

IV. Biología molecular y psiquiatría. Mapeo genético del trastorno obsesivo compulsivo

Humberto Nicolini

Departamento de Genética Psiquiátrica, Instituto Mexicano de Psiquiatría. Calzada México-Xochimilco No. 101, San Lorenzo Huipulco, México, D.F., C.P. 14370

(Recibido, diciembre 15, 1992; aceptado, febrero 2, 1993)

Resumen

En este trabajo se describe el estado actual de la biología molecular y la psiquiatría y se menciona el desarrollo de esta área en nuestro país. También se presentan los resultados de un estudio familiar y de enlace génico para el trastorno obsesivo compulsivo (TOC). En el estudio familiar se encontró una frecuencia mayor del padecimiento en los familiares de primer grado de probandos con TOC, lo mismo que la agregación en estas familias de otros padecimientos relacionados con el TOC, como los tics y el trastorno obsesivo-compulsivo de la personalidad. El análisis de linkage mostró evidencia sugestiva de enlace entre el TOC y un marcador en el cromosoma 4.

Palabras clave: Biología molecular-Psiquiatría-Obsesivo compulsivo

Summary

This study reports several genetic analyses for obsessive-compulsive disorder (OCD). In a family study, we found an increased frequency of OCD, tics, and obsessive-compulsive personality disorders in first degree relatives of OCD probands. Segregation analysis revealed that the disease is transmitted as a dominant disorder with an 80% penetrance. Linkage analysis suggested linkage between OCD and a marker on chromosome 4.

Key words: Molecular biology-Psychiatry-Obsessive-compulsive disorder

Introducción

La biología molecular en psiquiatría ha abierto un nuevo camino para tratar de desentrañar la etiología bioquímica-molecular de las enfermedades mentales por medio de la localización cromosómica de los genes causantes de subtipos "puramente genéticos". Una de las herramientas metodológicas fundamentales para la localización de los genes han sido los estudios de enlace génico ("linkage"). Estos son una mezcla de clínica taxonómica, epidemiología genética y biología molecular. Los diversos estudios de familias, de gemelos y de adopción han proporcionado evidencias de una base genética en algunas enfermedades mentales¹. Los resultados provenientes de los estudios de segregación apoyan la presencia, en algunas familias, de genes con un efecto fundamental en la susceptibilidad a estos trastornos^{2,3}. Por otro lado, la presencia de alteraciones cromosómicas, que se presentan concomitantemente con algunos trastornos

psiquiátricos, han dado muy buenas pistas en cuanto a cuáles pudieran ser los sitios más probables en donde se debe empezar la búsqueda de los genes en cuestión, como es el caso para la esquizofrenia y el cromosoma 5, o bien la enfermedad de Alzheimer en el cromosoma 21^{4,5}.

La idea fundamental de los estudios de linkage es la de analizar la cosegregación de una enfermedad con un marcador polimórfico. La evidencia estadística del enlace génico es el índice "lod"⁶.

El Comité del Mapeo del Genoma Humano ha establecido ciertos requisitos que tienen que ser cubiertos para poder asignar un locus determinado a un gen éstos son: la evidencia significativa de enlace ($\text{lod} > 3$) y la replicación de este resultado por dos laboratorios distintos y de manera independiente⁷.

En 1987 el grupo de Egeland⁸ publicó un estudio en el que describieron enlace génico (linkage) entre el supuesto gen del trastorno bipolar y dos marcadores de ADN (el gen de la insulina "INS" y un oncogen "HRAS"), ambos en el brazo corto del cromosoma 11. Aparte de este importante hallazgo, con este estudio se inició propiamente la Genética Molecular Psiquiátrica. Sin embargo, al mismo tiempo se publicó un estudio en otras familias de bipolares, realizado por Hodgkinson y colaboradores en Europa⁹ y Detera-Wadleigh¹⁰ en el Instituto Nacional de Salud Mental en los E.E.U.U. (NIMH), donde no se replicaron estos resultados, utilizando los mismos marcadores polimórficos de ADN. Estos resultados opuestos se interpretaron como heterogeneidad genética, en la que enfermedades fenotípicamente iguales son causadas por diferentes mutaciones. Dos años más tarde, Kelsoe y colaboradores¹¹ publicaron un estudio de revaloración del trabajo realizado por Egeland donde el índice lod, en el primer estudio altamente significativo, perdió validez estadística, después de agregar un mayor número de parientes, tantos sanos como afectados, lo mismo que dos sujetos anteriormente clasificados como sanos y que desarrollaron, para la segunda valoración, la enfermedad. Este hallazgo ha creado gran confusión, siendo hasta el momento difícil de interpretar.

Por otro lado y al mismo tiempo, Mendlewicz en Bélgica¹², usando los marcadores CB y G6PD en el brazo largo del cromosoma X, y Baron, en Israel¹³, usando los mismos marcadores, encontraron en sus estudios índices lod superiores a 3, cumpliendo así con los criterios de asignación de una enfermedad a un locus en el genoma. Sin embargo, otros grupos de investigadores como Berretini en NIMH de los E.E.U.U.¹⁴, no han sido capaces de replicar estos resultados utilizando familias con los mismos patrones de herencia (ligada al X), o aplicando diversos marcadores cromosómicos a las áreas descritas por los otros grupos. Esto se ha interpretado como probable heterogeneidad genética en la que, a pesar de presentarse fenotipos clínicamente idénticos, y con patrones de herencia similares, la enfermedad no es causada por el mismo gen.

Los estudios de mapeo en esquizofrenia surgieron a raíz de un hallazgo citogenético, donde se describió una alteración en el cromosoma 5 que cosegregaba con la enfermedad⁴, por lo que se procedió a llevar el mapeo con marcadores de ADN en esta región. Se encontró evidencia significativa de enlace en un grupo de familias¹⁵, pero, hasta el momento y después de una gran cantidad de estudios similares, no ha sido posible

replicar estos hallazgos por ningún otro grupo de investigación¹⁶.

Los principales problemas en el mapeo de las enfermedades psiquiátricas han sido: elevada frecuencia en la población, lo que se traduce en un alto número de fenocopias (formas no genéticas de la enfermedad), con patrones poco claros de herencia; problemas en la definición del fenotipo; heterogeneidad genética, y ausencia de marcadores biológicos altamente específicos. Todo esto hace la tarea mucho más difícil que para otras enfermedades con una base genética más clara.

En México, la entrada de la biología molecular a la psiquiatría es muy reciente. El departamento de Genética Psiquiátrica del Instituto Mexicano de Psiquiatría está realizando estudios de mapeo genético para varias enfermedades: alcoholismo, esquizofrenia y trastorno obsesivo-compulsivo. Se presentan a continuación algunos datos de los estudios en este último.

Existe evidencia cada vez mayor que los factores etiológicos responsables de algunas formas de trastorno obsesivo compulsivo (TOC), el síndrome de Tourette (ST) y los tics crónicos múltiples (TCM) son los mismos. También hay una gran variedad de hipótesis que tratan de explicar la predisposición familiar a estos trastornos y, en general, las investigaciones publicadas sugieren una probable base genética^{17,18,19,20}. El TOC se manifiesta como ideas persistentes, pensamientos e impulsos que son experimentados como intrusivos, sin sentido y que aparecen de manera repetitiva (obsesiones); éstas frecuentemente se acompañan de conductas que se ejecutan de manera repetitiva, que son percibidas como innecesarias (cuando menos inicialmente) y, frecuentemente, se realizan en respuesta a una obsesión (compulsiones). Este padecimiento, que anteriormente se consideraba raro, de acuerdo a nuevos datos epidemiológicos en los Estados Unidos, se presume que presenta una prevalencia a lo largo de la vida del 2 al 3%^{21,22}. Otro dato importante consiste en la frecuente descripción de TOC junto con ST y TCM¹⁷⁻²⁰.

Un grupo de investigadores ha sugerido que el ST es transmitido de manera autosómica dominante y consideran a TCM y TOC como una manifestación del mismo gen¹⁸. Para el TOC también se ha sugerido este mismo patrón de herencia²³. Un abordaje metodológico que daría una evidencia por demás sólida de que la enfermedad estuviera causada por un

gen sería la localización cromosómica del mismo. El estudio de mapeo cromosómico por medio de PLFR se puede realizar únicamente en familias que tengan cuando menos un hijo afectado y otro sano; de tal manera que su patrón de PLFR sirva como referencia para el análisis del ácido desoxirribonucleico (ADN) del resto de los familiares en estudio.

Con fundamento en lo anterior, se puede suponer que existe una forma de TOC que tiene bases genéticas, pudiéndose manifestar que este gen como tras variantes fenotípicas; por ejemplo, TCM y ST. Asimismo, que la forma genética de TOC se debe al efecto fundamental de un gen único. La presencia de esta mutación deberá producir cambios en la secuencia del ADN, de tal manera que aparezcan o desaparezcan sitios de reconocimiento para endonucleasas de restricción, generando así segmentos polimórficos de ADN susceptibles de ser mapeados por la técnica de enlace génico. El propósito de este trabajo es localizar cromosómicamente el gen que causa la forma genética de TOC, por medio de la técnica de enlace génico, con el uso de genes polimórficos.

Métodos

Los pacientes se reclutaron a través de la División de Investigaciones Clínicas del Instituto Mexicano de Psiquiatría. A todos los sujetos y a las familias que fueron considerados para participar, se les pidió firmar una hoja de consentimiento. Los diagnósticos fueron basados en entrevistas semiestructuradas (DIS)²⁴ y en el criterio clínico de dos psiquiatras, tomando como base el DSM-IV. La evaluación clínica adicional a la entrevista semiestructurada de los probandos y de los familiares que reunían criterios para TOC, ST o TCM consistió en la aplicación de la escala Yale-Brown para trastorno obsesivo compulsivo (EYBOC), versión en español²⁵, y en una lista de verificación de síntomas de personalidad compulsiva²⁶. Todos los evaluadores clínicos fueron psiquiatras y recibieron un breve curso de entrenamiento para la aplicación de los instrumentos. Hasta el momento actual se han colectado 27 pacientes con TOC que presentan un rango de edad de 17 a 49 años, con una edad promedio de 32.9 ± 7.5 y una proporción hombre/mujer de 5/22. Ocho de los 27 probandos (30%) presentaron una historia familiar positiva para TOC, encontrándose una mayor frecuencia para TOC en los familiares de primer grado comparados con la frecuencia en la población en general (prueba exacta de Fisher, $p = 0.05$). Para el análisis de los polimorfismos de ADN se tomaron

muestras sanguíneas (30 ml/persona) y se realizó la extracción del ADN de acuerdo al método de Bell²⁸. EL ADN se cortó con diversas enzimas de restricción, de acuerdo al marcador polimórfico utilizado. La detección de los polimorfismos se hizo por el método de Southern. Este procedimiento, al igual que los protocolos de hibridación, se llevaron a cabo conforme a lo descrito por Maniatis²⁹.

Resultados

Utilizamos una familia con varios miembros afectados para el estudio de linkage (enlace génico). En ésta, seis miembros presentaron el diagnóstico de TOC y otros tres familiares presentaban signos clínicos que hacían probable el diagnóstico, aunque la intensidad de las manifestaciones no era tan importante. A estos últimos sujetos se les designó como probables. Para el análisis de linkage utilizamos 23 polimorfismos. Los resultados fueron analizados por el programa computacional LIPED, suponiendo herencia autosómica dominante con una penetrancia del 90%, con una corrección lineal para la edad de inicio y una máxima penetrancia para los 30 años. Se realizaron dos análisis; en el primero (fenotipo estricto) se incluyeron únicamente aquellos casos con diagnóstico definitivo. En el segundo análisis (fenotipo relajado) se incluyeron tanto los casos con diagnósticos definitivos como los probables.

Utilizando el fenotipo relajado, el máximo índice lod fue de 1.22 a una frecuencia de recombinación de $= .001$ entre el marcador GC en el brazo largo del cromosoma 4 y el TOC. Utilizando el fenotipo estricto el índice lod máximo fue de 0.11 a una frecuencia de recombinación de $= .001$, para el mismo marcador (Cuadro 1). Se pudo excluir linkage de manera significativa en cinco de los marcadores utilizados (Cuadro 2).

Discusión

Nuestros resultados sugieren que el TOC es un padecimiento familiar. Aproximadamente un tercio de los casos con TOC presentan historia familiar que es sugestiva de una susceptibilidad genética al padecimiento. También se encontró evidencia sugestiva de linkage en un pedigree para el TOC con un marcador en el cromosoma 4. Este hallazgo resulta interesante, ya que recientemente el gen para la enzima triptofano deshidrogenasa ha sido localizado a esta misma región³⁰. El conocimiento de las bases genéticas de una enfermedad es un punto fundamental para la valoración y tratamiento integral de un

CUADRO 1. Linkage para el fenotipo estricto. (A) y relajado (B)

Marcador/CR	Puntaje Lod	θ
A. GC/4q12-q13	0.11	0.001
B. GC/4Q12-Q13	1.22	0.001

paciente. El saber la proporción de casos genéticos contra fenocopias, el poder estimar los riesgos de recurrencia en familiares, el conocer el modo de transmisión y, una vez localizado el gen, poder ofrecer diagnóstico prenatal constituyen una serie de intervenciones muy valiosas para el paciente, que sólo se pueden ofrecer si existe un conocimiento claro de la genética del padecimiento. Por otro lado, el encontrar el locus específico de una enfermedad llevará, posteriormente, a la clonación del gen (genética reversa) y al esclarecimiento de su función, lo que implica un avance importante en el conocimiento de la

Referencias

- 1.- Vanderberg S, Manes S, Pauls D. The heredity of behavior disorders in adults and children. Plenum Medical Book Co. New York, 1986.
- 2.- Nicolini H, Baxter L, Hanna G, Weissbacker K, Spence Ma. Segregation analysis of obsessive compulsive and associated disorders. *Am J Hum Genet*, sept 1990, suppl. 551.
- 3.- Risch N, Baron M. Segregation analysis of schizophrenia and related disorders. *Am J Hum Genet*. 1984;36:1039-59.
- 4.- Basset A, McGillivray B, Jones B, Pantzar T. Partial trisomy chromosome 5 cosegregating with schizophrenia. *Lancet* 1988;9:799-801.
- 5.- St. George-Hyslop P, Tanzi R, Polinski R, y col. The genetic defect causing familial Alzheimer's disease maps on chromosome 21. *Science* 1987;235:885-90.
- 6.- Nicolini H. Los nexos genéticos (Linkage) de las entidades psiquiátricas. *Salud Mental* 1989;12:47-51.
- 7.- Klinger HP. Human gene mapping 9 (Paris). *Cytogenetics and Cell Genetics*. 1987;46:1-4.
- 8.- Egeland JA, Gerhard D, Pauls D, Sussex J, Kidd K, Allen C, Hostetter A, Housman D. Bipolar affective disorder linked to DNA markers on chromosome 11. *Nature* 1987;325:783-7.
- 9.- Hodgkinson S, Sherrington R, Gurling H, Marchbanks R, Reeders S, Mallet J, McInnis M, Petursson H, Brynjolfsson J. Molecular genetic evidence for heterogeneity in manic depression. *Nature* 1987;325:805-6.

CUADRO 2. Exclusión de linkage.

Marcador	Índice Lod A θ			% Recombinación para excluir linkage
	0.001	0.01	0.05	
DUFF	-3.95	-3.21	-1.83	1
PGP	-4.39	-3.87	-2.39	5
ACPI	-2.18	-1.36	-0.70	0.1
HP	-2.06	-1.87	-1.00	0.1
AMY2	-3.51	-3.42	-2.33	5

fisiopatología de la enfermedad y en el diseño de terapéuticas mucho más efectivas.

Agradecimiento. Este trabajo se realizó gracias a una beca de la Secretaría de Salud y a un donativo por parte del Programa Universitario de Investigación en Salud.

- 10.- Detera-Waldeigh SD, Berretini W, Goldin L, Boorman D, Anderson S, Gershon E. Close linkage of c-Harvey-ras-I and the insulin gene to affective disorder is ruled out in three North American pedigrees. *Nature* 1987;325:806-8.
- 11.- Kelsoe J, Ginns E, Egeland J, Gerhard D, Godstein A, Bale S, Pauls D, Long R, Kidd K, Conte G, Housman D, Paul S. Re-evaluation of the linkage relationship between chromosome 11p loci and the gene for bipolar affective disorder in the Old Order Amish. *Nature* 1989;342:238-43.
- 12.- Mendlewicz J, Sevy S, Brocas H, Simon P, Charon F, Legros S, Vassart G. Polymorphic DNA marker on X chromosome and manic depression. *Lancet* 1987;30(1):1230-2.
- 13.- Baron M, Risch N, Hamburge R, Mandel B, Kushner S, Newman M, Drumer D, Belmaker R. Genetic linkage between X chromosome markers and bipolar affective illness. *Nature* 1987;326:389-92.
- 14.- Berretini WH, Goldin L, Gelernter J, Gejman P, Gershon E, Detera-Waldeigh S. X-chromosome markers and manic depressive illness: rejection of linkage to Xq28 in nine bipolar pedigrees. *Arch Gen Psychiatry* 1990;47:366-73.
- 15.- Sherrington R, Brynjolfsson J, Petursson H, Potter M, Dudleston K, Barraclough b, Wasmuth J, Dobbs M, Gurling H. Localization of a susceptibility locus for schizophrenia on chromosome 5. *Nature* 1988;336:164-7.
- 16.- Kennedy J, Giuffra L, Moises H, Cavalli-Sforza L, Pakstis H, Kidd J, Castiglione C, Wetterber L, Kidd K. Evidence against linkage of schizophrenia to markers on chromosome 5 in a Northern Swedish pedigree. *Nature* 1988;336:167-70.

- 17.- Pauls D, Cohen D, Heinbuch R, Detlor J, Kidd K. Familial pattern and transmission of Gilles de la Tourette syndrome and multiple tics. *Arch Gen Psychiatry* 1981;38:1091-3.
- 18.- Pauls D, Leckman J. The inheritance of Gilles de la Tourette's syndrome and associated behaviors. Evidence for autosomal dominant transmission. *N Eng J Med* 1986;315:993-7.
- 19.- Pauls D, Towbin K, Leckman J, Zahner G, Cohen D. Gilles de la Tourette's syndrome and obsessive-compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry* 1986;43:1180-2.
- 20.- Pitman r, Green R, Jenike M, Mesulam M. Clinical comparison of Tourette's Disorder and obsessive-compulsive disorder. *Am J Psychiatry* 1987;144:1166-71.
- 21.- Jenike M. Obsessive-compulsive and related disorders. A hidden epidemic. *N Eng J Med* 1989;321-8:539-41.
- 22.- Karno M, Golding J, Sorenson S, Burnam M. The epidemiology of obsessive-compulsive disorder in five US communities. *Arch Gen Psychiatry* 1987;45:1094-9.
- 23.- Nicolini H, Baxter L, Hanna G, Spence MA. Segregation analysis of obsessive-compulsive and associated disorders. *Am J Hum Genet* 1990;47(3):suppl. A141-0551.
- 24.- Caraveo J, Gonzalez C, Ramos L. Concurrent validity of the DIS: Experience with psychiatric patients in Mexico City. *Hispanic J Behav Sciences* 1991;13(1):63-77.
- 25.- Nicolini H, Kuthy I, Hernandez E, Cortes J, Gonzalez H, Bauer J. Estudio de traducción y confiabilidad de la escala Yale-Brown para trastorno obsesivo-compulsivo. *Anales del IMP*. 1991;25-8.
- 26.- Hernandez E, Nicolini H. Sensibilidad y especificidad de una escala diagnóstica de trastorno obsesivo-compulsivo de la personalidad. *Memorias X Reunión de Alumnos de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Salud, UNAM*. 1992.
- 27.- Bell G, Karam J, Rutter W. Polymorphic DNA region adjacent to the 5'end of the human insulin gene. *Proc Natl Acad Sci*. 1981;78(9):5759-63.
- 28.- Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T. *Molecular cloning. A laboratory manual. Second Edition*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1989.
- 29.- Comming D, et al. Tryptophan hydroxylase maps to Chrom 4. *Cytogenet Cell Genet*. 1989;51:13-66. Abst No. 19106.