

Efectos de la clozapina sobre diferentes receptores

José Luis Chávez Juárez*
Gerardo Heinze*

Summary

The effect of clozapine on the dopamine, norepinephrine, glutamic, GABA and acetylcholine bindings was studied. In competition experiments we found that clozapine inhibits binding in acetylcholine and dopamine; in the glutamic and GABA bindings, effects were found only in the frontal cortex, and in the norepinephrine binding, clozapine had no effect. The experiment suggests the important participation of the frontal cortex in the development of clozapine effects and the great homology between the different receptors analyzed.

Resumen

Los experimentos se realizaron, con el propósito de valorar el efecto de la clozapina sobre los receptores a dopamina, norepinefrina, glutámico, GABA y acetilcolina. Se encontró, que los desplazamientos fueron principalmente y en orden de importancia, en los receptores M1/M2 de acetilcolina, y en los receptores a dopamina; los efectos encontrados en glutámico y GABA fueron principalmente en la corteza frontal y no se observó inhibición en la unión de norepinefrina por clozapina en ninguna área estudiada. Esto sugiere una participación importante de la corteza frontal, así como la presencia de estos receptores analizados, los cuales presentan una gran homología molecular, lo que habrá que estudiar desde diferentes puntos de vista.

Introducción

La esquizofrenia es una de las enfermedades mentales que afectan aproximadamente al 1% de la población mundial (Sartorius 1986). De las investigaciones realizadas alrededor de esta enfermedad, la hipótesis dopaminérgica ha sido la más ampliamente aceptada y utilizada como modelo de estudio durante los últimos 30 años. Esta hipótesis no ha sido fundamentada con evidencias directas de un exceso de actividad dopaminérgica durante las diferentes etapas de esta enfermedad, sino que ha sido apoyada, por dos tipos de evidencias farmacológicas inferidas, que son: a) todos los antipsicóticos antagonizan a los receptores dopaminérgicos D2 (Meltzer 1976), o bien decrecientan la actividad dopaminérgica (Carlson 1963); b) se ha observado que la administración de amfetamina u otros agonistas dopaminérgicos, inducen

un estado psicológico, que clínicamente es indistinguible de la esquizofrenia paranoide (Bell 1973); esta evidencia farmacológica sugiere que un incremento en la neurotransmisión dopaminérgica contribuye a la sintomatología de la esquizofrenia y que puede ser un factor determinante en la patogénesis de la enfermedad. Sin embargo, el bloqueo selectivo de los receptores D2 a dado origen a numerosas desventajas.

Los neurolépticos típicos como el haloperidol, tienen pocos efectos sobre los síntomas negativos de la esquizofrenia, en comparación con los efectos positivos, además el antagonismo del receptor D2 está asociado con la inducción de akatisia, disquinesia tardía, entre otros efectos.

De las drogas antipsicóticas atípicas, la clozapina es uno de los neurolépticos prototipo; la clozapina a diferencia del haloperidol, produce un mínimo de efectos secundarios, no eleva las concentraciones de prolactina plasmática; y se ha encontrado que la clozapina es superior a los neurolépticos típicos en mejorar tanto los síntomas positivos como en prevenir las recaídas (Meltzer 1989).

Por otra parte, se ha observado que la clozapina provoca como efecto secundario, la aparición de agranulocitosis en el 1% de los pacientes tratados con esta droga (Lieberman 1988), también suele provocar fallas cardíacas, respiratorias y colapso e inconsciencia cuando se administra junto con benzodiacepinas (Grohmann 1989), además se ha hecho una observación de que cuando es administrado junto con propofol produce un estado de coma que es reversible al cabo de algunas horas (Vetter 1992).

De los eventos inducidos por clozapina, estudiados *in vitro*, se ha postulado que esta droga tiene una actividad anticolinérgica M1 o M2 (Miller 1974); también que presenta una actividad antagonista no específica histamínica (H1) (Kelly 1990); asimismo se ha observado que actúa sobre el receptor α_1 en el núcleo *accumbens*; en el cerebelo se ha advertido que además actúa sobre los receptores α_1 , y de igual forma decrecienta los niveles de GMPc (Rao 1991). De la misma manera, se ha encontrado que la clozapina incrementa significativamente la expresión de Cfos en el núcleo septal lateral (Robertson 1992); estudios *in vitro* han demostrado que la clozapina incrementa la liberación de GABA en el *Globus Pallidus* y de dopamina en el estriado dorsolateral (Kelly 1990; Sherman 1991).

* División de Investigaciones Clínicas. Instituto Mexicano de Psiquiatría, Calz. México-Xochimilco, 101. San Lorenzo Huipulco 14370. México D.F.

Por otra parte, se ha postulado que en la esquizofrenia existe un disturbio en la neurotransmisión de los aminoácidos excitatorios, la cual ha sido corroborada con experimentos conductuales (Sherman 1991).

De los efectos conductuales inducidos por los antagonistas glutamatérgicos, se ha observado que la clozapina inhibe el efecto provocado por el antagonista glutamatérgico AP-7; además, se ha determinado que la clozapina es uno de los neurolépticos más potentes en inhibir la unión específica del [3H]MK-801 al receptor de glutámico NMDA (Reynolds 1992).

En experimentos de unión, se ha observado que la distribución de la unión de [3H] clozapina es paralela a la innervación de los aminoácidos excitatorios (Janowsky 1989; Konhuber 1990).

Existe otra evidencia importante de que el bloqueo de los receptores serotoninérgicos mitigan la sintomatología de la esquizofrenia y que están implicados en la patogénesis de esta enfermedad; se ha determinado que la clozapina después de 4 a 10 semanas decremente la densidad de receptores 5HT₂ en la corteza de las ratas (Nash 1988), asimismo se ha encontrado que la clozapina bloquea los efectos del agonista serotoninérgico 5HT₂ MK-212, sobre la temperatura y el cortisol; de la misma manera se ha observado que la clozapina tiene una alta afinidad por el receptor 5HT_{1c} que se encuentra localizado en el plexo coroideo (Canton 1990), también se ha encontrado que la clozapina interacciona con el receptor 5HT₃ en la corteza entorrinal (Hoyer 1989).

De los estudios llevados a cabo sobre el efecto de la clozapina sobre los receptores dopaminérgicos, se ha reportado que la clozapina es un antagonista poco efectivo sobre el receptor dopaminérgico D₂ (Farde 1989), no obstante se ha reportado que es efectivo en la clínica en un 60% de los pacientes que no responden a los neurolépticos clásicos (Kane 1988). Por otra parte, se ha sugerido que la clozapina tiene una mayor capacidad para unirse con el receptor D₁ comparado con el D₂. De los estudios conductuales, se ha desprendido que la clozapina bloquea la actividad locomotora ocasionada por la administración del agonista D₁ SKF38393 (Meltzer 1992). De la misma manera el tratamiento con clozapina durante 28 días, ha mostrado un significativo incremento en la unión de [3H]SCH23390 al receptor D₁ en el núcleo *accumbens* de la rata (See 1990).

Recientemente se han identificado por medio de técnicas de biología molecular diferentes receptores dopaminérgicos; utilizando este método se han propuesto dos familias de receptores dopaminérgicos por lo que D₁ y D₅ han sido considerados como D_{1a} y D_{1b}, los receptores D₂, D₃, D₄, se han designado como D_{2a}, D_{2b}, y D_{2c} respectivamente (Sibley 1992). De estos receptores el que ha mostrado mayor afinidad ha sido el receptor D_{2c}, el cual se encuentra principalmente y en orden de importancia en la corteza frontal, cerebro medio, amígdala y tubérculos olfatorios (Van Tol 1991). Este hecho explica parcialmente, los pocos efectos secundarios de esta droga.

El objetivo del presente trabajo ha sido determinar y comparar el efecto de la clozapina sobre los receptores a: noradrenalina, dopamina, glutámico, acetilcolina

(M₁ y M₂) y GABA, en la corteza frontal y estriado de la rata (estructuras que han sido utilizadas como modelos en el desarrollo de la esquizofrenia), con el fin de precisar los posibles cambios en la neurotransmisión de estos transmisores en presencia de clozapina.

Material y métodos

Preparación de membranas

Ratas Wistar macho (25), de 200-250g. fueron sacrificadas por decapitación, y el cerebro y cerebelo fueron extraídos rápidamente y colocados en frío. La corteza frontal y el estriado fueron disecados en frío, para homogenizarlas de inmediato, al igual que el cerebelo con un tissumizer en un amortiguador tris 25 mM, MgCl 1.2 mM y NaCl 125 mM. Posteriormente los homogenizados fueron centrifugados a 17000 x g durante 30 min y rehomogenizados y centrifugados por tres ocasiones más; al final de este procedimiento las membranas fueron almacenadas hasta su utilización a -75° C. La determinación de proteínas se realizó por el método descrito por Lowry (1956).

Análisis de receptores

Todos los análisis se realizaron con alícuotas de 0.15 mg de proteína por tubo, en presencia de concentraciones crecientes de clozapina en rangos de 1e-4 M a 1e-13M, las incubaciones se detuvieron por filtración rápida en un *Cell Harvester* con filtros GF/B y 5 lavados con el amortiguador de incubación. Los filtros posteriormente fueron colocados en tubos con 5 ml de líquido de centelleo tolueno-triton+POPOP-PPO y contados en un contador para muestras líquidas, con una eficiencia del 50%.

Receptores a noradrenalina

Los receptores a noradrenalina se analizaron incubando las membranas y la clozapina en presencia de 2.0 nM de noradrenalina [3H] con una actividad de 21.0 Ci/mM, la incubación fue a 37°C por 20 min.

Receptores a dopamina

Desplazamiento de Espiro [3H]; las membranas se incubaron por 30 min. a 37° C en presencia de 0.9 nM de la marca radiactiva (actividad 25 C Ci/mMol).

Desplazamiento de N-0437; la reacción se realizó en amortiguador tris 50 mM, 5 nM de KCL, 2 mM CaCl, a un pH 7.4; las membranas se incubaron a temperatura ambiente durante 45 min en presencia de la clozapina y 1.5 nM de la marca radiactiva (actividad 40 Ci/mMol)

Receptores a glutámico

Las membranas se descongelaron a 37° C y se re congelaron a -75° C por 5 ocasiones, al finalizar este procedimiento, se incubaron en presencia de

10 nM de glutámico [3H] (actividad 40Ci/mMol) y clozapina, durante 20 min a 37° C.

Receptores a acetilcolina

Las membranas se incubaron a 30° C durante 30 min en presencia de clozapina y 1.0 nM de N-MetilScopolamina [3H] (NMS) (actividad 77 Ci/mMol) en un amortiguador fosfatos 50 mM.

Receptores a GABA

Desplazamiento de flunitrazepam [3H], las membranas se incubaron por 60 min a 0-4° C en presencia de 1.5 nM de la marca radiactiva y clozapina.

Desplazamiento de Terbutilbiciclofosforotionato (TBPS)S35; (actividad 111 Ci/mMol) alícuotas de 1.5 nM de la marca radiactiva fueron incubados en presencia de clozapina a temperatura ambiente, durante 90 min, en un amortiguador tris 50 nM y 1 M de NaCl.

Resultados

Norepinefrina

De los experimentos llevados a cabo con norepinefrina [3H] en membranas de corteza frontal, estriado y

membranas de cerebelo, no se determinó efecto alguno con ninguna de las concentraciones utilizadas de clozapina (fig. no mostrada).

Dopamina

De las concentraciones analizadas de clozapina en presencia de N-0437, se encontró que la clozapina desplaza hasta un 25% en las membranas de corteza frontal y es más potente en el estriado donde se desplazó hasta un 35%; asimismo se observó que el desplazamiento no fue sensible a la presencia de GTP (fig. 1).

La unión de Espiro fue inhibida por las diferentes concentraciones de clozapina con una IC50 de $1e^{-5}$ M para corteza frontal y con un desplazamiento máximo de 70% a $1e^{-4}$ M; para estriado la IC50 fue de $1e^{-6}$ M con un desplazamiento máximo del 85% a una concentración de $1e^{-4}$ M. El desplazamiento de Espiro no se detectó sensible a GTP como se observa en la figura 2.

Glutámico

El desplazamiento de glutámico fue más claro en la corteza frontal en donde se encontró un desplazamiento del 30%, en cambio en el estriado el desplazamiento fue tan solo del 12%, en estas condiciones

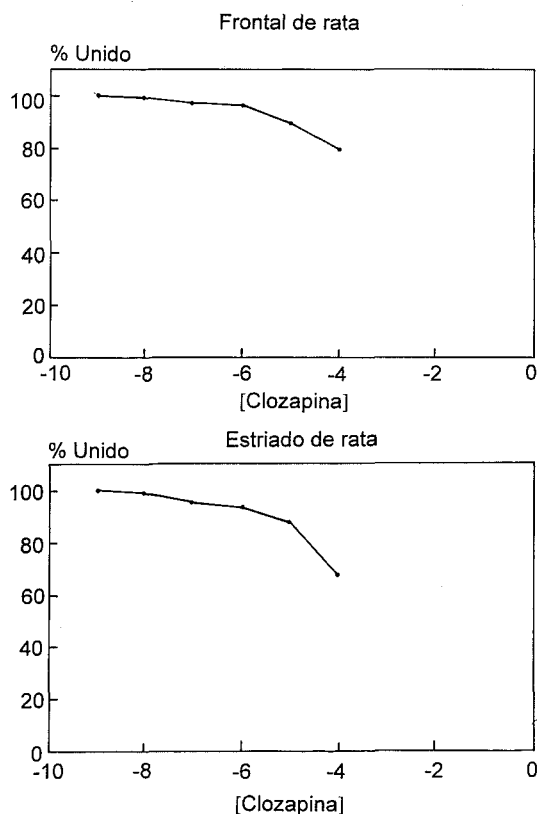


Figura 1. Se muestra el desplazamiento de N-0437 [3H] por diferentes concentraciones de clozapina

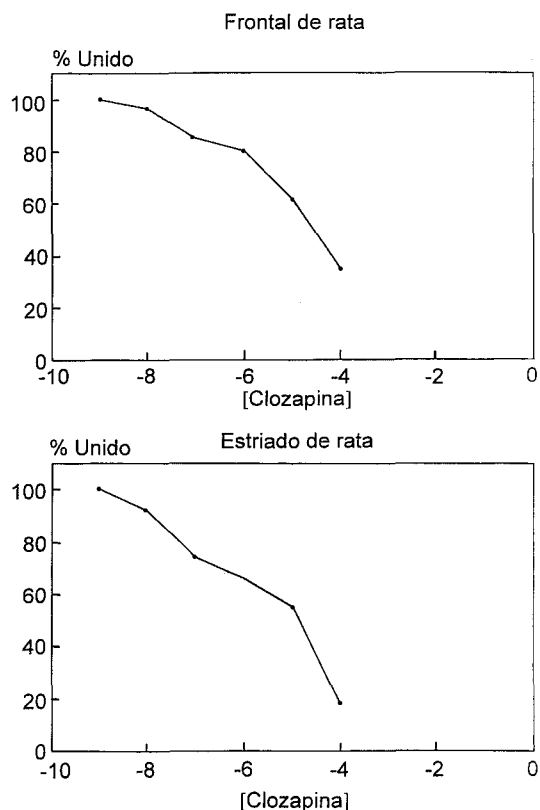


Figura 2. Se muestra el desplazamiento de Espiro[3H] por diferentes concentraciones de clozapina

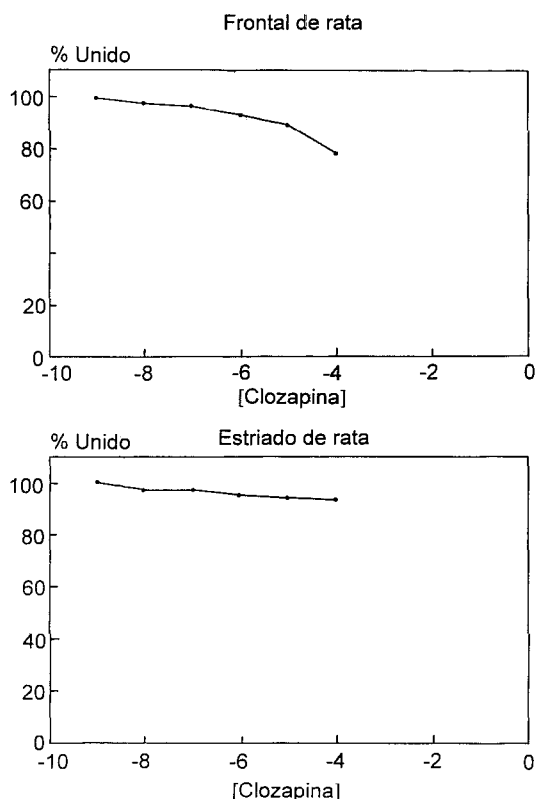


Figura 3. Se muestra el desplazamiento de Glu[3H] por diferentes concentraciones de Clozapina

se encontró una inhibición por GTP del 8% solamente en las membranas de corteza frontal (fig. 3).

Acetilcolina

La unión de NMS fue inhibida por las diferentes concentraciones de clozapina encontrándose una IC₅₀ de 1e⁻⁷ M en corteza frontal, y una IC₅₀ de 1e⁻⁸ M en estriado, a concentraciones altas la clozapina desplaza hasta el 98% en ambas estructuras (fig. 4)

GABA

La clozapina no indujo ningún efecto sobre la unión de BTPF al canal de cloro del polirreceptor de GABA_A, sin embargo sí presentó una inhibición del 20% en la unión de flunitrazepam únicamente en las membranas de corteza frontal y no se determinó ningún efecto en las membranas de estriado (fig. 5).

Discusión

A pesar de la eficiencia que presentan muchas de las drogas utilizadas en el tratamiento de la esquizofrenia, las modificaciones que provocan sobre el sistema nervioso central no son del todo claras. Diferentes hipótesis se han sugerido respecto a la aparición de

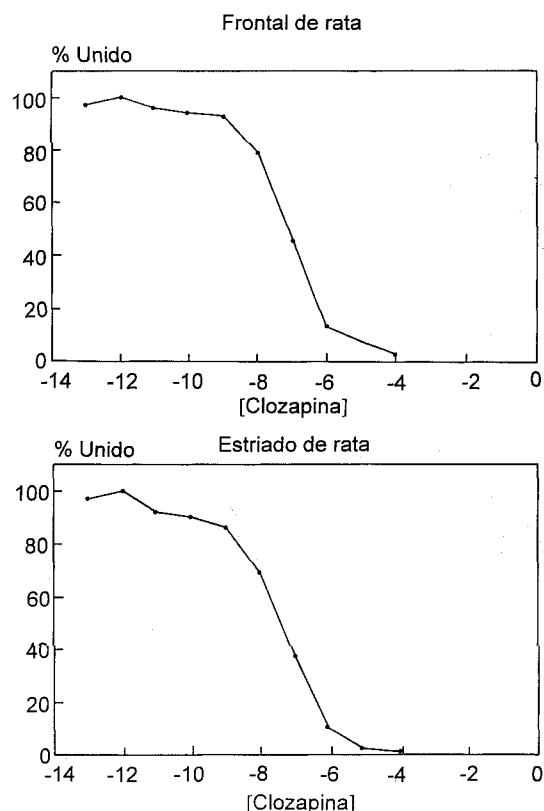


Figura 4. Se muestra el desplazamiento de NMS[3H] por diferentes concentraciones de clozapina

los síntomas de la esquizofrenia; una de las hipótesis postuladas hace 20 años, es la de la aparición de una anomalía en el sistema noradrenérgico. Este déficit en la neurotransmisión noradrenérgica, trae consigo una falta de relación con el medio ambiente desencadenando uno de los síntomas de la esquizofrenia. La clozapina se ha mostrado que estimula la neurotransmisión noradrenérgica aumentando la actividad neuronal (Reynolds 1992), también se ha postulado que inhibe la liberación de dopamina en el núcleo *accumbens* y en el estriado a través de una interacción con los receptores α_1 (Lane 1988). La clozapina se ha postulado además, que atenúa la actividad del receptor NMDA por medio de una regulación noradrenérgica tipo α_1 en el cerebelo. En nuestros experimentos no se encontró ningún efecto sobre la unión de norepinefrina [3H] ni en el cerebelo donde se ha propuesto tener una regulación, ni en ninguna de las estructuras analizadas. Este nulo efecto observado, puede ser debido, o bien a que en las estructuras analizadas no exista ninguna acción de la clozapina, o bien que habría que utilizar algún ligando más específico, ya que también hasta el momento no existe ninguna evidencia clara que relacione a la noradrenalina con la sintomatología de la esquizofrenia.

De los posibles efectos secundarios inducidos por la clozapina, se ha descrito que presenta reacciones cruzadas con benzodiacepinas, estas reacciones se

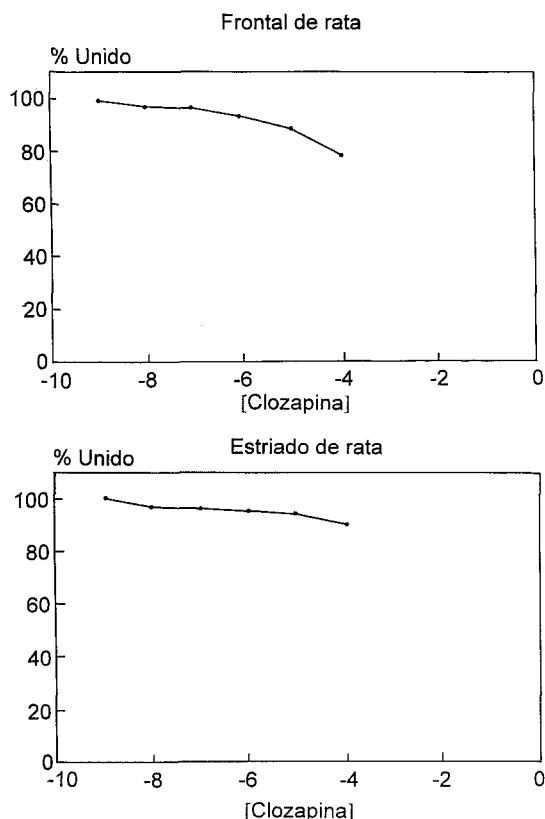


Figura 5. Se muestra el desplazamiento de Flu[3H] por diferentes concentraciones de clozapina

han presentado en pacientes tratados de manera crónica que al cabo de algunas semanas se les ha administrado clozapina, esto ha provocado fallas respiratorias e inconsciencia (Grohamann 1989). De los experimentos *in vivo* se ha desprendido, que la clozapina incrementa la liberación de GABA medido por microdiálisis en el *globus pallidus*, y en el estriado, principalmente (Drew 1990). En nuestros resultados, se observa que la clozapina inhibe solamente la unión de flunitrazepam, y únicamente en la corteza, esta diferencia en estructuras muy probablemente se debe a la gran concentración de receptores GABA_A que se encuentran en la corteza, lo que explicaría en parte estos efectos no esperados de la clozapina. Por lo que respecta a la unión de BTPF, este ligando es más selectivo sobre el canal de cloro, lo que nos da una selectividad importante en cuanto a la acción de la clozapina. Aunque se han realizado pocos estudios en relación al posible efecto benéfico de las benzodiazepinas, nuestros resultados nos demuestran que sí existe una actividad de clozapina sobre el receptor a benzodiazepinas por lo que es deseable tener cuidado al administrar clozapina con algún derivado benzodiazepino.

Recientemente se ha discutido el posible papel del glutámico en el desarrollo de la esquizofrenia; se ha sugerido que una regulación anormal de los receptores NMDA serían los responsables del desarrollo de algunos de los síntomas de la esquizofrenia, esto en

vista de los hallazgos en el análisis *postmortem* de algunos cerebros de pacientes, en donde se han encontrado principalmente cambios en los receptores de glutámico en la corteza frontal, por esto, se ha sugerido que un desbalance en la neurotransmisión glutamatergica, tenga como consecuencia el desarrollo de algunos de los síntomas de la enfermedad (Korhuber 1990). Del efecto estudiado *in vitro*, se ha desprendido que existe una inhibición, en la unión de glutámico principalmente en la corteza frontal, en donde se ha sugerido que existen proyecciones provenientes del tálamo. Esto explicaría la observación, de que la unión de clozapina [3H] es paralela a las proyecciones glutamatergicas (Janowsky 1989), y nuestros resultados encontrados en corteza principalmente.

De las muchas acciones bioquímicas que ejercen los neurolépticos, se ha determinado una relación inversa entre la aparición de síntomas extrapiramidales y su potencia para bloquear al receptor muscarínico, desde el punto de vista conductual se ha determinado que la clozapina antagoniza los efectos provocados por la administración de agonistas muscarínicos (Picker 1989), nuestros resultados nos muestran que la clozapina presenta una gran potencia antimuscarínica en ambas estructuras estudiadas, lo cual ha sido corroborado en otros estudios (Reynolds 1992); esto nos demuestra con mucha certeza la participación de los receptores muscarínicos sobre los pocos efectos extrapiramidales inducidos por clozapina.

Como se ha venido postulando el principal efecto de los neurolépticos, correlaciona muy bien con la ocupación de los receptores dopaminérgicos D2, sin embargo esto no explica todos los efectos clínicos consecuentes a la administración. La clozapina ha demostrado tener una gran afinidad sobre los receptores D2c (Van Tol 1991), y este tipo de receptores se ha descrito que principalmente se encuentran en la corteza frontal, lo que explica la gran potencia de la clozapina para disminuir muchos de los síntomas de la esquizofrenia. Del análisis realizado sobre los receptores dopaminérgicos, encontramos que el ligando específico para D2, N0437, es poco sensible a la clozapina, aunque se encuentra su mayor efecto en el estriado, que es donde se localizan principalmente los receptores D2. La unión de espiperona, fue inhibida también en el estriado, a concentraciones ya reportadas en la literatura; esto corrobora el hecho de que la clozapina tiene poco efecto sobre los receptores dopaminérgicos en el estriado donde sustancialmente se ha encontrado que tienen su acción los neurolépticos típicos como el haloperidol.

En el análisis de todos los ligandos utilizados, no se encontró, o bien se encontró un efecto muy pobre provocado por el GTP, esto bien puede ser en vista de que en la literatura han sido utilizados análogos más potentes para inhibir a las proteínas G, que además son poco sensibles a la degradación enzimática.

Conclusión

Se ha reportado ampliamente el efecto benéfico de la administración de la clozapina, aunque como la

mayoría de las drogas, presenta algunos efectos negativos. El amplio espectro encontrado en el presente trabajo, y el reportado extensamente en la literatura nos lleva a concluir en base a nuestros resultados y al análisis molecular reportado para los receptores muscarínicos, alfa-2-adrenérgicos, glutamatérgicos, de serotonina y el receptor dopaminérgico D2c; que todos los receptores analizados presentan una gran homología en su secuencia molecular de las cadenas hidrofóbicas, así como que todos estos receptores están siendo modulados vía proteínas G, por lo cual la clozapina muy probablemente esté ejerciendo su

acción en todos estos receptores en esta región hidrofóbica, y que la regulación de estas proteínas G, sea la que esté siendo afectada por la clozapina. Además otro hallazgo importante es el que el principal efecto de la clozapina, se encuentre en la corteza frontal, que se ha descrito como una estructura crítica para el desarrollo de algunos de los síntomas de la esquizofrenia.

Se tendrán que diseñar experimentos enfocados al estudio de estas proteínas G, en diferentes estructuras, para de esta manera entender el proceso que está siendo mediado por la clozapina.

REFERENCIAS

- BELL DS: The experimental reproduction of amphetamine psychosis. *Arch Gen Psychiat*. 29:35-40, 1973.
- CARLSSON A, LINDISQUIST M: Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3-methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain. *Acta Pharmac Toxicol*, 5:140-144, 1963.
- FARDE L, WEISEL FA, NEDSTRON AL, SEDVALL G: D1 and D2 dopamine receptor occupancy during treatment with conventional and atypical neuroleptics. *Psychopharmacology*, (suppl. 99):s28-s31, 1989.
- GROHMAN R, RUTHER E, SASSIM N, SCHMITH LG: Adverse effects of clozapine *Farmacology*, 99:s101-s104, 1989.
- HERVE C, VERRIOLE L, COLPAERT F: Binding of atypical antipsychotics to 5-HT1c and 5HT2 sites; clozapine potency interacts with 5-HT1c sites. *European Journal of Pharmacology*, 191:93-96, 1990.
- HOYER D, GOZLAN H, BOLANOS F, SCHECHTER LE, HAMON M: Interaction of psychotropic drugs with central 5-HT3 recognition sites: fact or artifact?. *European Journal of Pharmacology*, 171:137-139, 1989.
- JANOWSKY A, BERGER P: Clozapine inhibits [3H] MK801 bonding to the glutamate receptor-ion channel complex. *Schizophrenia Research*, 2:189, 1989.
- KANE J, HORNIGFIELD G, SINGER J, MELTZER HY: Clozapine for the treatment resistant schizophrenic, *Arch Gen Psychiatry*, 45:789-796, 1988.
- KELLY L, WILLIAM T, KEHR J, UNGESTEDT V: Regional specific effects of clozapine and haloperidol on GABA and dopamine release in rat basal ganglia. *European Journal of Pharmacology*, 187:385-397, 1990.
- KORNHUBER J: Glutamate and schizophrenia. *TIPS*, 11:357, 1990.
- LANE RF, BLAHA CH D, RIVET JM: Selective inhibition of mesolimbic dopamine release following chronic administration of clozapine: involvement of alpha-nadrenergic receptors demonstrate in vivo voltametry. *Brain Research*, 460:398-401, 1988.
- LEE T, IANG SW: Lozapine and clozapine decrease serotonin (52) but not elevate dopamine (D2) receptor numbers in the rat brain. *Psychiatry Res*, 12:277-285, 1984.
- LIEBERMAN JA, JOHNS JA, KANE JM, RAI R, PISCIOTTA AV: Clozapine-induced agranulocytosis: Non-cross reactivity with other psychotropic drugs. *Journal of Clinical Psychiatry*, 49:271-277, 1988.
- MELTZER HY, GUDOLSKY: Dopaminergic and serotonergic effects of clozapine. *Arzneimittel-Forschung Drugs Research*, 42(1):2a-268-272, 1992.
- MELTZER HY, STAHAL SM: The dopamine hypothesis of schizophrenia. *A Review Schizophrenia. Bull*, 2:19-76, 1976.
- MELTZER HY, BASTANI B, RAMIREZ L, BURNETT S, SHARPE JA: A prospective study of clozapine in treatment resistant schizophrenic patients. I. Preliminary report. *Psychopharmacology*, (suppl. 99):s68-s72, 1989.
- MILLER RG, HILEY CR: Antimuscarinic properties of neuroleptics and drug-induced parkinsonism. *Nature*, 248:596-597, 1974.
- NASH JF, MELTZER HY, GUDELSKY GA: Antagonism of serotonin receptor mediated neuroendocrine temperature responses by atypical neuroleptics in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 151:463-469, 1988.
- PICKER MJ: Neuroleptics and conditional discrimination tasks; cholinergic mediation of the accuracy and response rate-alternating effects of chlorpromazine and clozapine but not haloperidol. *Behavioural Pharmacology*, 1:141-152, 1989.
- RAO TS, CONTRERAS PC, WHOD PL: Clozapine attenuates N-Methyl-D-Aspartate receptor complex-mediated responses in vivo: Tentative evidence for a functional modulation by noradrenergic mechanism *Neuropharmacology* 30(6):557-595, 1991.
- REYNOLDS GP: Developments in the drug treatment of schizophrenia. *TIPS*, 13:116-121, 1992.
- ROBERTSON GS, FIBIGIER HC: Neuroleptics increase Cfos expression in the forebrain. Contrasting effects of haloperidol and clozapine. *Neuroscience*, 46(2):315-328, 1992.
- SARTORIUS N, JABELNYKY A, KORTEN A, ERNBERG G, DAY R: Early manifestation and first-contact incidence of schizophrenia in different cultures. *Psychol Med*, 16:909-928, 1986.
- SEE RE, TOYA AW, ELLISON G: Autoradiographic analysis of regional alterations in brain receptors following chronic administration and withdrawal of typical and atypical neuroleptics in rat. *J Neural Transm (Gen-sect)*, 82:93-109, 1990.
- SHERMAN AD, DAVIDSON AT, BARVA S, HERGWOOD TS, WAZIRI R: Evidence of glutamatergic deficiency in schizophrenia. *Neuroscience Letters*, 121:77-89, 1991.
- SIBLEY DR, MONSMA FG: Molecular biology of dopamine receptors. *TIPS* 13:61-69, 1992.
- VAN TOL HHM, BUNZOW JR, GUAN HC, CIVELLI O: Cloning of gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature*, 350:610-618, 1991.
- VETTER PH, PROPE DG: Clozapine-induced coma. *The Journal of Nervous and Mental Disease*, 180(1):58-59, 1992.