaces no sólo en la esquizofrenia y otros trastornos psicóticos relacionados, sino también en enfermedades con síntomas psicóticos como el trastorno bipolar. Se ha descrito eficacia, tanto de APs típicos como atípicos, en los episodios maníacos (*McIntyre R.S et al. 2005*), aunque algunos estudios han sugerido un mayor beneficio de los fármacos atípicos en el tratamiento de episodios mixtos (*Berk M. 2005, Calabrese J.R. 2005*).

Se han relacionado las fases depresivas con una falta de dopamina en la corteza prefrontal; así lo han postulado estudios que han descrito una reducción del *binding* del receptor D₁ en la corteza prefrontal. Entre los APs atípicos únicamente la olanzapina y la quetiapina han mostrado eficacia en la sintomatología depresiva asociada al trastorno bipolar. Se ha propuesto que dichos fármacos actuarían antagonizando los receptores de serotonina 5-HT_{2A} y como agonistas parciales 5-HT_{1A}, incrementado la disponibilidad de dopamina en la corteza prefrontal (*Yatham L.N. et al. 2005*). No obstante, en nuestro

estudio, la distribución de los distintos APs entre los pacientes con trastorno bipolar fue similar a la de los esquizofrénicos, sin aumentar el porcentaje de pacientes bipolares tratados con olanzapina o quetiapina.

Algunos estudios han sugerido que la aparición de EPS inducidos por APs, y especialmente por los típicos, sería mayor en pacientes con trastorno bipolar que en esquizofrénicos (*Cavazzoni P.A. et al. 2006*). Nuestro trabajo confirmaría estos resultados, ya que mientras los pacientes con trastorno bipolar representan un 31% de los casos, sólo un 12% de los individuos clasificados como controles tendrían dicho trastorno. Algunos autores han apostado por una razón bioquímica, sugiriendo que en pacientes bipolares se daría una hiperactividad noradrenérgica, que sería el reflejo de bajos niveles de monoamino oxidasa y altos niveles séricos de dopamina- β -hidroxilasa (*Khanna R. et al. 1998*); mientras que otros, proponen una razón puramente farmacológica, sugiriendo que muchos de los pacientes con trastorno bipolar son AP-naive, de modo que el hecho de ser tratados por primera vez con un fármaco AP los haría más vulnerables a desarrollar EPS (*Cavazzoni P.A. et al. 2006*).

Por otro lado, en nuestro estudio, la dosis de AP entre pacientes con trastorno bipolar fue ligeramente mayor a la utilizada en pacientes con esquizofrenia (376.9 ± 159 y 337.8 ± 172 mg/día, respectivamente), aunque la diferencia no resultó significativa ($p=0.07$). Otros estudios han reportado datos similares (*Khanna R. et al. 1998*), aunque según estos autores la mayor dosis de APs en estos pacientes no es la causa de una mayor aparición de EPS, sugiriendo, como hemos mencionado anteriormente, una base bioquímica. La mayor dosis de APs utilizada en pacientes bipolares se debería a que en esta población se suele empezar el tratamiento con dosis elevadas, que normalmente se reducen al conseguir niveles terapéuticos de otros fármacos como el litio; en cambio, en los pacientes esquizofrénicos, se suele empezar el tratamiento con dosis más bajas de

AP, que se pueden aumentar según la respuesta observada.

17. FARMACOGENÉTICA DE LOS EPS: POLIMORFISMOS DEL GEN DRD2

El hecho de que no todos los pacientes que reciben el mismo AP a igual dosis presenten un riesgo similar de desarrollar EPS, ha hecho que en la Comunidad Científica hubiera un gran interés en identificar un posible predictor genético para dichos efectos secundarios.

Aunque nuestro estudio parte de la hipótesis de que en enfermos esquizofrénicos se daría una hiperactividad dopaminérgica a nivel cerebral, y que la aparición de EPS también estaría relacionada con la densidad de receptores en el cerebro, todos nuestros análisis se han llevado a cabo a partir de DNA aislado de sangre periférica, ya que obviamente es mucho más factible la obtención de las células sanguíneas, y así es como se han realizado la mayor parte de trabajos que analizan los polimorfismos genéticos evaluados en nuestro estudio. De hecho, en humanos, la distribución de los receptores de dopamina no está restringida al tejido nervioso, también se expresan en linfocitos, monocitos, neutrófilos y eosinófilos circulantes (*McKenna F. et al. 2002*); por lo que, a parte de analizar el genotipo de los sujetos, también se habría podido trabajar con mRNA.

En nuestro estudio, los polimorfismos TaqIA y TaqIB del gen DRD2, mostraron estar en *linkage disequilibrium* (LD). El LD es el fenómeno por el cual la presencia de un alelo en un determinado cromosoma tiene una elevada probabilidad de coexistir con otro alelo localizado en una región próxima del cromosoma.

No encontramos ninguna asociación entre los polimorfismos del gen DRD2 (TaqIA, TaqIB y -141C Ins/Del) y la aparición de EPS. Nuestra hipótesis inicial asumía un mayor riesgo de EPS en pacientes con menor densidad estriatal de receptores D₂ respecto a los pacientes con mayor densidad de receptores. Los alelos que “a priori” habíamos propuesto que serían los que estarían relacionados con una menor densidad de receptores eran: TaqIA₁, TaqIB₁ y -141C Del.

Estudios de asociación entre los polimorfismos del gen DRD2 y el riesgo de susceptibilidad de aparición de EPS han generado resultados controvertidos. La mayoría de estudios se han realizado en población japonesa, pero incluso dentro de un mismo grupo étnico, los resultados entre los distintos trabajos son discrepantes.

El estudio realizado por Mihara (*Mihara K. et al. 2001*) intentó relacionar el polimorfismo -141C Ins/Del tanto con la incidencia como con la severidad de los EPS en una muestra reducida de pacientes esquizofrénicos japoneses (n=52) tratados con bromoperidol o nemonapride, sin encontrar asociación alguna. Por otro lado, el estudio realizado por Inada (*Inada T. et al. 1999*) en 234 pacientes esquizofrénicos, también japoneses, reportó una tendencia a una mayor frecuencia del alelo Del entre los pacientes que experimentaron EPS. De modo similar, un reciente estudio (*Nakazono Y. et al. 2005*) (n=19) concluyó que el riesgo de EPS en población esquizofrénica japonesa, sería superior en aquellos pacientes con el alelo -141C Del. En población japonesa, tampoco se ha podido establecer relación entre los polimorfismos TaqIA y TaqIB y el riesgo de aparición de EPS (*Mihara K. et al. 2000*).

En población caucásica, un estudio realizado en una cohorte de 655 pacientes esquizofrénicos (*Kaiser R. et al. 2002*) intentó relacionar diferentes polimorfismos del gen DRD2 (-141C Ins/Del, TaqIA, TaqIB, TaqID, Val96Ala, Pro310Ser, Ser311Cys, G423A), con la aparición de EPS, sin lograr establecer asociación alguna.

Los únicos resultados positivos se han obtenido con los polimorfismos TaqIA y TaqIB y la discinesia tardía; así diversos estudios han sugerido que existiría asociación entre el alelo A₂ y la susceptibilidad a padecer dicho efecto secundario (*Chen C-H. et al. 1997, Dahmen N. et al. 2001*). Se ha postulado que la discinesia tardía (DT) aparecería como consecuencia de la “up” regulación de los receptores D₂ que se produce con el tratamiento crónico con AP, tal como sugieren estudios post-mortem y estudios *in vivo* utilizando la técnica de PET (*Silvestri S. et al. 2000*). Dado que algunos trabajos han asociado el alelo A₂ del polimorfismo TaqIA a una mayor densidad estriatal de receptores, (*Pohjalainen T. et al. 1998, Jönsson E.G. et al. 1999a*), se ha sugerido que dicho alelo podría ser más prevalente en estos pacientes con DT. Por otra parte, se ha descrito que la aparición de DT es más frecuente entre los enfermos que han desarrollado EPS que entre los que no lo han hecho; un 20% de los pacientes con EPS acaban desarrollando DT (*Academic Highlights 2000*), por que lo sería lógico pensar que si algún genotipo tuviera mayor prevalencia entre individuos que han desarrollado EPS, fuera este mismo genotipo el que también estuviera asociado a la aparición de DT. El hecho de que se haya asociado el alelo A₁ con el mayor riesgo de EPS y el alelo A₂ con la mayor susceptibilidad de DT, tal como han propuesto algunos trabajos (*Mihara K. et al. 2000*), cuestiona el papel del polimorfismo TaqIA/IB en la aparición de dichos efectos secundarios inducidos por terapia AP.

El hecho de que en nuestro estudio no hayamos obtenido asociación positiva entre los polimorfismos DRD2 estudiados y el riesgo de aparición de EPS inducidos por AP, podría explicarse por diversas razones:

- 1) Nosotros basamos nuestra hipótesis en estudios genotipo-fenotipo realizados en individuos sanos (*Jönsson E.G. et al. 1999a*), de modo que en pacientes esquizofrénicos no necesariamente tiene que haber la misma relación. De

hecho, se ha descrito un exceso de receptores D₂ en el núcleo caudado de pacientes esquizofrénicos que no existe en población sana, aunque no se ha confirmado que esta elevada densidad de receptores se dé en todo el sistema nigroestriado. (Hirvonen J. et al. 2005). Por otro lado, aunque todos los estudios parecen coincidir en relacionar los alelos A₁ y B₁ con una menor densidad de receptores en el estriado, un estudio *in vivo* sugirió que para el polimorfismo -141C Ins/Del sería el alelo Ins el que estaría relacionado con una menor densidad estriatal de receptores D₂ (Jönsson E.G. et al. 1999a), lo que va en contra de nuestra hipótesis inicial.

2) La utilización de dosis demasiado elevadas de AP podrían bloquear el 100% de los receptores, impidiendo detectar la densidad de receptores y, por tanto, la influencia de los genotipos que la determinan.

3) Es posible que la asociación entre la aparición de EPS y los polimorfismos estudiados sólo tenga lugar en algunos grupos étnicos distintos al caucásico (con prevalencias de genotipos diferentes de las nuestras).

4) Dependiendo de la escala utilizada para valorar la aparición de EPS, los resultados podrían variar. Especialmente entre población japonesa, se utiliza una escala distinta a la utilizada en nuestro estudio (Simpson Angus).

5) Podría ser que existieran otros polimorfismos genéticos que afectaran en mayor medida la densidad estriatal de receptores que los evaluados en nuestro estudio. Sin embargo, hasta el momento no se han descrito, como tampoco se ha conseguido relacionar ningún otro polimorfismo del receptor D₂ con la aparición de EPS (Wilffert B. et al. 2005).

6) Aunque la mayoría de estudios han centrado la atención en el receptor de dopamina D₂, la aparición de EPS inducidos por tratamiento AP podría estar influenciada por el bloqueo de otros receptores dopaminérgicos distintos al D₂; o

bien, por otros sistemas de neurotransmisión como el serotoninérgico, el adrenérgico o el muscarínico, sobre los que la mayoría de AP también presentan cierta afinidad. El hecho de que el bloqueo de los receptores D₂ tenga lugar en minutos, mientras que la aparición de los EPS agudos no tiene lugar hasta diversas horas o incluso días tras su administración (*Gray R. et al. 2000*), sugiere que, posiblemente, éste no sea el único mecanismo implicado. Por otro lado, aunque estudios *in vivo* mediante la técnica de SPECT han conseguido relacionar la ocupación estriatal del receptor D₂ con la aparición y la severidad de la mayoría de EPS, siguen habiendo efectos, como la acatisia, que no se han logrado explicar por la ocupación estriatal de dicho receptor (*Tauscher J. et al. 2002*).

Algunos autores han sugerido que la aparición de EPS inducidos por fármacos APs, podría ser la consecuencia de un desequilibrio en la expresión de neuropéptidos en las vías palidostriada y nigrostriada, como la sustancia P, la dinorfina y la encefalina. Además, se ha propuesto que el bloqueo de los receptores D₂ de la vía palidostriada haría que ésta quedara bajo el efecto excitatorio del glutamato; por otro lado, el bloqueo dopaminérgico en la vía nigrostriada haría disminuir el efecto inhibitorio del GABA, que junto con el aumento de la transmisión de glutamato, produciría la activación de la vía. Por ello, se ha intentado relacionar la aparición de EPS con neurotransmisores como el GABA y el glutamato. Dado que parece ser que la expresión de neuropéptidos en las vías anteriormente mencionadas, vendría en parte regulada por la acción de los APs sobre receptores serotoninérgicos, también se ha tratado de asociar el riesgo de EPS con la transmisión de serotonina (*Ossowska K. et al. 2002*).

7) La disponibilidad de los fármacos en la sinapsis podría jugar mayor papel en la susceptibilidad de aparición de EPS que la densidad de receptores

dopaminérgicos, por tanto, deberían considerarse todas aquellas variables que condicionan el perfil farmacocinético del fármaco. El proceso de ADME (Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción) se ve afectado por variables como el sexo y la edad (que ya hemos mencionado anteriormente), el peso corporal de los individuos, así como por enfermedades como la insuficiencia hepática o la insuficiencia renal, que podrían alterar la concentración plasmática de fármaco. Diversos estudios han relacionado estas variables con los EPS, partiendo de la premisa que a mayor concentración plasmática de fármaco cabría esperar mayor riesgo de EPS (*Lane H-Y. et al. 1997*). Debido a la gran variabilidad interindividual, durante muchos años se ha intentado discernir si las diferencias farmacocinéticas podrían tener una base genética. Uno de los genes más estudiados ha sido el que codifica para el isoenzima CYP2D6 del citocromo hepático P450, dado que la mayor parte de fármacos APs son metabolizados por él; el gen que codifica para este enzima tiene un elevado número de variaciones alélicas funcionales, que dan lugar a individuos metabolizadores pobres, de modo que se ha sugerido que la incidencia de EPS sería más elevada en pacientes con alelos CYP2D6 inactivos (*Scordo M.G. et al. 2000*). Se ha sugerido que los polimorfismos relacionados con una menor actividad metabolizadora del citocromo P450 podrían aumentar hasta cuatro veces el riesgo de EPS (*Kulisevsky J. 2003*).

Los resultados negativos obtenidos en nuestro estudio respecto a la relación entre los polimorfismos TaqIA/B y -141C Ins/Del y el riesgo de EPS se suman a la bibliografía existente. Cuando realizamos el análisis estadístico estratificando por diagnóstico clínico, es decir, considerando los pacientes esquizofrénicos y los bipolares por separado, en el grupo de esquizofrénicos continuamos sin obtener relación entre los

polimorfismos estudiados y la aparición de EPS, aunque no fue así para el estrato de individuos con trastorno bipolar. Para estos pacientes, se obtuvo una tendencia hacia un menor riesgo de EPS en los pacientes portadores del alelo DRD2 TaqIA₁. Según nuestra hipótesis inicial debería ocurrir lo contrario, ya que el alelo A₁ se ha asociado a una menor densidad estriatal de receptores D₂ (*Jönsson E.G. et al. 1999a*), con lo que ello conferiría, en todo caso, mayor riesgo de EPS. Un estudio realizado mediante la técnica de PET (*Pearlson G.D. et al. 1995*) sugirió que los pacientes con trastorno bipolar con síntomas maníacos tenían un exceso de receptores D₂ respecto a la población sana, al igual que lo descrito para pacientes esquizofrénicos, por lo que resulta difícil explicar porqué los pacientes bipolares podrían verse más influenciados por polimorfismos que afectan el receptor D₂ que los esquizofrénicos. El hecho que dicho resultado esté rozando el límite de significación, hace que consideremos este hallazgo como un dato preliminar que se debería confirmar aumentando el tamaño de muestra de este subgrupo.

18. FARMACOGENÉTICA DE LOS EPS: POLIMORFISMO

DRD3 Ser9Gly

A pesar de que la localización del receptor de dopamina D₃ es mayoritariamente límbica (sobre todo en el núcleo acumbens), también se encuentra, aunque en baja proporción, en los ganglios basales. Concretamente se ha descrito que este receptor se localizaría en regiones implicadas en el control motor, como el estriado y el putamen ventral. El núcleo acumbens, como parte del estriado ventral, se ha considerado la mayor interfase a través de la cual la información de las áreas límbicas conectaría con los sistemas que controlan el movimiento (*Eichhammer P. et al. 2000*). Estudios

farmacológicos han evidenciado que el receptor D₃ tiene un efecto inhibitor de la actividad motora. Agonistas selectivos D₃ inhiben la locomoción cuando son inyectados en el núcleo acumbens de rata, y de modo inverso, los antagonistas producen un incremento de la actividad motora (*Basile V.S. et al. 2002*). Dichos resultados están respaldados por el hecho de que ratones *knockout* para el gen DRD3 presentan hiperactividad motora (*Holmes A. et al. 2004*). Por otro lado, se ha observado un aumento del 45-56% de receptores D₃ a nivel de los ganglios basales, en un estudio post-mortem con pacientes esquizofrénicos tratados con APs típicos (*Basile V.S. et al. 2002*). Todo ello, por tanto, parece indicar que el receptor D₃ jugaría un papel muy importante en el control del movimiento.

Debido a la baja abundancia de los receptores D₃ y a la falta de una adecuada técnica de PET para medir la ocupación producida por los APs, no se ha podido realizar una correcta asociación entre dicha ocupación y la eficacia AP o la aparición de EPS. Teniendo en cuenta la distinta afinidad que los APs han mostrado por receptores D₂ y D₃ en modelos *in vitro* (mayor para los D₂), y obviando las posibles diferencias en la competencia por la dopamina endógena, se ha estimado que una ocupación de los receptores D₂ del 70-80% correspondería a una ocupación de aproximadamente 60% de receptores D₃ (*Schwartz J.C. et al. 2000*).

Nuestra hipótesis inicial consideraba que una mayor ocupación de receptores D₃ por parte de los AP, produciría mayor riesgo de EPS, y como ya se ha comentado anteriormente, la ocupación de receptores dopaminérgicos en general estaría influenciada por la disponibilidad de fármaco, dopamina y receptores existentes en la sinapsis, así como por la afinidad entre el fármaco y el receptor.

El primer polimorfismo descrito para el gen DRD3 fue el polimorfismo Ser9Gly o también llamado Ball (*Lannfelt L. et al. 1992*).

Se ha propuesto que la sustitución de un residuo polar de serina por uno apolar de glicina podría alterar la estructura terciaria del receptor, aumentando la afinidad por la dopamina. Así lo sugirió un estudio funcional en células CHO, revelando una mayor afinidad por dopamina en los genotipos homocigotos Gly/Gly, respecto a los otros genotipos (*Basile V.S. et al. 2002*). Nuestra hipótesis inicial considera que los genotipos homocigotos Gly/Gly, dado que parece que estarían asociados a una mayor afinidad del receptor por sus ligandos (que a parte de su ligando natural y también incluiría a los fármacos APs), conferirían mayor riesgo de EPS. Un estudio realizado mediante la técnica de PET, confirmó que, entre pacientes tratados con APs, los que presentaban el genotipo Gly/Gly eran los que presentaban mayor metabolismo de fluorodesoxiglucosa en el estriado anterior, como índice de mayor actividad cerebral, y constituían el grupo de mayor riesgo para discinesia tardía más severa (*Malhotra et al. 2004*).

Hasta la fecha, los polimorfismos en el gen DRD3 son los que se han relacionado de forma más consistente con el riesgo de discinesia tardía inducida por terapia AP. Diversos estudios independientes han encontrado asociación entre el polimorfismo Ser9Gly y la susceptibilidad de padecer dicho efecto secundario. Otros estudios han relacionado el genotipo Gly/Gly con una mayor susceptibilidad de desarrollar discinesia tardía. Un reciente meta-análisis ha confirmado esta asociación (*Lerer B. et al. 2000*). Además, se ha relacionado el gen DRD3 con el gen de la citocromo P-450 17 α -hidroxilasa, también asociado con la susceptibilidad de discinesia tardía (*Segman R.H. et al. 2003*).

En cuanto a la bibliografía existente que asocie la aparición de EPS con el polimorfismo Ser9Gly, únicamente un estudio realizado en población caucásica (n=150), describió una asociación positiva entre el genotipo DRD3 Gly/Gly y la aparición de acatisia en esquizofrénicos que recibían tratamiento AP, siendo la

incidencia de dicho EPS del 88% entre pacientes con genotipo Gly/Gly respecto al 46.9% de otros pacientes con otros genotipos (*Eichhammer P. et al. 2000*).

En nuestro estudio no encontramos ninguna asociación entre los genotipos DRD3 Ser9Gly y el riesgo de EPS. El hecho de que únicamente exista un estudio que relacione la aparición de EPS con el polimorfismo DRD3 Ser9Gly (*Eichhammer P. et al. 2000*), cuestiona dicha relación; además, sólo se lo ha conseguido asociar con la acatisia, sin existir ningún trabajo que asocie el resto de EPS con dicho polimorfismo. Aún hoy en día, la acatisia continua siendo el EPS peor entendido, y a diferencia de lo descrito para otros EPS, no se ha logrado explicar su aparición con la ocupación de receptores estriatales (*Tauscher J. et al. 2002*). Uno de los mecanismos propuestos es el bloqueo de receptores dopaminérgicos en zonas específicas del mesencéfalo y la región cortical, como el núcleo acumbens (*Kulisevsky J. et al. 2003*). El hecho de que la principal localización del receptor D₃ sea en áreas mesolímbicas y mesocorticales, podría explicar que únicamente existiera relación entre el polimorfismo estudiado y la aparición de acatisia, sin tener influencia sobre los otros EPS. Por otro lado, se ha propuesto que la acatisia sería un factor de riesgo en la posterior aparición de discinesia tardía (*Barnes T.R. et al. 1984*), la cuál, como ya hemos mencionado, se ha relacionado con el polimorfismo Ser9Gly en diversos estudios.

19. FARMACOGENÉTICA DE LOS EPS: POLIMORFISMO SLC6A3 VNTR

Hemos creído interesante estudiar una posible asociación entre la aparición de los EPS y un polimorfismo del gen que codifica para el transportador DAT. Además, el hecho de que dentro del mismo hospital, el Servicio de Psiquiatría, junto con el Servicio

de Medicina Nuclear, estuviera realizando un estudio que intentaba predecir la aparición de EPS con datos del fenotipo del transportador, precisamente en los mismos pacientes que nosotros utilizábamos, posibilitó el reclutamiento. Además, esto nos permitió asociar nuestros datos genotípicos con sus datos del fenotipo DAT.

El hecho de que el DAT pueda determinar los niveles de dopamina, ha hecho que algunos estudios lo hayan asociado a trastornos relacionados con la transmisión dopaminérgica. Se ha postulado un posible papel de dicho transportador en la respuesta a fármacos APs (*Szekeres G. et al. 2004*) y en la aparición de discinesia tardía (*Yoder K.K. et al. 2004*), basándose en la teoría de la hiperactividad dopaminérgica. Este último trabajo, descubrió menor densidad estriatal del transportador (medido por PET) entre el grupo de pacientes que desarrolló discinesia tardía, aunque no se halló significación estadística. Otro estudio, a partir de datos obtenidos mediante la técnica *in vivo* de SPECT en pacientes esquizofrénicos tratados con fármacos APs, postuló que en estos pacientes se produciría un incremento de la disponibilidad del transportador de dopamina en las terminales nerviosas presinápticas dopaminérgicas estriatales, hecho que sugiere una posible implicación de dicho transportador en la aparición de EPS (*Sjoholm H. et al. 2004*).

Gran parte de los estudios farmacogenéticos realizados sobre el DAT, se han focalizado en el estudio del polimorfismo SLC6A3 VNTR, que fue identificado cuando se clonó el gen del transportador de dopamina humano (*Giros B. et al. 1992*, *Vandenbergh D.J. et al. 1992*). Dicho polimorfismo está localizado en la región 3' no codificante del gen, siendo los alelos mayoritarios los que contienen 9 y 10 repeticiones de una secuencia de 40 pares de bases. Muchos estudios han correlacionado el polimorfismo SLC6A3 con diversos trastornos en los que está implicada la neurotransmisión dopaminérgica, así como en el consumo de drogas de abuso; no

obstante, parece que el único trastorno en el que se ha reportado una asociación consistente es el trastorno por déficit de atención/ hiperactividad (*Martínez D. et al. 2001*).

El polimorfismo SLC6A3 VNTR ha sido objeto de estudios farmacogenéticos que han analizado tanto eficacia de APs (*Szekeres G. et al. 2004*), como efectos adversos inducidos por dicha terapia (*Segman R.H. et al. 2003*). El primer estudio evaluó la relación del polimorfismo con la eficacia de APs atípicos en 75 pacientes esquizofrénicos caucásicos, sin encontrar asociación alguna. El segundo estudio, intentó relacionar, aunque sin éxito, el polimorfismo SLC6A3 VNTR y otros SNPs del gen DAT con la discinesia tardía que habían desarrollado 59 pacientes tratados con APs. Nuestro estudio es el primero en estudiar la posible relación entre el polimorfismo SLC6A3 VNTR y la susceptibilidad de EPS inducidos por APs.

El hecho de que no existiera ningún estudio previo que asociara el polimorfismo SLC6A3 VNTR con dicha susceptibilidad, junto con la ambigua relación con el fenotipo del transportador, hizo que inicialmente restringiéramos el estudio de riesgo de EPS únicamente a los pacientes del estudio de fenotipo (n=61). En este subgrupo se diagnosticaron pacientes con esquizofrenia y trastornos psicóticos relacionados (incluidos en el estudio de riesgo de esquizofrenia), así como pacientes con trastorno bipolar. La distribución entre casos y controles se realizó siguiendo los criterios de la Escala Simpon Angus, y al igual que ocurría en el estudio global de riesgo de EPS, la proporción de pacientes con trastorno bipolar fue mayor entre casos que entre controles; en este caso los tres pacientes bipolares fueron considerados como casos.

La distribución de sexo y hábito tabáquico entre casos y controles fue muy similar. Aunque sin significación estadística, sí que hubo diferencias en cuanto a edad y dosis de AP entre ambos grupos. Como se ha mencionado en el estudio global de riesgo

de EPS, en este subestudio, la edad de los controles fue mayor que la de los casos, y la dosis de AP utilizada (calculada como CEDD) inferior. Aunque las diferencias no fueron significativas, se creyó adecuado realizar los análisis estadísticos para estas dos variables.

No encontramos ninguna asociación entre el polimorfismo genético VNTR del gen que codifica para la proteína DAT y la aparición de EPS inducidos por terapia AP; únicamente se observó una ligera tendencia a un mayor riesgo de EPS para el alelo *10R, aunque sin significación estadística. Nuestra hipótesis inicial asumía mayor riesgo de EPS en pacientes con menor disponibilidad de dopamina, es decir, con mayor expresión de DAT; en dicha situación, los fármacos APs tendrían que competir con menor cantidad de dopamina para ocupar el receptor D₂, y en consecuencia, la probabilidad de producir EPS sería mayor. No obstante, todavía no está claro cuál de los alelos más comunes del polimorfismo SLC6A3 VNTR (*9R o *10R) sería el que estaría asociado a una mayor expresión del transportador. Hasta el momento, los estudios *in vitro* realizados, sugieren que el polimorfismo SLC6A3 VNTR afectaría la expresión de DAT, pero los resultados son conflictivos en cuanto a establecer de qué modo contribuiría cada alelo (*Michelhaugh S.K. et al. 2001, Fuke S. et al. 2001, Miller G.M. et al. 2002*).

Dado que, como ya hemos mencionado, disponíamos de datos fenotípicos obtenidos en el Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Clínico de Barcelona mediante la técnica de [¹²³I]FP-CIT SPECT, intentamos investigar el posible papel de los alelos *9R y *10R en la expresión del transportador en el estriado. Finalmente, este estudio sólo se pudo realizar en 17 pacientes esquizofrénicos, ya que algunos de los pacientes reclutados habían recibido tratamiento AP. Dado que la determinación del fenotipo se realizó con una técnica relativamente costosa, se decidió utilizar para

nuestro estudio las determinaciones basales efectuadas en pacientes AP-naive que desarrollaron su primer episodio de esquizofrenia antes de introducir tratamiento AP, en los que se ha descrito que el transportador de dopamina en el estriado permanecería inalterado (*Laakso A. et al. 2000*).

El radioligando [^{123}I]FP-CIT es uno de los más utilizados en la tomografía por emisión de fotones (SPECT), junto con los radioligandos [^{123}I] β -CIT, [^{123}I]IPT-CIT y [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]TRODAT. Esta técnica se realiza en gammacámaras, y a partir de imágenes planares conseguidas desde diversas orientaciones, se obtiene la distribución tridimensional del trazador, y aunque ofrece una menor resolución y peor calidad de imagen que la técnica de PET, el perfeccionamiento de los equipos detectores, han convertido a la SPECT en una técnica ampliamente disponible y más asequible en el caso de amplios grupos de pacientes. La obtención de imágenes del transportador de dopamina mediante la técnica de SPECT ha conseguido aportar datos de gran valor en la enfermedad de Parkinson, así como en otros tipos de parkinsonismo (*Marshall V. et al. 2003, García Sevilla J.A. y Pazos A. 2003*).

No encontramos ninguna relación genotipo-fenotipo entre el polimorfismo SLC6A3 VNTR y la expresión de DAT estriatal en los 17 pacientes esquizofrénicos, aunque se observó una tendencia a una mayor expresión del transportador entre individuos con el genotipo *9R/*9R, respecto a los genotipos *9R/*10R y *10R/*10R. La tendencia no significativa observada en nuestro estudio no concuerda con nuestra hipótesis inicial. El alelo *10R, como ya hemos mencionado, pareció ser un factor de riesgo para los EPS (OR=1.4) en el análisis multivariante; sin embargo, es el que se corresponde con un nivel inferior de expresión de proteína (SPECT). De acuerdo con nuestra hipótesis, la baja expresión de DAT permitiría una mayor disponibilidad de dopamina en la sinapsis, dificultando el bloqueo los receptores D₂ por parte de los AP.

El hecho de que no hayamos encontrado correlación genotipo-fenotipo podría explicar estas contradicciones.

Los trabajos publicados que han intentado relacionar dicho polimorfismo con datos fenotípicos obtenidos mediante técnicas de neuroimagen son divergentes. Un estudio reciente realizado en 96 voluntarios sanos (*van Dyck et al. 2005*) asoció el alelo *9R con elevados niveles de DAT en los núcleos caudado y putamen, sugiriendo también un posible papel de la edad; dichos resultados concuerdan con los reportados en un estudio anterior realizado en individuos esquizofrénicos (*Jacobsen L.K. et al. 2000*), que irían en el mismo sentido que los obtenidos en nuestro estudio. Sin embargo, otro estudio realizado en 11 voluntarios sanos encontró la asociación inversa, observando menor expresión de DAT en el núcleo caudado (aunque no en el putamen) entre los individuos heterocigotos *9R/*10R (*Heinz A. et al. 2000*). Otros autores no encontraron ninguna asociación entre el polimorfismo SLC6A3 VNTR y la expresión de DAT en pacientes esquizofrénicos y en individuos con Parkinson (*Martínez D. et al. 2001, Lynch D.R. et al. 2003*). Las diferencias obtenidas en los distintos estudios podrían atribuirse a cuestiones metodológicas, así como al número y a la composición tanto racial como diagnóstica de los sujetos (voluntarios sanos, alcohólicos, esquizofrénicos o pacientes con Parkinson).

No hay que perder de vista que el polimorfismo SLC6A3 VNTR está localizado en la región no codificante del gen, por lo no está asociado a variaciones de la secuencia de aminoácidos de la proteína DAT (*Vanderbergh D.J. et al. 1996*), y en consecuencia es sensato pensar que no se produciría ningún cambio funcional; algunos autores han sugerido que dicho polimorfismo podría tener un papel a nivel regulador, afectar la estabilidad del mRNA, o bien estar en *linkage disequilibrium* con otro polimorfismo que modificara la disponibilidad de transportador. Nuestros resultados sugieren que el

polimorfismo VNTR no afecta la función de la proteína. Además, no se ha reportado ningún polimorfismo funcional localizado en la región codificante del gen DAT, lo que parece indicar que el gen está altamente conservado (*Grunhage F. et al. 2000*). Las variaciones interindividuales en la expresión de DAT sólo se podrían explicar por polimorfismos en la región promotora del gen o a “trans-acting factors” que actuarían en las regiones reguladoras del gen (*Fuke S. et al. 2005*).

20. ESTUDIO DE RIESGO DE ESQUIZOFRENIA

Múltiples polimorfismos genéticos se han intentado asociar con la esquizofrenia, tanto relacionados con el sistema dopaminérgico, como es el caso del DAT, como con otros sistemas de neurotransmisión.

Entender la etiología y la patogénesis de dicha enfermedad es uno de los mayores retos de la psiquiatría. En este sentido se han realizado importantes progresos, y la teoría más aceptada actualmente es que la esquizofrenia es un trastorno que afecta el desarrollo neuronal, produciendo anomalías en las conexiones sinápticas. A pesar de dichas evidencias, la susceptibilidad individual parece tener una base genética, con una herencia estimada del 80% (*Miyamoto S. et al. 2003*), y de hecho, la mayor parte de los recursos de investigación se han destinado a identificar variantes alélicas que confieren dicha susceptibilidad. No obstante, trabajos de epidemiología genética han sugerido que, al igual que sucede en otras patologías, no existiría ningún subtipo de la enfermedad que se herede siguiendo las leyes de Mendel, indicando que la susceptibilidad de padecer la enfermedad se transmitiría de forma compleja y vendría determinada por múltiples genes que interactuarían entre ellos (*Owen M.J. et al. 2005*)

La teoría de la hiperactividad dopaminérgica es la más aceptada, por lo que la

mayor parte de los polimorfismos estudiados son polimorfismos de genes relacionados con la neurotransmisión dopaminérgica. No obstante, en los últimos años se ha sugerido que en la esquizofrenia también se producirían alteraciones de los sistemas serotoninérgico y glutamatérgico.

En nuestro proyecto creímos interesante incluir un estudio descriptivo en población sana y población esquizofrénica, con el fin de analizar tanto la prevalencia de los diferentes genotipos en nuestra población, como la posible susceptibilidad a padecer esquizofrenia que éstos podían conferir.

Como población control se utilizaron muestras obtenidas con anterioridad (*Lafuente et al. 2000*). Dicho grupo presentaba una edad mayor y estaba sesgado hacia la población femenina, comparándolo con el grupo de los pacientes con esquizofrenia. Esto se debe a que el grupo de población control fue reclutado en el Servicio de Traumatología del Hospital Clínico y consiste en pacientes que recibían tratamiento médico básicamente por fracturas de pelvis y cadera, que son más prevalentes entre mujeres post-menopáusicas que en hombres. Debido a las características demográficas de este grupo, la distribución del hábito tabáquico también diferió a la del grupo de pacientes esquizofrénicos. Por ello todo ello, hemos tenido que ajustar los análisis estadísticos por estas tres variables: sexo, edad y tabaquismo.

La prevalencia de los genotipos y frecuencias alélicas de los polimorfismos TaqIA, TaqIB y -141C Ins/Del del gen DRD2 halladas para la población control fueron muy similares a las descritas en otras poblaciones europeas, tal como muestran la **Tabla 31**.

Tabla 31. Prevalencias de los genotipos DRD2 TaqIA y -141C Ins/Del en población española y sueca.

	Población española ¹ (n=291)	Población sueca ² (n=56)
DRD2 TaqIA		
A ₁ A ₁	4,5%	3,5%
A ₁ A ₂	31,3%	28,6%
A ₂ A ₂	64,2%	67,9%
DRD2 -141C Ins/Del		
DelDel	0,6%	3,6%
InsDel	18,5%	19,6%
InsIns	80,9%	76,8%

¹ Estudio actual

² Jönsson E.G. et al. 1999a

De acuerdo con las frecuencias obtenidas para el polimorfismo -141C Ins /Del en población control y en el grupo de pacientes esquizofrénicos, podemos concluir que el alelo -141C Del juega un papel protector para la esquizofrenia, mientras que el alelo -141C Ins actuaría como factor de riesgo. No pudimos calcular el riesgo asociado al genotipo homocigoto DelDel debido a la baja prevalencia de dicho genotipo, pero sí el del heterocigoto, que supuso una reducción del riesgo del 70%.

En 1997, Arinami (*Arinami T. et al. 1997*) describió este nuevo polimorfismo -141C Ins/Del. Consistía en una delección de una citosina 141 bases antes del punto de inicio de la transcripción. Estudios funcionales mostraron que el alelo -141C Del producía una reducción de la expresión del gen DRD2 en cultivos celulares (*Arinami T. et al. 1997*). El mismo estudio describió una asociación inversa entre dicho alelo y el

riesgo de esquizofrenia, reportando un 40% de reducción del riesgo, mientras que el alelo -141C Ins se relacionaba con el riesgo esquizofrenia (*Arinami T. et al. 1997*).

De acuerdo con la teoría de la hiperactividad dopaminérgica, el aumento de la frecuencia del alelo -141C Ins en la esquizofrenia estaría asociada a una mayor expresión del gen DRD2, de modo que el exceso de dopamina junto con el incremento en la densidad de receptores podría explicar algunos aspectos clínicos de la esquizofrenia. En cambio, el aumento en la frecuencia del alelo -141C Del en controles sanos indicaría menor expresión del receptor, y en consecuencia protección frente al exceso de dopamina cerebral.

La **Tabla 32** muestra la comparación entre nuestros resultados y los obtenidos por otros autores. Nuestros resultados son muy similares a los descritos por Arinami en población japonesa (*Arinami T. et al. 1997*) y por Jönsson en población caucásica (*Jönsson E.G. et al. 1999b*). Sin embargo, dos estudios en población británica escocesa y londinense, evaluados en un estudio de meta análisis (*Breen G. et al. 1999*), obtuvieron una asociación inversa, aunque con inferior significación estadística (OR=1.4, p=0.02); cada uno de dichos estudios (*Breen G. et al. 1999, Li T. et al. 1998*) analizado por separado no conseguía describir resultados significativos a pesar de que el tamaño de muestra era similar al empleado en el estudio con población japonesa (*Arinami T. et al. 1997*).

Tabla 32. Comparación de los resultados obtenidos en este estudio con los presentados por otros autores respecto a la posible asociación entre el alelo -141C Del y la susceptibilidad de padecer esquizofrenia.

	Población japonesa ¹		Población española ²	Población sueca ³	Población escocesa ⁴	Población británica ⁵	Población escocesa + británica ⁴
N casos	260		243	129	288	151	439
N controles poblacionales	312		291	179	292	145	437
Grupo étnico	japonés		caucásico	caucásico	caucásico	caucásico	caucásico
Diferencias demográficas	Sexo y edad similares		Diferencias en sexo y edad	Edad similar, diferencias en sexo	n.d.	n.d.	n.d.
PCR	Primers	Arinami	Arinami	Nested PCR	Arinami	Arinami	
	Taq	Pfu	Pfu	n.d.	Quiagen	n.d.	
	ER	BstN1	BstN2	Mval	BstN1	BstN2	
Método estadístico	X ²		Regresión	X ²	X ²	X ²	
OR	0,6		0,4	0,49	1,4	1,3	1,4
p	0,001		0,02	0,021	n.s.	n.s.	0,02
Alelo de riesgo	Ins		Ins	Ins			Del
Alelo de protección	Del		Del	Del			Ins

¹ Arinami T. et al. 1997

² Estudio actual

³ Jönsson E.G. et al. 1999b

⁴ Breen G. et al. 1999

⁵ Li T. et al. 1998

n.d. no descrito

n.s. no significativo

ER enzima de restricción

En farmacogenética no es inusual encontrar frecuencias alélicas controvertidas, especialmente entre población sana de distintos grupos étnicos. Los autores del estudio en población británica atribuían la discrepancia entre sus resultados y los descritos en estudios previos a diferencias en LD (*linkage disequilibrium*) entre las distintas poblaciones. Dicho razonamiento sería más convincente si se presentara el mismo alelo de riesgo tanto en población inglesa como en población sueca.

En nuestra opinión, la heterogeneidad entre los distintos estudios realizados en poblaciones europeas se debería al distinto diseño y metodología utilizados en cada uno de ellos. Según nuestra experiencia, en el método para genotipar el polimorfismo DRD2 -141C Ins/Del, para obtener amplificaciones de alta calidad, es importante usar una DNA polimerasa de alta fidelidad. Nosotros utilizamos la polimerasa Pfu, que es la usada por Arinami (*Arinami T. et al. 1997*) en el estudio que desarrolló por primera vez el método. El estudio en población sueca describe un método alternativo, pero también de alta fidelidad para amplificar DNA. La precisión experimental es crucial en estudios de asociación con alelos de baja prevalencia como el alelo -141C Del.

Características demográficas tales como diferencias en sexo y edad entre pacientes y controles poblacionales podrían explicar, en parte, las divergencias en los resultados. En los estudios en población japonesa (*Arinami T. et al. 1997*) y en población sueca (*Jönsson E.G. et al. 1999b*) las poblaciones de casos y controles fueron homogéneas en edad. En los estudios en población inglesa no se reportó información demográfica. En nuestro estudio, el grupo de pacientes esquizofrénicos y con trastornos psiquiátricos relacionados y el de población general control diferían significativamente en sexo y edad; en consecuencia, se debió realizar los análisis estadísticos ajustando para esas dos variables. Cuando se repitieron los análisis sin ajustar por edad, los resultados no se replicaron (OR=0.8, p=0.1), lo que indicó que dicho ajuste era crítico

para el cálculo del riesgo de esquizofrenia.

El hecho de que no existan marcadores biológicos hace que el diagnóstico de la esquizofrenia se base en la combinación de observaciones clínicas, y tal como se define en los actuales criterios diagnósticos, puede incluir patologías heterogéneas (APA 2004). Esto explicaría, en parte, las diferencias observadas en las frecuencias del alelo -141C Del entre los distintos grupos de pacientes esquizofrénicos: 0.06 (Jönsson E.G. et al. 1999b), 0.13 (Li T. et al. 1998), 0.15 (Breen G. et al. 1999) y 0.076 (estudio actual); mientras que las frecuencias descritas para la población caucásica control son muy similares: 0.10 (Jönsson E.G. et al. 1999b), 0.10 (Li T. et al. 1998), 0.11 (Breen G. et al. 1999) y 0.099 (estudio actual).

No se encontró asociación significativa ni entre el polimorfismo TaqIA ni el TaqIB y el riesgo de esquizofrenia, aunque se observó cierto grado de protección del alelo A₁, más pronunciado entre los individuos homocigotos A₁A₁. Nuestros resultados concuerdan con los reportados en una revisión reciente (Owen M.J. et al. 2004), en la que no se asoció ninguno de los alelos de dichos polimorfismos con el riesgo de padecer esquizofrenia.

La funcionalidad de los alelos de los polimorfismos TaqIA y TaqIB continúa en controversia. Algunos estudios *in vivo* han sugerido que los alelos A₁ y B₁ estarían relacionados con una baja densidad de receptores D₂ en el estriado (Pohjalainen T. et al. 1998, Jönsson E.G. et al. 1999a), aunque fueron realizados en voluntarios sanos, y no necesariamente debería mantenerse la misma relación en esquizofrénicos. Se ha sugerido que los individuos con el alelo A₁ también presentarían una disminución del metabolismo de la glucosa en algunas regiones cerebrales estrechamente relacionadas con el sistema prefrontal, tal como han indicado estudios realizados con la técnica de

PET (*Noble E.P. 2003*), asociando este alelo con la disminución de las funciones cognitivas.

Como ya hemos mencionado anteriormente, los polimorfismos TaqIA y TaqIB mostraron estar en *linkage disequilibrium*. Para patologías comunes, los estudios que han tratado de hacer asociaciones genotipo-fenotipo han tenido un éxito limitado, sugiriendo que en la mayoría de trastornos existe una compleja arquitectura genética y distintos locus participarían en la etiología. Lo más probable es que las patologías no estén únicamente influenciadas por polimorfismos genéticos individuales, sino que intervengan combinaciones específicas de alelos cercanos en el mismo cromosoma, es lo que se conoce por el nombre de haplotipo. Los grupos de SNPs con localización próxima, se dice que contienen alelos que siguen patrones de *linkage disequilibrium*. Cada haplotipo puede estar formado por un amplio número de SNPs, aunque es fácilmente identificable a través del análisis de una representación pequeña SNPs (*Schmith V.D. et al. 2003*).

Respecto al receptor D₃, la elevada expresión de estos receptores hallada en los islotes de Calleja y en el núcleo acumbens (*Suzuki M. et al. 1998*), junto con el papel que estas estructuras parecen jugar en el control de circuitos entre la corteza prefrontal y el área tegmental ventral, relacionadas con la esquizofrenia (*Schwartz J-C. et al. 2000*), hace que se convierta en un atractivo candidato con posible relación con la susceptibilidad de desarrollar la enfermedad. Por otro lado, se ha propuesto que la hiperactividad dopaminérgica a nivel subcortical existente en la esquizofrenia se produciría a través de la estimulación de los receptores D₃ (*Leriché L. et al. 2004*).

Teniendo en cuenta la hipótesis de que en la esquizofrenia existe una hiperactividad dopaminérgica, y que el sistema con una implicación más destacada sería el mesolímbico-mesocortical, hemos considerado que los receptores D₃ (con principal

localización en dicho sistema) de individuos esquizofrénicos podrían presentar una mayor afinidad por la dopamina, que el resto de la población.

Se ha sugerido que el polimorfismo DRD3 Ser9Gly podría estar relacionado con la susceptibilidad de padecer esquizofrenia. De acuerdo con los trabajos que han analizado la relación genotipo-fenotipo, se ha asociado el alelo Gly con un aumento de la afinidad del receptor D₃ por la dopamina (*Basile V.S. et al. 2002*); por tanto, cabría esperar que dicho alelo fuera el más frecuente entre esquizofrénicos. En nuestro estudio, al igual que se describió en otros trabajos realizados en población caucásica (*Joober R. et al. 2000, Szekeres G. et al. 2003*), y caucásica-vasca (*Staddon S. et al. 2005*), no encontramos asociación entre los genotipos Ser9Gly y la susceptibilidad de padecer esquizofrenia.

Aunque la bibliografía existente es muy contradictoria, ningún trabajo encuentra una mayor prevalencia del alelo Gly entre esquizofrénicos. No obstante, la elevada variabilidad de las frecuencias descritas para el genotipo Gly/Gly entre distintas poblaciones hace difícil comparar datos de distintos estudios. En población británica se ha reportado una prevalencia del 18% para el genotipo Gly/Gly (*Shaikh S. et al. 1996*), mientras que en población canadiense se ha reportado una prevalencia del 4.5% (*Joober R. et al. 2000*). Las frecuencias obtenidas en nuestro estudio concuerdan con las descritas en un estudio realizado en población española (*Staddon S. et al. 2005*), tal como muestra la **Tabla 33**.

Tabla 33. Prevalencias de los genotipos DRD3 Ser9Gly en población española.

	Población española ¹ (n=291)	Población española ² (n=156)
DRD3 Ser9Gly		
GlyGly	11,0%	8,0%
SerGly	46,0%	49,0%
SerSer	43,0%	43,0%

¹ Estudio actual

² *Staddon S. et al. 2005*

Sí que se ha reportado mayor frecuencia de genotipos homocigotos (Gly/Gly y Ser/Ser) entre los enfermos (*Jönsson E.G. et al. 2003*) o bien únicamente del genotipo Ser/Ser (*Dubertret C. et al. 1998*). Se desconoce de qué forma el genotipo Ser/Ser influiría en el riesgo de esquizofrenia. El polimorfismo Ser9Gly se encuentra en el extremo extracelular N-terminal del receptor, que parece que tendría baja relevancia en la unión a ligandos y transducción de señales. De hecho, las diferencias en afinidad observadas para los distintos genotipos, todavía no están claramente demostradas (*Basile V.S. et al. 2002*). Algunos autores han propuesto que el receptor D₃ podría operar como homo o heterodímero, pudiendo estar regulado, en parte, por el polimorfismo Ser9Gly (*Szekeres G. et al. 2004*). Por otro lado, se ha propuesto que dicho polimorfismo podría afectar el nivel de expresión del receptor, ya sea de forma individual o mediante *linkage disequilibrium* con otras variantes genéticas en la región promotora del gen, como los polimorfismos -205-A/G y -7685G/C, tal como se sugirió en el estudio realizado en población vasca (*Staddon S. et al. 2005*).

Por otro lado, respecto al transportador de dopamina, un reciente meta-análisis de diferentes estudios en poblaciones caucásicas y asiáticas (china y japonesa) ha reportado que la frecuencia de los alelos *9R y *10R entre estos dos grupos étnicos es muy diferente (*Gamma F. et al. 2005*). Por ello, creímos que era interesante realizar un estudio descriptivo de las prevalencias de los genotipos del polimorfismo SLC6A3 VNTR en nuestra población control con el fin de compararlas con las descritas para otras poblaciones caucásicas, y de este modo validar nuestro método.

La prevalencia de los genotipos SLC6A3 VNTR obtenida fue muy similar a la descrita en otras poblaciones europeas (*Persico A.M. et al. 199, Hoogendoorm M.L et al. 2005*), tal como se puede ver en la **Tabla 34**, y en población española (*Gomez-Casero E. et al. 1996*). Las diferencias en la distribución de sexo (mayoritariamente masculino), no deberían influir, ya que no se ha reportado ninguna asociación entre los genotipos estudiados y el sexo de los individuos.

Tabla 34. Genotipos SLC6A3 VNTR obtenidos en población española e italiana.

	Población española ¹	Población italiana ²
N	84	84
*6R/*10R	1,2%	
*9R/*9R	8,3%	8,3%
*9R/*10R	38,1%	48,8%
*10R/*10R	50,0%	41,7%
*9R/*11R		1,2%
*10R/*11R	2,4%	

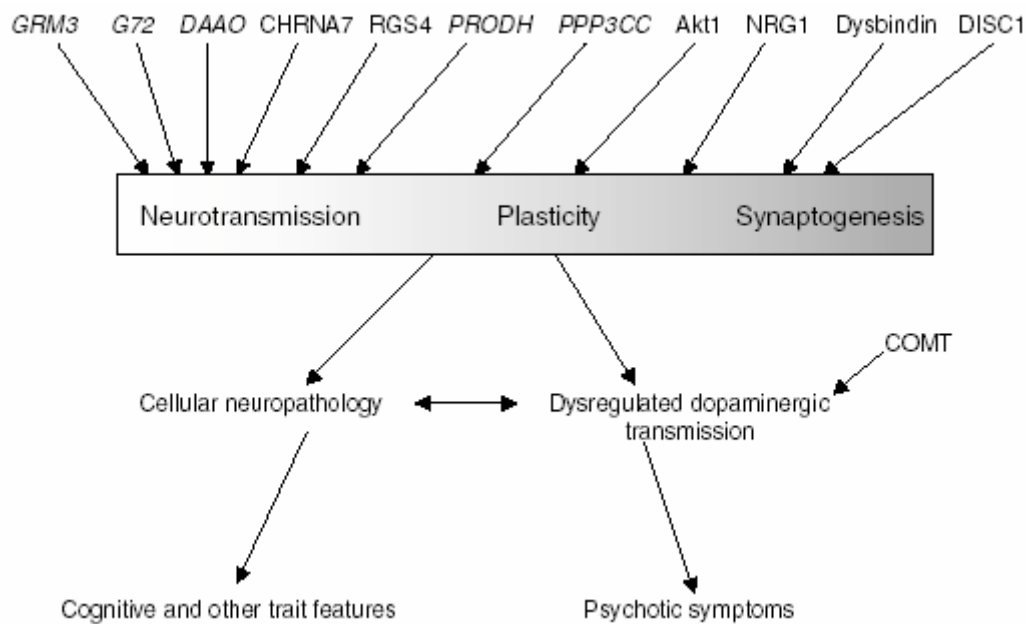
¹ Estudio actual

² Persico A.M. et al. 1997

La mayoría de estudios que han intentado relacionar el polimorfismo SLC6A3 VNTR con el riesgo de esquizofrenia en población caucásica, no lo han conseguido. De hecho, ningún estudio de *linkage* ha conseguido asociar el gen SLC6A3 con el riesgo a padecer la enfermedad (*Berry N. et al. 2003*). Así lo demuestra un reciente trabajo realizado en población holandesa (*Hoogendoorn M.L. et al. 2005*). Uno de los estudios que sugirió una asociación entre el polimorfismo y la patología, fue realizado en población italiana y reportó mayor frecuencia de los genotipos homocigotos *9R/*9R y *10R/*10R entre la población esquizofrénica (*Persico A.M et al. 1997*), aunque un estudio posterior, realizado por el mismo grupo, no consiguió replicar los resultados (*Persico A.M et al. 1998*). Recientemente, se ha descrito un polimorfismo en la región 5' del gen SLC6A3, que se ha denominado -67 A/T, y se ha asociado tanto a esquizofrenia (*Khodayari N. et al. 2004*) como al trastorno bipolar (*Keikhaee M.R. et al. 2005*).

La divergencia entre los trabajos que han intentado asociar la expresión de DAT con la esquizofrenia, junto con la controversia entre los estudios que han tratado de relacionar el polimorfismo SLC6A3 VNTR con la enfermedad, hizo que decidiéramos no ampliar el tamaño de muestra para realizar un estudio de riesgo asociado a dicho polimorfismo.

En los últimos años, a parte de los genes implicados en la neurotransmisión dopaminérgica, se han identificado diversos genes candidatos que podrían conferir susceptibilidad para la esquizofrenia. La mayoría de autores han incluido genes implicados en la plasticidad y funcionamiento de la sinapsis, tal como muestra la **Figura 18**, estando implicados, muchos de ellos, con el sistema glutamatérgico. Se ha postulado que la hipofunción del receptor NMDA podría producir anomalías en la neuroplasticidad, alterando la conectividad sináptica. Algunos autores han sugerido que la implicación del glutamato podría explicar mejor parte de la sintomatología esquizofrénica, como los síntomas negativos y cognitivos de la enfermedad (*Collier D.A. et al. 2003*). Dicha hipótesis y la de la hiperactividad dopaminérgica no son excluyentes entre sí, ya que parece que ambos sistemas estarían interrelacionados (*Miyamoto S. et al. 2003*).



GRM3	Receptor metabotrópico de glutamato tipo 3
G72	Interviene en el metabolismo de D-serina (modulador del receptor de glutamato)
DAAO	Interviene en el metabolismo de D-serina (modulador del receptor de glutamato)
CHRNA7	Receptor de acetilcolina
RGS4	Modula la señalización de receptores dopaminérgicos y de otros neurotransmisores
PRODH	Modula la transmisión glutamatérgica
PPP3CC	Subunidad gamma de calcineurina, implicado en la señalización dopaminérgica y en la plasticidad sináptica dependiente de NMDA
Akt1	Proteína quinasa B
NRG1	Disminuye la expresión del receptor NMDA, interviene en la migración neuronal y en el desarrollo cerebral
Dysbindin	Interviene en la señalización de la transmisión glutamatérgica
DISC1	Interacción con el receptor NMDA
COMT	Interviene en el metabolismo de catecolaminas

Figura 18. Representación esquemática del efecto de genes candidatos en la plasticidad y funcionamiento de la sinapsis (tomada de *Harison P.J. et al. 2005*).

Múltiples estudios epidemiológicos han relacionado el consumo de sustancias de abuso con trastornos mentales. En algunos casos el diagnóstico diferencial entre esquizofrenia concomitante con trastornos ocasionados por sustancias de abuso, y psicosis inducida por dichas sustancias, resulta extremadamente difícil. La dependencia al alcohol, nicotina y sustancias psicoestimulantes son las tres principales adicciones descritas para la población esquizofrénica. Se ha sugerido que la esquizofrenia es cuatro veces más frecuente entre alcohólicos que entre individuos sin esta adicción; la prevalencia del tabaquismo es muy superior en esquizofrénicos (entre un 50 y un 80%), que en la población general (25-30%); y el consumo de sustancias psicoestimulantes es cuatro veces más frecuente entre esquizofrénicos que entre población sana (*Batel P. 2000*).

Para explicar la estrecha relación entre la esquizofrenia y la adicción, se han propuesto muchas hipótesis, aunque han sido dos las más investigadas. Algunos autores han propuesto que, dado que ambos trastornos comparten mecanismos neuronales, podrían tener una predisposición genética común. Por otro lado, se ha sugerido que los pacientes esquizofrénicos podrían buscar en los efectos de las sustancias de abuso, un modo de tratar algunos de los síntomas de la patología o bien de disminuir los efectos indeseables inducidos por los APs, como los EPS (*Batel P. 2000*).

Se ha sugerido que una de las principales vías implicadas en el proceso adictivo es el sistema mesolímbico (“sistema de premio”), lo que ha hecho que se haya intentado buscar asociaciones con polimorfismos de genes que codifican para enzimas implicados en la síntesis o metabolismo de dopamina, receptores de dopamina, y el transportador de dopamina (*Wise R.A. 1996, Rossing M.A. 1998*).

Entre los polimorfismos analizados en nuestro estudio, del que más extensamente se ha estudiado su posible relación con la adicción, ha sido el polimorfismo DRD2 TaqIA. Se ha postulado que individuos con el alelo TaqIA₁ tendrían un déficit en su sistema de premio, relacionando dicho alelo con la mayor vulnerabilidad al consumo de sustancias de abuso. Diversos estudios han asociado este alelo, y también el alelo TaqB₁, con alcoholismo, tabaquismo y consumo de drogas de abuso (*Noble E.P. 2003, Yoshimasu K. et al. 2003*).

En nuestro trabajo, hemos descrito un amplio consumo de sustancias de abuso entre los pacientes estudiados, sin embargo nos ha faltado información sobre dicho consumo de la población control, y por ello, no ha sido posible estudiar la contribución de los hábitos tóxicos al riesgo genético.

Respecto a la susceptibilidad genética del trastorno bipolar, se ha sugerido, también, una posible contribución de genes implicados en la transmisión dopaminérgica. No obstante, a pesar que se ha descrito asociación entre los polimorfismos DRD2 TaqIA y -141C Ins/Del en población china, estos resultados no se han replicado en población caucásica (*Li T. et al. 1999*). Por otro lado, también se ha relacionado el polimorfismo DRD3 Ball con el riesgo de padecer la enfermedad (*Parsian A. et al. 1995*), aunque otros estudios no han logrado replicar dichos resultados. Un reciente estudio en población polaca parece confirmar la falta de asociación de polimorfismos DRD2 y DRD3 con el trastorno bipolar (*Leszczynska-Rodziewicz A. et al. 2005*).

En nuestro estudio, no se realizó un cálculo del riesgo a padecer trastorno bipolar asociado a los polimorfismos DRD2 TaqIA/IB, DRD2 -141C Ins/Del ni DRD3 Ser9Gly. La muestra de pacientes con dicho trastorno resultó ser demasiado pequeña

(n=43) para hacer un correcto estudio de riesgo con un análisis estadístico adecuado. No obstante, parece que los polimorfismos que más probablemente estarían asociados al trastorno bipolar serían los del transportador de dopamina; así lo ha sugerido un estudio basado en el análisis de SNPs, que detectó *linkage disequilibrium* entre el DAT y la patología, postulando una posible asociación entre el trastorno bipolar y el trastorno de déficit de atención/hiperactividad (*Greenwood T.A. et al. 2001*)

Hasta la fecha, los estudios farmacogenéticos realizados en el área psiquiátrica, se han restringido a relativamente pocos datos, obtenidos al genotipar un número limitado de SNPs. El examen de múltiples genes y de múltiples SNPs, en amplias muestras de individuos, parece la forma óptima para identificar patrones de predicción específicos que conferirán cierta susceptibilidad.

Los estudios que intentan asociar polimorfismos genéticos y esquizofrenia, a menudo obtienen resultados ambiguos. El hecho de que no existan marcadores biológicos hace que el diagnóstico de la esquizofrenia se base en la combinación de observaciones clínicas. A pesar de ello, el uso de entrevistas estructuradas y semi estructuradas, junto con los criterios diagnósticos explícitos permite un diagnóstico altamente fiable. Además, el hecho de que la esquizofrenia sea una enfermedad común entre miembros de una misma familia, ayuda a su correcto diagnóstico, y tal como se define en los actuales criterios diagnósticos, puede incluir patologías heterogéneas (*APA 2004*). Esto explicaría las diferencias que continuamente aparecen en la literatura.

21. FARMACOGENÉTICA DE LOS AP E INDUSTRIA FARMACÉUTICA

En el campo de los APs, la incorporación de estudios farmacogenéticos y farmacogenómicos por parte de las compañías farmacéuticas tiene especial interés, no tan solo para predecir susceptibilidad a sufrir EPS, sino también en el riesgo de efectos como la obesidad o la cardiotoxicidad, comunes en terapias con APs atípicos. Actualmente ya existen compañías que están trabajando en este terreno, concretamente Genaissance Pharmaceuticals, Inc. ha iniciado un programa con análogos de la clozapina, utilizando marcadores genéticos para predecir el riesgo de agranulocitosis (*Oestreicher, P. 2002*).

El tratamiento de elección para una determinada enfermedad no lo es para todos los individuos con dicha patología; en un cierto porcentaje de pacientes, la terapia seleccionada será inefectiva, ya sea por falta de respuesta terapéutica o por la aparición de efectos indeseables. Inevitablemente, en la mayoría de casos cuando se prescribe un fármaco, la efectividad del tratamiento y de la dosis son evaluados en función de la respuesta obtenida tras su administración, de modo que en caso de que el fármaco escogido resulte inefectivo, se retarda el inicio del tratamiento adecuado, generándose costes adicionales. En Estados Unidos se ha estimado que la incidencia de reacciones adversas serias a fármacos en pacientes hospitalizados es del 6-7%, y en un 0.32% se trata de reacciones fatales, situándolas entre la cuarta y sexta causa de muerte (*Brazell C. et al. 2002*). La incorporación de los conocimientos farmacogenéticos supondría un gran beneficio, ayudando a predecir la respuesta y la toxicidad antes de iniciar un tratamiento, y por tanto, proporcionando herramientas para elegir el fármaco óptimo en cada caso.

Pacientes, médicos, organismos reguladores y compañías farmacéuticas, todos ellos coinciden en el interés de tener fármacos cada vez más seguros (*Preziosi P. 2004*). A nivel de pacientes y médicos, las terapias personalizadas supondrían mayor probabilidad de éxito, ya que la probabilidad de que los fármacos mostraran eficacia clínica sería más elevada, y por otro lado, cabría esperar aparición de efectos indeseables en menor grado; todo ello supondría mayor cumplimiento de los tratamientos, se podrían realizar estrategias preventivas, y en consecuencia se reducirían los costes. A nivel de las empresas farmacéuticas existe la preocupación de ver limitado su mercado, aunque se cree que reportarán muchas otras ventajas (*Roses A.D. 2002*).

El proceso de desarrollo de fármacos es un proceso largo y costoso. En una primera fase de investigación o “Drug Discovery” se identifican moléculas candidatas para una determinada diana terapéutica, que continuarán su desarrollo, primero a nivel preclínico y posteriormente a nivel clínico, donde se evaluará la eficacia de los compuestos en humanos. Se ha estimado que para que un fármaco llegue al mercado, se han tenido que evaluar entre 5.000 y 10.000 moléculas, la mayor parte de ellas descartadas por falta de eficacia, problemas de toxicidad o factores económicos. En los últimos años, los costes asociados al proceso de desarrollo de nuevos fármacos han aumentado de forma espectacular, a lo que se ha añadido una escasa llegada de productos innovadores al mercado (*Preziosi P. 2004*).

En las primeras fases de investigación, la farmacogenética y la farmacogenómica serían útiles para entender mejor la etiología de ciertas patologías, aportando información para la identificación de nuevas dianas terapéuticas, así como la comprensión del mecanismo de acción de fármacos. En las fases preclínicas del desarrollo de fármacos, ha despertado interés la utilización de baterías de marcadores genéticos con el fin de caracterizar tanto la acción farmacológica como los efectos

tóxicos de las moléculas candidatas (*Lesko L.J. et al. 2002*), permitiendo disminuir el número de ensayos realizados con animales de laboratorio. Pero es en las fases clínicas donde la farmacogenética tendrá mayor interés, ya que se verá reducida la duración de dichas fases, necesiéndose menos pacientes, lo que redundará en los costes. Dentro del proceso de investigación y desarrollo de fármacos, estas fases son las que suponen económicamente mayor esfuerzo para las empresas.

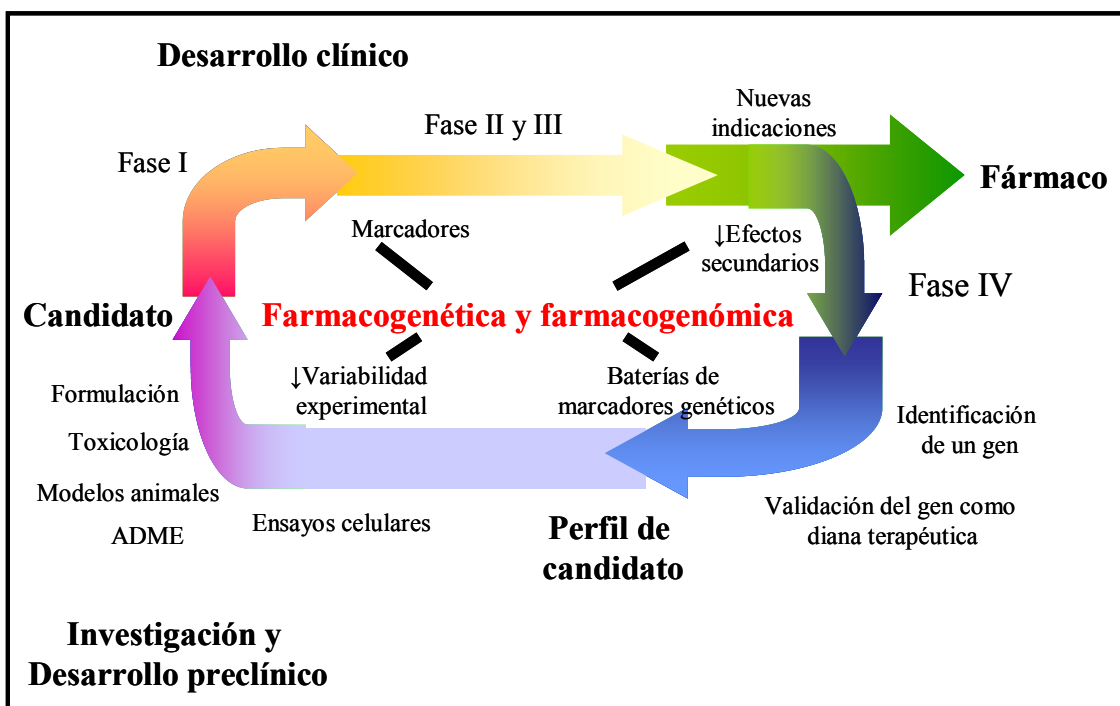


Figura 19. Farmacogenética y farmacogenómica en el proceso de I+D (basada en *Schmith V.D. et al. 2003*)

Tal como muestra la **Figura 19**, el desarrollo clínico consta de cuatro fases. En la Fase I se realizan estudios farmacocinéticos y farmacodinámicos que informan de la actividad y tolerabilidad del fármaco en sujetos sanos, proporcionando una orientación hacia la pauta de administración más idónea. En la Fase II se intenta establecer la

actividad del fármaco y valorar su seguridad en un número limitado de pacientes, y sirve para concretar dosis y posología; la asociación entre la eficacia del fármaco y el genotipo de los pacientes, permitiría realizar los estudios de la siguiente fase con el subgrupo de pacientes en los que el fármaco ha mostrado eficacia de acuerdo con su genotipo, reduciéndose en gran medida la duración y el coste de la Fase III. A nivel comercial, los fármacos tendrían un mercado más limitado pero bien definido, minimizándose el riesgo de aparición de efectos adversos.

Tradicionalmente, los efectos adversos poco frecuentes no se acostumbraban a detectar en las fases previas a la comercialización de un fármaco; se identificaban tras diversos años de haber llegado al mercado (en la fase IV o de farmacovigilancia) cuando se ampliaba el número de pacientes tratados con el fármaco. Desde el año 1982, en USA, aproximadamente 22 fármacos han sido retirados del mercado debido a problemas tóxicos no detectados en las fases de desarrollo (*Preziosi P. 2004*). La farmacogenética, también supondrá un beneficio en las fases II y III, ya que conociendo las vías metabólicas del fármaco y los polimorfismos involucrados en ellas se podrá observar la aparición de efectos tóxicos en los genotipos de riesgo, en las fases previas a la comercialización.

Hasta el momento ninguna agencia reguladora ha elaborado normativas definitivas para la aplicación de la farmacogenética en el proceso de desarrollo de fármacos. No obstante, tanto la FDA (*Food and Drug Administration*) como la ICH (*Internacional Conference on Harmonization*) reconocen el papel de dicha disciplina en programas de investigación y desarrollo de fármacos, dando soporte a la idea básica de “fármaco personalizado”, tratando de asegurar la calidad de los estudios farmacogenéticos y farmacogenómicos realizados (*Lesko L.J. et al. 2002*). Un ejemplo

de fármaco aprobado por la FDA en los que en su desarrollo se utilizaron técnicas farmacogenéticas es el del trastuzumab (Herceptin; Genetech/Roche), anticuerpo monoclonal aprobado únicamente para el tratamiento de cáncer de pecho en pacientes con metástasis, cuyos tumores sobre expresaran la proteína *HER2/neu*; otro ejemplo es el de Gleevec (imatinib mesylate), aprobado en un tipo de leucemia crónica.

Nuestro intento de identificar genotipos de riesgo para los EPS producidos por APs, no ha podido aportar marcadores predictivos de riesgo. No obstante, cabe esperar que a través de un abordaje farmacogenético más amplio, lleguemos a obtenerlos en un corto espacio de tiempo.

Por otro lado, la farmacogenética contribuye, también, a entender mejor el mecanismo de acción fármacos APs, así como la patogenia de la esquizofrenia, como ha ocurrido aquí con el polimorfismo DRD2 -141C Ins/Del.

La investigación farmacogenética en el área de las enfermedades psiquiátricas y neurodegenerativas está aumentando considerablemente, con lo que cabe esperar que a corto plazo se disponga de herramientas farmacogenéticas, que en la práctica clínica ayuden a tomar decisiones acerca del tratamiento individual de cada paciente.

- CONCLUSIONES -

1. Para los polimorfismos DRD2 TaqIA y TaqIB no se obtuvo asociación con el riesgo de EPS inducidos por tratamiento AP, aunque en el grupo de pacientes con trastorno bipolar, se observó una tendencia para el alelo A₁ a actuar como factor protector para la aparición de EPS (OR=0.17, p=0.05).
2. Los polimorfismos TaqIA y TaqIB mostraron estar en *linkage disequilibrium*.
3. Los otros polimorfismos estudiados (DRD2 -141C Ins/Del, DRD3 Ser9Gly y SLC6A3 VNTR) no afectaron el riesgo de EPS inducidos por AP.
4. En el estudio de riesgo de EPS, la edad actuó como factor protector, viéndose duplicado el riesgo de dicho efecto adverso en edades inferiores a 31 años. La dosis de AP, en cambio, mostró ser un factor de riesgo.
5. Aunque el estudio genotipo-fenotipo DAT se llevó a cabo con un bajo número de individuos, los datos obtenidos sugieren que el polimorfismo SLC6A3 VNTR no afecta la expresión del gen ni la función de la proteína.
6. La prevalencia de los genotipos DRD2 TaqIA, DRD2 TaqIB, DRD2 -141C Ins/Del, DRD3 Ser9Gly y SLC6A3 VNTR obtenidas para la población control utilizada en nuestro estudio, han resultado muy similares a las descritas para otras poblaciones caucásicas.
7. La susceptibilidad de esquizofrenia no se vio afectada por los polimorfismos DRD2 TaqIA, DRD2 TaqIB y DRD3 Ser9Gly.
8. El genotipo DRD2 -141C Del ha resultado actuar como factor protector en la susceptibilidad de padecer esquizofrenia, reduciendo el riesgo en un 70%. Este es, sin duda, el resultado más relevante de nuestro estudio.

- REFERENCIAS -

1. Abi-Dargham A. Do we still believe in the dopamine hypothesis? New data bring new evidence. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2004; 7 Suppl 1:S1-5.
2. Abi-Dargham A., Rodenhiser J., Printz D., Zea-Ponce Y., Gil R., Kegeles L.S., Weiss R., Cooper T.B., Mann J.J., Van Heertum R.L., Gorman J.M., Laruelle M. Increased baseline occupancy of D2 receptors by dopamine in schizophrenia. *PNAS* 2000; 97 (4): 8104-8109.
3. Academic Highlights. The scourge of EPS: have atypical antipsychotics solved the problem. *The Journal of Clinical Psychiatry* 2000; 61: 955-962.
4. Accili D., Fishburn C.S., Drago J., Steiner H., Lachowicz J.E., Park B.H., Gauda E.B., Lee E.J., Cool M.H., Sibley D.R. et al. A targeted mutation of the D3 dopamine receptor gene is associated with hyperactivity in mice. *PNAS* 1996; 93:1945-1949.
5. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV-TR)*. 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2000.
6. American Psychiatric Association. *Practice Guideline for the treatment of patients with schizophrenia*, 2nd ed. Washington, DC: American Psychiatric Association 2004.
7. American Psychiatric Association. *Practice Guideline for the treatment of patients with bipolar disorder (Revision)*. *Am J Psychiatry* 2002; 159:4 Supplement.
8. Antonarakis S.E. Recommendations for a nomenclature system for human gene mutations. Nomenclature Working Group. *Hum. Mutat.* 1998; 11:1-3.
9. Arinami T., Gao M., Hamaguchi H., Toru M. A functional polymorphism in the promoter region of the dopamine D2 receptor gene is associated with schizophrenia. *Human Molecular Genetics* 1997; 6: 577-582.

10. Baldessarini R.J. and Tarazi F.I. Brain dopamine receptors: a primer on their current status, basic and clinical. *Harv. Rev. Psychiatry* 1996; 3(6): 301-25.
11. Bannon M.J., Michelhaugh S.K., Wang J., Sacchetti P. The human dopamine transporter gene: gene organization, transcriptional regulation, and potential involvement in neuropsychiatric disorders. *European Neuropsychopharmacology* 2001; 11: 449-455.
12. Barnes T.R., Braude W.M. Persistent akathisia associated with early tardive dyskinesia. *Postgrad. Med. J.* 1984; 60(703):359-61.
13. Basile V.S., Masellis M., Potkin S.G., Kennedy J.L. Pharmacogenomics in schizophrenia: the quest for individualized therapy. *Human Molecular Genetics* 2002; 11 (20):2517-2530.
14. Batel P. Addiction and schizophrenia. *Eur. Psychiatry* 2000; 15:115-22.
15. Berk M., Dodd S. Efficacy of atypical antipsychotics in bipolar disorder. *Drugs* 2005; 65: 257-269.
16. Berrettini W. Bipolar disorder and schizophrenia: convergent molecular data. *Neuromolecular Med.* 2004; 5(1):109-17.
17. Berry N., Jobanputra V., Pal H. Molecular genetics of schizophrenia: a critical review. *J. Psychiatry Neurosci.* 2003; 28(6):415-29.
18. Blackwood D.H.R., Visscher P.M. and Muir W.J. Genetic studies of bipolar affective disorder in large families. *British Journal of Psychiatry* 2001; 178 (suppl 41):s134-s136.
19. Blum K., Noble E.P., Sheridan P.J., Montgomery A., Ritchie T., Jadadeeswaran P., Nogami H., Briggs A.H., Cohn J.B. Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *J. Am. Med. Assn* 1990; 263:2055-2059.
20. Bowden C.L. The burden of bipolar depression. *J. Clin. Psychiatry* 2005;

66 (suppl 5):3-4.

21. Brazell C., Freeman A., Mosteller M. Maximizing the value of medicines by including pharmacogenetic research in drug development and surveillance. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2002; 53:224-231.

22. Breen G., Brown J., Maude S., Fox H., Collier D., Li T. et al. -141C Del/Ins polymorphism of the dopamine receptor 2 gene is associated with schizophrenia in a British population. *Am. J. Med. Genet. Neuropsychiatr. Genet.* 1999; 88: 407-410.

23. Bressan R.A., Erlandsson K., Jones H.M., Mulligan R., Flanagan R.J., Ell P.J., Pilowsky L.S. Is regionally selective D2/D3 dopamine occupancy sufficient for atypical antipsychotic effect? An in vivo quantitative [123I] Epidepride SPET study of amisulpride-treated patients. *Am. J. Psychiatry* 2003; 160(8):1413-1420.

24. Brooks A.R., Levy-Wilson B. Hepatocyte nuclear factor 1 and C/EBP are essential for the activity of the human apolipoprotein B gene second-intron enhancer. *Mol. Cell. Biol.* 1992; 12: 1134-1148.

25. Calabrese J.R., Elhaj O., Gajwa N.I., Gao K. Clinical highlights in bipolar depression; focus on atypical antipsychotics. *J. Clin. Psychiatry* 2005; 66 (suppl 5): 26-33.

26. Cargill M., Altshuler D., Ireland J., Sklar P., Ardlie K., Patil N. et al. Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. *Nature Genet.* 1999; 22: 231-238.

27. Castiglione C.M., Deinard A.S., Speed W.C., Sirugo G., Rosenbaum H.C., Zhang Y., Grandy D.K., Grigorenko E.L., Bonne-Tamir B., Pakstis A.J., Kidd J.R., Kidd K.K. Evolution of haplotypes at the DRD2 locus. *American Journal of Human Genetics* 1995; 57: 1445-1456.

28. Cavazzoni P.A., Berg P.H., Kryzhanovskaya L.A., Briggs S.D., Roddy

T.E., Tohen M., Kane J.M. Comparison of treatment-emergent extrapyramidal symptoms in patients with bipolar mania or schizophrenia during olanzapine clinical trials. *J. Clin. Psychiatry* 2006; 67(1):107-13.

29. Chen C-H., Wei F-C., Koong F-J., Hsiao K-J. Association of TaqIA polymorphism of Dopamine D2 Receptor Gene and tardive dyskinesia in schizophrenia. *Biological Psychiatry* 1997; 41: 827-829.

30. Collier D.A., Li T. The genetics of schizophrenia: glutamate not dopamine? *European Journal of Pharmacology* 2003; 480:177-184.

31. Comings D.E., Muhleman D., Ahn C., Gysin R., Flanagan S.D. The dopamine D2 receptor gene: A genetic risk factor in substance abuse. *Drug Alcohol Depend.* 1994; 34:175-180.

32. Craddock N., Jones I. Molecular genetics of bipolar disorder. *British Journal of Psychiatry* 2001; 178 (suppl 41):s128-s133.

33. Crocq M.A., Mant R., Asherson P., Williams J., Hode Y., Mayerova A., Collier D., Lannfelt L., Sokoloff P., Schwartz J.C. Association between schizophrenia and homozygosity at the dopamine D3 receptor gene. *J. Med. Genet.* 1992; 29(12):858-60.

34. Dahmen N., Müller M.J., Germeyer S., Rujescu D., Angheliescu I., Hiemke C., Wetzel H. Genetic polymorphisms of the dopamine D2 and D3 receptor and neuroleptic drug effects in schizophrenic patients. *Schizophrenia Research* 2001; 49: 223-229.

35. Dover G.A. Molecular drive in multigene families: how biological novelties arise, spread and are assimilated. *Trends Genet.* 1986; 2: 159-165.

36. Dubertret C., Gorwood P., Feingold J., Adès J., Schwartz J.C., Sokoloff P. Meta-analysis of DRD3 gene and schizophrenia: ethnic heterogeneity and significant

association in Caucasians. *Am. J. Med. Genet.* 1998; 81(4):318-22.

37. Dubertret C., Gorwood P., Gouya L., Deybach J.C., Adès J. Association and excess of transmission of a DRD2 haplotype in a sample of French schizophrenic patients. *Schizophrenia Research* 2001; 49(1):203-212.

38. Eichhammer P., Albus M., Borrmann-Hassenbach M., Schoeler A., Putzhammer A., Frick U., Klein H.E., Rohrmeier T. Association of D3-receptor gene variants with neuroleptic induced akathisia in schizophrenic patients: a generalization of Steen's study on DRD3 and tardive dyskinesia. *Am. J. Med. Genet.* 2000; 96(2):187-91.

39. Elsworth J.D. and Roth R.H. Dopamine synthesis, uptake, metabolism, and receptors: relevance to gene therapy of Parkinson's disease. *Experimental Neurology* 1997; 144: 4-9.

40. Elvidge G., Jones I., McCandless F., Asherson P., Owen M.J., Craddock N. Allelic variation of a BAlI polymorphism in the DRD3 gene does not influence susceptibility to bipolar disorder: Results of analysis and meta-analysis. *Am. J. Med. Genet* 2001; 105:307-311

41. Fan J-B., Zhang C-S., Gu N-F., Li X-W., Sun W-W., Wang H-Y., et al. Catechol- O-methyltransferase gene Val/Met functional polymorphism and risk of schizophrenia; a large scale association study plus meta analysis. *Biol. Psychiatry* 2005; 57:139-144.

42. Flórez J. y Pazos A. Neurotransmisión en el sistema nervioso central. En: *Farmacología Humana*, Flórez J, Armijo JA, Mediavilla A. Ed Masson 4ª edición, Barcelona 2003, pp 435-460.

43. Freedman R. Schizophrenia. *N Engl J Med* 2003; 349: 1738-49.

44. Fuke S., Sasagawa N., Ishiura S. Identification and characterization of

the Hesr1/Hey1 as a candidate trans-acting factor on gene expression through the 3' non-coding polymorphic region of the human dopamine transporter (DAT1) gene. *J. Biochem.* 2005; 137(2):205-216.

45. Fuke S., Suo S., Takahashi N., Koike H., Sasagawa N., Ishiura S. The VNTR polymorphism of the human dopamine transporter (DAT1) gene affects gene expression. *Pharmacogenomics J.* 2001; 1:152-156.

46. Gamma F., Faraone S.V., Glatt S.J., Yeh Y.C., Tsuang M.T. Meta-analysis shows schizophrenia is not associated with the 40-base pair repeat polymorphism of the dopamine transporter gene. *Schizophrenia Res.* 2005; 73(1):55-58.

47. García Sevilla J.A., Pazos A. Receptores para neurotransmisores. Ediciones en Neurociencias 2003.

48. Georgieva L., Dimitrova A., Nikolov I., Koleva S., Tsvetkova R., Owen M.J., Toncheva D., Kirov G. Dopamine transporter (DAT1) VNTR polymorphism in major psychiatric disorders: family-based association study in the Bulgarian population. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 2002; 105: 396-399.

49. Giros B., Martres M.P., Sokoloff P., Schwartz J.C. Gene cloning of human dopaminergic D3 receptor and identification of its chromosome. *CR. Acad. Sci. III* 1990; 311(13):501-8.

50. Giros B., Mestikawy S., Godinot N., Zheng K., Han H., Yang-Feng T., Caron M.G. Cloning, pharmacological characterization, and chromosome assignment of the human dopamine transporter. *Molecular Pharmacology* 1992; 42: 383-390.

51. Gomez-Casero E., Perez de Castro I., Sáiz-Ruiz C., Llinares C., Fernández-Piqueras J. No association between particular DRD3 and DAT gene polymorphisms and manic-depressive illness in a Spanish sample. *Psychiatric Genet.* 1996; 6:209-212.

52. Grandy D.K, Zhang Y., Civelli O. PCR detection of the TaqA RFLP at the DRD2 locus. *Human Molecular Genetics* 1993; 2: 2197.
53. Grandy D.K., Marchionni M.A., Makam H., Stofko R.E., Alfano M., Frothingham L., Fischer J.B., Burke-Howie K.J., Bunzow J.R., Server A.C., Civelli O. Cloning of de cDNA and gene for a human D2 dopamine receptor. *PNAS* 1989; 86:9762-9766.
54. Gray R. and Gournay K. What can we do about acute extrapyramidal symptoms? *Journal of Psychiatric and Mental Health Nursing* 2000; 7:205-211.
55. Greenwood T.A., Alexander M., Keck P.E., McElroy S., Sadovnick A.D., Remick R.A., Kelsoe J.R. Evidence for linkage disequilibrium between the dopamine transporter and bipolar disorder. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* 2001; 105: 145-151.
56. Grunhage F., Schulze T.G., Muller D.J., Lanczik M., Franzek E., Albus M. et al. Systematic screening for DNA sequence variation in the coding region of the human dopamine transporter gene (DAT1). *Mol. Psychiatry* 2000; 5(3):275-282.
57. Halushka M.K., Fan J.B., Bentley K., Hsie L., Shen N., Weder A. et al. Patterns of single-nucleotide polymorphisms in candidate genes for blood-pressure homeostasis. *Nature Genet.* 1999; 22: 239-247.
58. Harrison P.J., Weinberger D.R. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Molecular Psychiatry* 2005; 10:40-68.
59. Hauge X.Y., Grandy D.K., Eubanks J.H., Evans G.A., Civelli O., Litt M. Detection and characterization of additional DNA polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene. *Genomics* 1991; 10:527-530.
60. Heinz A, Goldman D, Jones DW, Palmour R, Hommer D, Gorey JG, Lee

KS, Linnoila M, Weinberger DR. Genotype influences in vivo dopamine transporter availability in human striatum. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22: 133-139.

61. Hirvonen J., Van Erp T.G., Huttunen J., Aalto S., Narren K., Huttunen M., Lonnqvist J., Kaprio J., Hietala J., Cannon T.D. Increased caudate dopamine D2 receptor availability as a genetic marker for schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 2005; 62(4): 371-8.

62. Hoge S.K., Appelbaum PS, Lawlor T et al. A prospective multicenter study of patients' refusal of antipsychotic medication. *Archives of General Psychiatry* 1990; 47: 949-956.

63. Holmes A, Lachowicz J.E., Sibley D.R. Phenotypic analysis of dopamine receptor knockout mice; recent insights into the functional specificity of dopamine receptor subtypes. *Neuropharmacology* 2004; 47:1117-1134.

64. Hoogendoorn M.L., Bakker S.C., Scnack H.G., Selten J.P., Otten H.G., Verduijn W., et al. No association between 12 dopaminergic genes and schizophrenia in a large Dutch sample. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* 2005; 134(1):6-9.

65. Hsiao M.C., Lin K.J., Liu C.Y., Tzen K.Y., Yen T.C. Dopamine transporter change in drug-naïve schizophrenia; an imaging study with 99-m Tc-TRODAT-1. *Schizophr. Res.* 2003; 65(1):39-46.

66. Ilani T., Ben-Shachar D., Strous R.D., Mazor M., Sheinkman A., Kotler M., Fuchs S. A peripheral marker for schizophrenia: Increased levels of D3 dopamine receptor mRNA in blood lymphocytes. *PNAS* 2001; 98(2):625-628.

67. Inada T., Arinami T., Yagi G. Association between a polymorphism in the promoter region of the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia in Japanese subjects; replication and evaluation for antipsychotic related features. *Int. J. Neuropsychopharmacology* 1999; 2:181-186.

68. Inada T., Nakamura A. and Iijima Y. Relationship between catechol-O-methyltransferase polymorphism and treatment-resistant schizophrenia. *Am. J. Med. Genet. Part B (Neuropsychiatric Genetics)* 2003; 120B:35-39.
69. Inayama Y., Yoneda H., Sakai T., Ishida T., Nonomura Y., Kono Y. et al. Positive association between a DNA sequence variant in the serotonin 2A receptor gene and schizophrenia. *Am. J. Med. Genet.* 1996; 67:103-105.
70. Integrity, Prous Science (<http://integrity.prous.com>).
71. Jacobsen L.K., Staley J.K., Zoghbi S.S., Seibyl J.P., Kosten T.R., Innis R.B., Gelernter J. Prediction of dopamine transporter binding availability by genotype: a preliminary report. *Am. J. Psychiatry* 2000; 157(10): 1700-1703.
72. Jones H.M. and Pilowsky L.S. Dopamine and antipsychotic drug action revised. *British Journal of Psychiatry* 2002; 181:271-275.
73. Jönsson E.G., Flyckt L., Burgert E., Crocq M.A., Forslund K., Mattila-Evenden M., Rylander G., Asberg M., Nimgaonkar V.L., Edman G., Bjerkenstedt L., Wiesel F.A., Sedvall G.C. Dopamine D3 receptor gene Ser9Gly variant and schizophrenia: association study and meta-analysis. *Psychiatr. Genet.* 2003; 13(1):1-12.
74. Jönsson E.G., Nothen M.M., Neidt H., Forslund K., Rylander G., Mattila-Evenden M., Propping P., Sedvall G.C. Association between a promoter polymorphism in the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia. *Schizophrenia Research* 1999b; 40:31-36.
75. Jönsson E.G., Nothen M.M., Grunhage F., Farde L., Nakashima Y., Propping P., Sedvall G.C. Polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and their relationships to striatal dopamine receptor density of healthy volunteers. *Molecular Psychiatry* 1999a; 4:290-296.
76. Joover R., Toulouse A., Benkelfat C., Lal S., Bloom D., Labelle A.,

Lalonde P., Turecki G., Rouleau GA. DRD3 and DAT1 genes in schizophrenia: an association study. *Journal of Psychiatric Research* 2000; 34: 285-291.

77. Kaessmann H., Heissig F., Von Haseler A., Pääbo S. DNA sequence variation in a non-coding region of low recombination on the human X chromosome. *Nature Genet.* 1999; 22: 78-81.

78. Kaiser R., Treblay P.B., Klufmoller F., Roots I., Brockmoller J. Relationship between adverse effects of antipsychotic treatment and dopamine D2 receptor polymorphism in patients with schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 2002; 7:695-705.

79. Kalow W., Bertilsson I. Interethnic factors affecting drug response. *Advanc. Drug Res.* 1994; 23: 1-53.

80. Kane J.M. Pharmacologic treatment of schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 1999; 46:1396-1408.

81. Kapur S. and Remington G. Atypical Antipsychotics: New directions and new challenges in the treatment of schizophrenia. *Annu. Rev. Med.* 2001; 52:503-517.

82. Kapur S., Mamo D. Half a century of antipsychotics and still a central role for dopamine D2 receptors. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2003; 27:1081-1090.

83. Kapur S., Seeman P. Does fast dissociation from the dopamine D2 receptor explain the action of atypical antipsychotics?: A new hypothesis. *Am. J. Psychiatry* 2001; 158:360-369.

84. Kasper S., Tauscher J., Kufferle B., Barnas C., Pezawas L., Quiner S. Dopamine and serotonin-receptors in schizophrenia results of imaging-studies and implications for pharmacotherapy in schizophrenia. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 1999; 249 (suppl): 83-89.

85. Keikhaee M.R., Fadai F., Sargozaee M.R., Javanbakht A., Najmabadi H., Ohadi M. Association analysis of the dopamine transporter gene (DAT1) -67A/T polymorphism in bipolar disorder. *Am. J. Med. Genet. B (Neuropsychiatr. Genet.)* 2005; 135(1):47-9.
86. Kestler L.P., Walker E., Vega E.M. Dopamine receptors in the brains of schizophrenia patients: a meta-analysis of the findings. *Behav. Pharmacol.* 2001; 12(5): 355-71.
87. Khanna R., Das A., Damodaran S.S. Prospective study of neuroleptic-induced dystonia in mania and schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 1992; 149:511-513.
88. Khodayari N., Garshabi M., Fadai F., Rahimi A., Hafizi L., Ebrahimi A. et al. Association of the dopamine transporter gene (DAT1) core promoter polymorphism -67T variant with schizophrenia. *Am. J. Med. Genet. B (Neuropsychiatr. Genet.)* 2004; 129(1):10-12.
89. King M.C., Wilson A.C. Evolution at two levels in humans and chimpanzees. *Science* 1975; 188: 107-116.
90. Kirov G., O'Donovan M.C, and Owen M.J. Finding schizophrenia genes. *J. Clin. Invest.* 2005; 115(6):1440-1448.
91. Krausz M. Efficacy review of antipsychotics. *Current Medical Research and Opinion* 2002; 18: s8-12.
92. Kulisevsky J., Otermin P. Antipsicóticos y efectos extrapiramidales. *Neurología* 2003; 18(5): 262-268.
93. Laakso A., Bergman J., Haaparanta M., Vilkmán H., Solin O., Syvälahti E. et al. Decreased striatal dopamine transporter binding in vivo in chronic schizophrenia. *Schizophr. Res* 2001; 52(1-2):115-120.
94. Laakso A., Vilkmán H., Alakare B., Haaparanta M., Bergman J., Solin

O., Peurasaari J., Rökköläinen V., Syvälahti E., Hietala J. Striatal dopamine transporter binding in neuroleptic-naïve patients with schizophrenia studied with positron emission tomography. *Am. J. Psychiatry* 2000; 157(2):269-271.

95. Labelle A., Light M., Dunbar F. Risperidone treatment of outpatients with schizophrenia: no evidence of sex differences in treatment response. *Can. J. Psychiatry*. 2001; 46(6):534-41.

96. Lafuente M.J., Casterad X., Trias M., Ascaso C., Molina R., Ballesta A., et al. NAD(P)H:quinone oxidoreductase-dependent risk for colorectal cancer and its association with the presence of K-ras mutations in tumors. *Carcinogenesis* 2000; 21: 1813-1819.

97. Lai I-C., Wang Y-C., Lin C-C., Bai Y-M., Liao D-L., Yu S-C., Lin C-Y., Chen J-Y., Liou Y-J. Negative association between Catechol-O-methyltransferase (COMT) gene Val158Met polymorphism and persistent tardive dyskinesia in schizophrenia. *J. Neural. Transm.* 2004; 112:1107-1113.

98. Lane H-Y., Chang W-H., Chang Y-C., Hu O.Y-P., Lin H-N., Jann M.W., Hu W-H. Dose-dependent reduced haloperidol/haloperidol ratios: influence of patient-related variables. *Psychiatry Research* 1997; 72:127-132.

99. Lannfelt L., Sokoloff P., Martres M.P., Pilon C., Giros B., Jonsson E., Sedvall G., Schwartz J.C. Amino acid substitution in the dopamine D3 receptor as a useful polymorphism for investigating psychiatric disorders. *Psychiatry Genet.* 1992; 2:249-256.

100. Laurelle M., Gelernter J., Innis R. D2 receptors binding potential is not affected by Taq1 polymorphism at the D2 receptor gene. *Mol. Psychiatry.* 1998; 3(3):261-5.

101. Lerer B., Segman R.H., Fangerau H., Daly A.K., Basile V.S., Cavallaro

R., Aschauer H.N. et al. Pharmacogenetics of tardive dyskinesia: combined analysis of 780 patients supports association with dopamine D3 receptor gene Ser9Gly polymorphism. *Neuropsychopharmacology* 2002; 27(1):105-119.

102. Leriche L., Diaz J., Sokoloff P. Dopamine and glutamate dysfunctions in schizophrenia: role of the dopamine D3 receptor. *Neurotox. Res.* 2004; 6(1):63-71.

103. Lesko L.J., Woodcock J. Pharmacogenomic-guided drug development: regulatory perspective. *The Pharmacogenomics Journal* 2002; 2:20-24.

104. Leszczynska-Rodziewicz A., Hauser J., Dmitrzak-Weglarz M., Skibinska M., Czerski P., Zakrzewska M., Kosmowska M., Rybakowski J. Lack of association between polymorphisms of dopamine receptors, type D2, and bipolar affective illness in a Polish population. *Med. Sci. Monit.* 2005; 11(6):CR289-295.

105. Leucht S., Pitschel-Walz G., Abraham D., Kissling W. Efficacy and extrapyramidal side-effects of the new antipsychotics olanzapine, quetiapine, risperidone, and sertindole compared to conventional antipsychotics and placebo. A meta-analysis of randomized controlled trials. *Schizophrenia Res.* 1999; 35:51-68.

106. Lewis R. Typical and atypical antipsychotics in adolescent schizophrenia: efficacy, tolerability, and differential sensitivity to extrapyramidal symptoms. *Can. J. Psychiatry* 1998; 43:596-604.

107. Li T., Arranz M., Aitchison K.J., Bryant C., Liu X., Kerwin R.W. et al. Case-control, haplotype relative risk and transmission disequilibrium analysis of a dopamine D2 receptor functional promoter polymorphism in schizophrenia. *Schizophrenia Res.* 1998; 32:87-92.

108. Li T., Liu X., Sham P.C., Aitchison K.J., Cai G., Arranz M., et al. Association analysis between dopamine receptor genes and bipolar affective disorder. *Psychiatry Res.* 1999; 86(3):193-201.

109. Lotta T., Vidgren J., Tilgmann C., Ulmanen I., Melen K., Julkunen I. et al. Kinetics of human soluble and membrane bound catechol-O-methyltransferase; a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry* 1995; 34:4202-4210.
110. Lynch D.R., Mozley P.D., Sokol S., Maas N.M., Balcer L.J., Siderowf A.D. Lack of effect of polymorphism in dopamine metabolism related genes on imaging of TRODAT-1 in striatum of asymptomatic volunteers and patients with Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 2003; 18(7):804-812.
111. Maier W., Hofgen B., Zobel A., Rietschel M. Genetic models of schizophrenia and bipolar disorder: overlapping inheritance or discrete genotypes? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2005; 255(3):159-66.
112. Malhotra A.K., Murphy G.M., Kennedy J.L. Pharmacogenetics of psychotropic drug response. *Am. J. Psychiatry* 2004; 161:780-796.
113. Manning J.S., Connor P.D., Sahai A. The Bipolar Spectrum. *Arch. Fam. Med.* 1998; 7: 63-71.
114. Marshall V., Grosset D. Role of dopamine transporter imaging in routine clinical practice. *Movement Disorders* 2003; 18(12):1415-1423.
115. Martin Dale. Sistema nervioso central: Otros neurotransmisores y neuromoduladores: Dopamina. En: *Farmacología*. Ed Harcourt, 4ª edición, Barcelona 2000, pp 517-535.
116. Martinez D., Gelernter J., Abi-Dargham A., van Dyck C.H., Kegeles L., Innis R.B., Laruelle M. The variable number of tandem repeats polymorphism of the dopamine transporter gene is not associated with significant change in dopamine transporter phenotype in humans. *Neuropsychopharmacology* 2001; 24 (5): 553-560.
117. Mateos J.J., Lomeña F., Parellada E., Font M., Fernandez E., Pavia J.,

Prats A., Pons F., Bernardo M. Decreased striatal dopamine transporter binding assessed with [123I] FP-CIT in first-episode schizophrenic patients with and without short-term antipsychotic-induced Parkinson. *Psychopharmacology* 2005; 181:401-406.

118. McIntyre R.S., Brecher M., Paulsson B., Huizar K., Mullen J. Quetiapine or haloperidol as monotherapy for bipolar mania--a 12-week, double-blind, randomised, parallel-group, placebo-controlled trial. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2005; 15(5):573-85.

119. McKenna F., McLaughlin P.J., Lewis B.J., Sibbring G.C., Cummerson J.A., Bowen-Jones D., Moots R.J. Dopamine receptors expression on human T- and B-lymphocytes, monocytes, neutrophils, eosinophils and NK cells: A flow cytometric study. *J. Neuroimmunol* 2002; 132:34-40.

120. McLeod H.L., Evans W.E. Pharmacogenomics: unlocking the human genome for better drug therapy. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol* 2001; 41: 101-121.

121. Medline Plus Enciclopedia Médica. U.S. Nacional Library of Medicine and Nacional Institudes of Health.

122. Meszaros K., Lenzinger E., Hornik K., Fureder T., Stompe T., Willinger U., Heiden A., Fathi N., Gerhard E., Fuchs K., Sieghart W., Kasper S., Aschauer H.N. Association study of schizophrenia spectrum disorders and dopamine D3 receptor gene: is schizoaffective disorder special? *Psychiatry Res.* 2000; 96(2):179-83.

123. Michelhaugh S.K., Fiskerstrand C., Lovejoy E., Bannon M.J., Quinn J.P. The dopamine transporter gene (SLC6A3) variable number of tandem repeats domain enhances transcription in dopamine neurons. *J. Neurochem.* 2001; 79:1033-1038.

124. Mihara K., Kondo T., Suzuki A., Yasui N., Ono S., Otani K., Kaneko S. No relationship between -141C Ins/Del polymorphism in the promoter region of dopamine D2 receptor and extrapyramidal adverse effects of selective dopamine D2

antagonists in schizophrenic patients: a preliminary study. *Psychiatry Research* 2001; 101:33-38.

125. Mihara K., Suzuki A., Kondo T., Nagashima U., Ono S., Otani K., Kaneko S. No relationship between Taq1A polymorphism of dopamine D2 receptor gene and extrapyramidal adverse effects of selective dopamine D2 antagonists, bromperidol, and nemonapride in schizophrenia: A preliminary study. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* 2000; 96:422-424.

126. Miller G.M., Madras B.K. Polymorphism in the 3'-untranslated region of human and monkey dopamine transporter genes affect reporter gene expression. *Mol. Psychiatry* 2002; 7:44-55.

127. Miyamoto S., LaMantia A.S., Duncan G.E., Sullivan P., Gilmore J.H., Lieberman J.A. Recent advances in the neurobiology of schizophrenia. *Molecular interventions* 2003; 3 (1): 27-39.

128. Mortimer A.M. Novel antipsychotics in schizophrenia. *Expert Opin. Investig. Drugs* 2004; 13(4):315-329.

129. Nakamura Y, Koyama K, Matsushima M. VNTR (variable number of tandem repeat) sequences as transcriptional, translational, or functional regulators. *Journal of Human Genetics* 1998; 43:149-152.

130. Nakazono Y., Abe H., Murakami H., Koyabu N., Isaka Y., Nemoto Y., Murata S., Tsutsumi Y., Ohtani H., Sawada Y. Association between neuroleptic drug-induced extrapyramidal symptoms and dopamine D2 receptor polymorphisms in Japanese schizophrenic patients. *Int. J. Clin. Pharmacol. Therapeutics* 2005; 43:163-171

131. National Institute of Mental Health. *Bipolar Disorder*. National Institute of Mental Health; Bethesda (MD) 2001.

132. Nebert D.W. Suggestions for the nomenclature of human alleles:

relevance to ecogenetics, pharmacogenetics and molecular epidemiology. *Pharmacogenetics*, 2000; 10: 279-290.

133. Nebert D.W., Ingelham-Sundberg M., Daly A.K. Genetic epidemiology of environmental toxicity and cancer susceptibility: human allelic polymorphisms in drug-metabolizing enzyme genes, their functional importance, and nomenclature issues. *Drug Metab. Rev.* 1999; 31: 467-487.

134. Nelson D.R. Cytochrome p450 and the individuality of species. *Arch. Biochem. Biophys.* 1999; 369: 1-10.

135. Nelson D.R. Cytochrome p450 gene superfamily [web site], 2000: <http://drnelson.utmem.edu/cytochromep450.html/>

136. Noble E.P, Jeor ST, Ritchie T, Syndulko K, Jeor SC, Fitch RJ, Brunner RL, Sparkes RS. D2 Dopamine receptor gene and cigarette smoking: a reward gene? *Medical Hypotheses* 1994; 42: 257-260.

137. Noble E.P. D2 Dopamine receptor gene in psychiatric and neurologic disorders and its phenotypes. *American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)* 2003; 116B:103-125.

138. Noble E.P., Blum K., Ritchie T., Montgomery A., Sheridan P.J. Allelic association of the D2 dopamine receptor gene with receptor-binding characteristics in alcoholism. *Arch. Gen. Psychiatry* 1991; 48:648-654.

139. Oestreicher, P. Genaissance pharmaceuticals, inc. *Pharmacogenomics* 2002; 3(2): 273-6.

140. Ohara K., Nagai M., Tani K., Nakamura Y., Ino A., Ohara K. Functional polymorphism of -141C Ins/Del in the dopamine D2 receptor gene promoter and schizophrenia. *Psychiatry Research* 1998; 81:117-123.

141. Ohara K., Nakamura Y., Xie D-W., Ishigaki T., Deng Z-L., Tani K.,

Zhang H-Y., Kondo N., Liu J-C., Miyasato K., Ohara K. Polymorphisms of dopamine D2-like (D2, D3, and D4) receptors in schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 1996; 40:1209-1217.

142. Ossowska K. Neuronal basis of neuroleptic-induced extrapyramidal side effects. *Polish Journal of Pharmacology* 2002; 54:299-312.

143. Owen M.J., Craddock N. and O'Donovan M.C. Schizophrenia: genes at last? *Trends in Genetics* 2005; 21(9): 518-525.

144. Pani L. Clinical Implications of dopamine research in schizophrenia. *Current Medical Research and opinion* 2002; 18 (S3): s3-7.

145. Parsian A., Chakraverty S., Tood R.D. Possible association between the dopamine D3 receptor gene and bipolar affective disorder. *Am. J. Med. Genet.* 1995; 60(3):234-7.

146. Pearlson G.D., Wong D.F., Tune L.E., Ross C.A., Chase G.A., Links J.M., Dannals R.F., Wilson A.A., Ravert H.T., Wagner H.N. Jr, et al. In vivo D2 dopamine receptor density in psychotic and nonpsychotic patients with bipolar disorder. *Arch. Gen. Psychiatry.* 1995; 52(6):471-7.

147. Persico A.M. and Catalano M. Lack of association between dopamine transporter gene polymorphisms and delusional disorder. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* 1998; 81:163-165.

148. Persico A.M. and Macciardi F. Genotypic association between dopamine transporter gene polymorphisms and schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* 1997; 74: 53-57.

149. Pohjalainen T., Nagren K., Syvalahti E.K., Hietala J. The dopamine D2 receptor 5'-flanking variant, -141C Ins/Del, is not associated with reduced dopamine D2 receptor density in vivo. *Pharmacogenetics* 1999; 9:505-509.

150. Pohjalainen T., Rinne J.O., Nagren K., Lehtikainen P., Anttila K., Syvalahti E.K., Hietala J. The A1 allele of the human D2 dopamine receptor gene predicts low D2 receptor availability in healthy volunteers. *Molecular Psychiatry* 1998; 3: 256-260.
151. Prasad S., Semwal P., Deshpande S., Bhatia T., Nimgaonkar V.L. and TELAM B.K. Molecular genetics of schizophrenia: past, present and future. *J. Biosci.* 2002; 27(1, S1): 35-52.
152. Preziosi P. Science, pharmacoeconomics and ethics in drug R&D: a sustainable future scenario? *Nature Reviews* 2004; 3:521-526.
153. Roses A.D. Genome-based pharmacogenetics and the pharmaceutical industry. *Nature Reviews* 2002; 1:541-549.
154. Roses A.D. Pharmacogenetics. *Human Molecular Genetics* 2001; 10(20):2261-2267.
155. Ross D.E. Clozapine and typical antipsychotics. *Am. J. Psychiatry* 2004; 161:10.
156. Rossing M.A. Genetic influences on smoking: Candidate Genes. *Environmental Health Perspectives* 1998; 106(5):231-238.
157. Sachidanandam R., Weissman D., Schmidt S.C., Kakol J.M., Stein L.D. et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 2001; 409:928-933.
158. Sawa A. and Snyder S.H. Schizophrenia: Diverse approaches to a complex disease. *Science* 2002; 296: 692-695.
159. Sawa A. and Snyder S.H. Schizophrenia: Neural mechanisms for novel therapies. *Molecular Medicine* 2003
160. Schmith V.D., Campbell D.A., Schgal S., Anderson W.H., Burns D.K.,

Middicton L.T., Roses A.D. Pharmacogenetics and disease genetics of complex diseases. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2003; 60:1636-1646.

161. Schork N.J., Fallin D., Lanchbury S. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. *Clin. Genet.* 2000; 58:250-264.

162. Schwartz J.C., Díaz J., Pilon C., Sokoloff P. Possible implications of the dopamine D3 receptor in schizophrenia and in antipsychotic drug actions. *Brain Research Reviews* 2000; 31:277-287.

163. Scmitt G.J., Meisenzahl E.M., Frodl T., La Fougere C., Hahn K., Moller H.J. et al. The striatal dopamine transporter in first-episode, drug naïve schizophrenia patients; evaluation by the new SPECT-ligand [99mTc]TRODAT-1. *J. Psychopharmacol.* 2005; 19(5):488-493.

164. Scordo M.G., Spina E., Romeo P., Dahl M-L., Bertilsson L., Johanson I., Sjöqvist, F. CYP2D6 genotype and antipsychotic-induced extrapyramidal side effects in schizophrenic patients. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2000; 56:679-683.

165. Seeman P. and Niznik H.B. Dopamine receptors and transporters in Parkinson's disease and schizophrenia. *FASEB* 1990; 4: 2737-2744.

166. Seeman P. Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Synapse* 1987; 1:133-152.

167. Seeman P., Lee T., Chau Wong M., Wong K. Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. *Nature* 1976; 261:717-719.

168. Segman R.H., Goltser T., Heresco-Levy U., Finkel B., Shalem R., Schlafman M., Yakir A., Greenberg D., Strous R., Lerner A., Shelevoy A., Lerer B. Association of dopaminergic and serotonergic genes with tardive dyskinesia in patients with chronic schizophrenia. *The Pharmacogenomics Journal* 2003; 3:277-283.

169. Shaikh S., Ball D., Craddock N., Castle D., Hunt N., Mant R., Owen M.,

Collier D., Gill M. The dopamine D3 receptor gene: no association with bipolar affective disorder. *J. Med. Genet.* 1993; 30(4):308-9.

170. Shaikh S., Collier D.A., Sham P.C., Ball D., Aitchison K., Vallada H., Smith I., Gill M., Kerwin R.W. Allelic association between a Ser-9-Gly polymorphism in the dopamine D3 receptor gene and schizophrenia. *Hum. Genet.* 1996; 97:714-719.

171. Shapiro J.A. Genome system architecture and natural genetic engineering in evolution. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1999; 870: 23-35.

172. Shilatifard A. Factors regulating the transcriptional elongation activity of RNA polymerase II. *FASEB J.* 1998; 12: 1437-1446.

173. Silvestri S., Seeman M.V., Negrete J-C., Houle S., Shammi C.M., Remington G.J., Kapur S., Zipursky R.B., Wilson A.A., Christensen B.K., Seeman P. Increased dopamine D2 receptor binding after long-term treatment with antipsychotics in humans: a clinical PET study. *Psychopharmacology* 2000; 152 (2):174-180.

174. Simpon G.N, Angus J.W.S. A rating scale for extrapyramidal side effects. *Acta Psychiatr. Scand.* 1970; 212(suppl 44):11-19.

175. Sjöholm H., Bratlid T., Sundsfjord J. 123I-beta-CIT SPECT demonstrates increased presynaptic dopamine transporter binding sites in basal ganglia in vivo in schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl.)* 2004; 173(1-2):27-31.

176. Spitz M.R., Shi H., Yang F., Hudmon K.S., Jiang H., Chamberlain R.M., Amos C.I., Wan Y., Cinciripini P., Hong W.K., Wu X. Case-control study of the D2 dopamine receptor gene and smoking status in lung cancer patients. *Journal of the National Cancer Institute* 1998; 90 (5): 358-363.

177. Staddon S., Arranz M.J., Mancama D., Perez-Nievas F., Arrizabalaga I., Anney R., Buckland P., Elkin A., Osborne S., Munro J., Mata I., Kerwin R.W. Association between dopamine D3 receptor gene polymorphisms and schizophrenia in

an isolate population. *Schizophr. Res.* 2005; 73(1):49-54.

178. Steen V.M., Lovlie R., McEwan T., CcCreadie R.G. Dopamine D3 receptor gene variant and susceptibility to tardive dyskinesia in schizophrenic patients. *Mol. Psychiatry* 1997; 2:139-145.

179. Strange P.G. Dopamine receptors. *Tocris Reviews* 2000; No.15.

180. Sukuki M., Hurd Y.L., Sokoloff P., Schwartz J-C., Sedvall G. D3 dopamine receptor mRNA is widely expressed in the human brain. *Brain Research* 1998; 779:58-74.

181. Szekeres G., Kéri S., Juhász A., Rimanóczy A., Szendi I., Czimmer C., Janka Z. Role of dopamine D3 receptor (DRD3) and dopamine transporter (DAT) polymorphism in cognitive dysfunctions and therapeutic response to atypical antipsychotics in patients with schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* 2004; 124B:1-5.

182. Tan E-C., Chong S-A., Mahendran R., Dong F., Tan C.H. Susceptibility to neuroleptic-induced tardive dyskinesia and the T102C polymorphism in the serotonin type 2A receptor. *Biol. Psychiatry* 2001; 50:144-7.

183. Tauscher J., Küfferle B., Asenbaum S., Tauscher-Wisniewski S., Kasper S. Striatal dopamine-2 receptor occupancy as measured with [123I]iodobenzamide and SPECT predicted the occurrence of EPS in patients treated with atypical antipsychotics and haloperidol. *Psychopharmacology* 2002; 162:42-49.

184. Thompson J., Thomas N., Singleton A., Piggott M., Lloyd S., Perry E.K. et al. D2 dopamine receptor gene (DRD2) TaqIA polymorphism: reduced dopamine D2 receptor binding in the human striatum associated with the A1 allele. *Pharmacogenetics* 1997; 7:479-484.

185. Tribut O., Lessard Y., Reymann J-M., Allain H., Bentué-Ferrer D.

Pharmacogenomics. *Med. Sci. Monit.* 2002; 8(7):RA152-163.

186. Turner T. ABC of mental health: Schizophrenia. *BMJ* 1997; 315:108-111.

187. Van Dyck C.H., Malison R.T., Jacobsen L.K., Seibyl J.P., Staley J.K., Laruelle M. et al. Increased dopamine transporter availability associated with the 9-repeat allele of the SLC6A3 gene. *J. Nucl. Med.* 2005; 46(5):745-751.

188. Van Harten P.N., Hoek H.W., Kahn R.S. Acute dystonia induced by drug treatment. *BMJ* 1999; 319:623-6.

189. Vandenberg D.J., Persico A.M., Hawkins A.L., Griffin C.A., Li X., Jabs E.W., Uhl G.R. Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. *Genomics* 1992; 14: 1104-6.

190. Vesell E.S. Advances in pharmacogenetics and pharmacogenomics. *J. Clin. Pharmacol.* 2000; 40: 930-938.

191. Vogel F. Modern problems of human genetics. *Ergeb InnMed, Kinderheilkd* 1959; 12: 52-125.

192. Vogel M., Pfeifer S., Schaub R.T., Grabe H.-J., Barnow S., Freyberger H.J., Cascorbi I. Decreased levels of dopamine D3 receptor mRNA in schizophrenic and bipolar patients. *Neuropsychobiology* 2004; 50:305-310.

193. Volkow N.D., Gur R.C., Wang G.J., Fowler J.S., Moberg P.J., Ding Y.S., Hitzemann R., Smith G., Logan J. Association between decline in brain dopamine activity with age and cognitive and motor impairment in healthy individuals. *Am. J. Psychiatry* 1998; 155(3):344-9.

194. Walker E., Kestler L., Bollini A. and Hochman K.M. Schizophrenia: Etiology and course. *Annu. Rev. Psicol.* 2004; 55: 401-30.

195. Wang D.G., Fan J.B., Slao C.J., Berno A., Young P., Sapolsky R. et al.

Large scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science* 1998; 280: 1077-1082.

196. Wilffert B., Zaal R., Brouwers J. Pharmacogenetics as a tool in the therapy of schizophrenia. *Pharm. World Sci.* 2005; 27:20-30.

197. Wise R.A. Neurobiology of addiction. *Current Opinion in Neurobiology* 1996; 6: 243-251.

198. Wong A.H.C., Bucle C.E., Van Tol H.H.M. Polymorphisms in dopamine receptors: what do they tell us? *European Journal of Pharmacology* 2000; 410:183-203.

199. Woods S.W. Chlorpromazine equivalent doses for the newer antipsychotics. *J. Clin. Psychiatry* 2003; 64:663-667.

200. World Health Organization. ICD-10: Mental and behavioural disorders (chapter V). WHO 2003.

201. World Health Organization. Schizophrenia and public health. 1998.

202. Yamanouchi Y., Iwata N., Suzuki T., Kitajima T., Ikeda M., Ozaki N. Effect of DRD2, 5-HT2A, and COMT genes on antipsychotic response to risperidone. *The Pharmacogenomics Journal* 2003; 3:356-361.

203. Yarnell W.S., Roberts J.W. Mechanism of intrinsic transcription termination and antitermination. *Science* 1999; 284: 6112-615.

204. Yoder K.K., Hutchins G.D., Morris E.D., Brashear A., Wang C., Shekhar A. Dopamine transporter density in schizophrenic subjects with and without tardive dyskinesia. *Schizophr. Res.* 2004; 71(2-3):371-379.

205. Yoshimasu K. and Kiyohara C. Genetic influences on smoking behavior and nicotine dependence: a review. *J. Epidemiol.* 2003; 13:183-192.

206. Zalsman G., Frisch A., Lev-Ran S., Martin A., Michaelovsky E., Bensason D., Gothelf D., Nahshoni E., Tyano S., Weizman A. DRD4 exon III

polymorphism and response to risperidone in Israeli adolescents with schizophrenia: a pilot pharmacogenetic study. European Neuropsychopharmacology 2003; 13:183-185.

Índice de páginas web consultadas para la elaboración de figuras:

<http://www.unifr.ch> (Universidad de Friburgo)

<http://www.iladiba.com> (Revista Lationoamericana Virtual de Psiquiatría)

<http://es.wikipedia.org> (Wikipedia Enciclopedia)

- ANEXOS -

ANEXO 1: Criterio DSM-IV

Las **Tablas A y B** muestran los criterios diagnósticos DSM-IV para la esquizofrenia y el trastorno bipolar, respectivamente. En resumen, para el diagnóstico de la esquizofrenia se tienen en cuenta signos y síntomas característicos que deben estar presentes durante un cierto periodo de tiempo, además de otros criterios. Para el diagnóstico del trastorno bipolar, básicamente se tienen en cuenta los episodios maníacos, hipomaníacos, depresivos y mixtos que experimentan los pacientes (el criterio DSM-IV proporciona pautas de cómo diagnosticar cada uno de dichos episodios).

Tabla A. DSM-IV-TR Criterio diagnóstico para esquizofrenia (APA 2000)

- A. *Síntomas característicos*: dos (o más) de los siguientes, presentes durante un mes (o menos si el tratamiento es efectivo):
1. delirios
 2. alucinaciones
 3. lenguaje desorganizado
 4. conducta catatónica y desorganizada
 5. síntomas negativos como carencias afectivas o alogia.
- Sólo es necesario uno de los anteriores criterios en caso de ideas delirantes extrañas o alucinaciones en forma de voces.
- B. *Disfunción social/ocupacional*: una o más áreas como trabajo, relaciones interpersonales o aseo diario, están significativamente por debajo del nivel adquirido antes de la aparición de la enfermedad (si la aparición se da en la adolescencia, no se logra adquirir el nivel esperado en áreas interpersonales, académicas u ocupacionales).
- C. *Duración*: las alteraciones persisten durante al menos seis meses. Este periodo debe incluir por lo menos un mes de síntomas mencionados en los criterios A y periodos de síntomas prodrómicos o residuales, en los signos se manifiestan únicamente con síntomas negativos o con 2 o más de los síntomas mencionados en los criterios A de forma más atenuada.
- D. *Exclusión del trastorno esquizoafectivo y de trastornos de la personalidad* debido a que no se dan episodios maníacos depresivos importantes al mismo tiempo que la fase activa de los síntomas.
- E. Las alteraciones no son causadas directamente por los efectos de una sustancia (droga de abuso o medicación), ni por ninguna condición médica.
- F. La existencia de un trastorno de los sentidos, hace que para el diagnóstico de esquizofrenia deban estar presentes alucinaciones o delirios al menos durante un mes.
- G. *Clasificación del curso longitudinal* (sólo se puede aplicar después de al menos un año desde el inicio de la fase activa de los síntomas):
- Episódico con episodios de síntomas residuales
 - Episódico sin episodios de síntomas residuales
 - Continuo
 - Episodio único en remisión parcial
 - Episodio único en remisión total o con patrón inespecífico
-

Tabla B. Resumen de los criterios para los síntomas maníacos y depresivos según DSM-IV-TR (APA 2000).

Trastorno	Criterio para síntomas maníacos	Criterio para síntomas depresivos
Depresión mayor	No historia de manía o hipomanía	Historia de episodios de depresión mayor (únicos o recurrentes)
Trastorno distímico	No historia de manía o hipomanía	Depresión durante dos o más años (sin episodios de depresión mayor)
Trastorno bipolar I	Historia de manía o episodios mixtos	Episodios de depresión mayor, aunque no requeridos para el diagnóstico
Trastorno bipolar II	Uno o más episodios de hipomanía; sin episodios maníacos o mixtos	Historia de episodios de depresión mayor
Trastorno ciclotímico	Numerosos periodos con síntomas hipomaníacos durante al menos dos años	Numeroso periodos con síntomas depresivos que no cumplen criterio de depresión mayor
Trastorno bipolar no espec. de otra manera	Síntomas maníacos (no clasificados como bipolar I, II o ciclotimia)	No requerido para el diagnóstico

ANEXO 2: Escala Simpon-Angus

Esta escala evalúa diez efectos secundarios y es un instrumento para valorar la presencia y severidad de la sintomatología parkinsoniana. Los efectos evaluados se basan en la rigidez: la forma de andar, la caída de los brazos tras elevarlos, la rigidez de hombros, codos y muñecas, el movimiento pendulante de las piernas, el movimiento de la cabeza, el parpadeo, el temblor y la salivación. Cada efecto fue puntuado en una escala de 0-4 según su severidad (*Simpon G.N. 1970*).