

Estudio de simulación por computadora para la selección de familias útiles en el análisis por enlace génico (linkage)

Un ejemplo con familias de probandos con trastorno obsesivo-compulsivo

Laurence Mickalonis*
Benilde Orozco**
Juan Ramón de la Fuente***
Francisco Páez**
Humberto Nicolini**

Summary

In this paper we show the usefulness of the computer simulation analysis to select adequate families for performing linkage analysis and mapping genes. We analyzed eight families with obsessive-compulsive disorder. Clinically, these families seem to have an autosomal dominant pattern of inheritance.

We simulated a cosegregation of a polymorphic marker, with 50 % heterozygosity, along with the disease. Additionally, we performed the analysis considering different values of penetrance and three percentages of known genotypes in the studied subjects (100 %, 75 % and 50 %). The obtained lod scores demonstrated that these families have enough statistical power to detect linkage, even in non-ideal conditions such as 80 % penetrance and only 50 % known genotypes.

Resumen

En este trabajo se ilustra la utilidad del análisis de simulación por computadora, para la selección de familias útiles en el mapeo de genes por medio de la técnica de enlace génico. Analizamos ocho familias con trastorno obsesivo compulsivo, quienes clínicamente tienen un patrón de herencia autosómico dominante.

En estas familias simulamos la cosegregación de un marcador polimórfico, con un 50 % de heterocigosidad, que se hereda en estrecho enlace génico con la enfermedad. Adicionalmente, analizamos estos datos considerando varios valores de la penetrancia, así como tres diferentes porcentajes de genotipos conocidos en los sujetos estudiados (100 %, 75 % y 50 %). Los índices *lod* obtenidos, demostraron que estas familias tienen el poder estadístico adecuado para llevar a cabo estudios de enlace génico, aun en condiciones no ideales, tales como una penetrancia del 80 %, y desconociendo el 50 % de los genotipos.

* Egresada del Diplomado en Farmacología, Facultad de Medicina, UNAM.

** Unidad de Genética Molecular Psiquiátrica, Programa Universitario de Investigación en Salud de la UNAM e Instituto Mexicano de Psiquiatría.

*** Dirección, Facultad de Medicina de la UNAM (A partir del 1° de diciembre de 1994, Secretario de Salud).

Solicitud de sobretiros: Dr. Humberto Nicolini, Unidad de Genética Molecular Psiquiátrica, Programa Universitario de Investigación en Salud de la UNAM e Instituto Mexicano de Psiquiatría. Calz. México-Chochimilco 101, San Lorenzo Huipulco 14370, México D.F.

Introducción

Localización de genes

La genética de la actualidad es la llamada genética reversa o clonación posicional, en la que es posible iniciar la búsqueda de las mutaciones directamente en los genes y no en sus productos como era la manera tradicional (17). De esta manera es posible iniciar la investigación del defecto genético con el mapeo cromosómico de los genes involucrados en la susceptibilidad de las diversas enfermedades, y una vez localizados, clonarlos para estudiar sus productos, con el consecuente mejor entendimiento de la etiología, lo que repercutirá a su vez, en el diseño de mejores herramientas terapéuticas (21).

La nomenclatura del sitio preciso dentro del genoma (*locus*) consiste en decir: el número del cromosoma (del 1 al 23), si se encuentra en el brazo corto o largo (p ó q), y finalmente la región o banda específica dentro del brazo del cromosoma. Estas bandas surgen en los cromosomas al teñirse con colorantes especiales (34).

Las células normales son diploides, es decir con dos copias de sus genomas, en 46 cromosomas. Si consideramos que algunas de las enfermedades que afectan a los seres humanos se deben a una alteración (mutación) en una base nitrogenada (pb), el poder encontrarla requiere de una amplia información de la ordenación y localización precisa de las bases en el genoma humano; es decir, el "mapa del genoma humano". Cabe mencionar que esta empresa es el gran proyecto de la ciencia de nuestros días (2).

La constitución genética de un individuo o genotipo se refleja de diferentes maneras en los seres vivos, tanto en proteínas que podemos identificar en el laboratorio, como en características que podemos ver o medir (el color de pelo o la talla). Otra de las expresiones del genotipo, y quizás la más compleja, es el comportamiento. A la expresión del genotipo se le llama fenotipo.

La década de los ochenta ha sido testigo de la explosión de la biología molecular dentro del campo de la clínica médica (23). Este significativo hecho ha generado una gran cantidad de conocimiento fundamental dentro de la etiopatogenia de un número importante de enfermedades. Como ejemplos basta mencionar el caso de la fibrosis quística, en donde gracias a este desarrollo teórico-tecnológico, sabemos que la base molecular de esta enfermedad se encuentra en los canales de cloro del epitelio pulmonar. Otro ejemplo es la distrofia muscular de Duchenne, que hasta hace pocos años se refería en los libros médicos como de etiología desconocida. Ahora sabemos que la enfermedad está causada por una mutación en el cromosoma X, en un gen que codifica para una nueva proteína llamada distrofina (23,25).

Una de las estrategias fundamentales para localizar a los genes etiológicos de las enfermedades, ha sido por los estudios de enlace génico (*linkage*) (17,26). Los estudios de enlace génico (*linkage*) son una mezcla de clínica taxonómica, epidemiología genética y biología molecular. Una característica particular de esta estrategia es la de ser especialmente útil en aquellas enfermedades en donde existe poco o ningún conocimiento de su etiopatogenia.

La idea fundamental de los estudios de enlace génico es seguir un gen a través de las generaciones, y aunque este gen no tenga ninguna relación con la enfermedad estudiada, se pretende evidenciar que se encuentra tan cerca del gen responsable que tienden a ser transmitidos juntos (como si fueran una unidad) a la descendencia. En otros términos, se trata de analizar la cosegregación de una enfermedad con un marcador polimórfico (sistema de alelos o variantes de un mismo gen, que puede detectarse por medio de estrategias de ADN recombinante).

Aunque no se conozca la etiopatogenia de la enfermedad, el estudio de la probabilidad en la que se presenta el gen marcador con la enfermedad, permite evidenciar el enlace. Marcadores más y más cercanos se pueden utilizar hasta clonar el gen responsable y determinar su estructura completa. El paso siguiente es entonces identificar el defecto estructural dentro del gen, a fin de elaborar estrategias de tratamiento o de prevención de la enfermedad.

La significancia estadística del resultado de un estudio de enlace está usualmente resumida por el valor del índice *lod* máximo (del inglés logaritmo de las probabilidades, *log of the odds*), a cierta frecuencia de recombinación (probabilidad de que un gameto producido por un padre sea recombinante, o bien sea producto de un entrecruzamiento entre cromosomas). Tradicionalmente, esta frecuencia se simboliza por la letra griega *Theta* (θ). Cuanto menor sea esta frecuencia, menor será la distancia entre el gen responsable y el marcador polimórfico (26).

La estimación de *Theta* y las pruebas de las hipótesis de recombinación libre (*Theta* = 0.5, hipótesis nula) versus *linkage* (*Theta* < 1/2, hipótesis alternativa) son los objetivos de los estudios de *linkage*.

El índice *lod* (*Z*) es el logaritmo de base 10 del siguiente índice: la probabilidad de que un determinado arreglo entre el alelo del marcador y el alelo de la en-

fermedad se presente con una frecuencia de recombinación menor a 0.5, dividido por la probabilidad de que esta misma situación se presente si la recombinación fuera libre (mayor o igual a 0.5). El índice *lod* sirve de medida al peso de los datos en favor de la hipótesis de enlace.

Los datos útiles en los estudios provienen de familias numerosas, con varias generaciones y con varios sujetos afectados, ya que los eventos de recombinación se detectan con base en los genotipos, y como consecuencia, a los fenotipos, transmitidos de los padres a la descendencia. En los estudios de enlace génico, los investigadores recopilan información sobre los fenotipos y genotipos de los miembros de los *pedigrees*; dicha labor usualmente toma mucho tiempo y consume cuantiosos recursos económicos.

El método directo de enlace génico se define por la observación directa y el conteo de los recombinantes y no-recombinantes. Este método se vuelve muy difícil cuando los parámetros del análisis no se conocen adecuadamente, como por ejemplo: el modo de herencia, la fase de los alelos, y los valores fluctuantes de la penetrancia. Por lo tanto, el determinar el poder estadístico en las familias en las que se realizarán los estudios de enlace génico, se ha vuelto más relevante, en especial en las llamadas enfermedades complejas, en las que se desconocen varios de los parámetros señalados anteriormente (33).

Morton (1955)(16) demostró que para evidenciar *linkage* con un nivel de significancia de 0.001 y una potencia estadística de 0.99, se requiere un índice *lod* mayor a 3 y, de manera similar para evidenciar la ausencia de *linkage* se requiere que *Z* sea menor a -2. Estos criterios fueron los adoptados por el Comité del Mapeo del Genoma Humano (10), y además se añadió el requisito de la replicación de los resultados encontrados por dos laboratorios distintos y de manera independiente.

El descubrimiento por Kan y cols. (13) respecto al primer polimorfismo dentro de la molécula del DNA obtenido por medio del corte de enzimas de restricción, mismas que generan fragmentos de tamaño variable (en inglés conocidos como *Restriction Fragments Length Polymorphisms*, PLFR), permitió ampliar el uso de la técnica de enlace génico (4). En el año de 1981 se conocían 23 loci que contenían polimorfismos de ADN; en el momento actual (1994), se conocen cerca de 4,000 de estos marcadores distribuidos a lo largo de todo el genoma y compilados en un catálogo (2,10).

Esta gran disponibilidad de marcadores genéticos, ha permitido generar haplotipos (grupo de alelos) de regiones cromosómicas en particular, y de esta manera poder evaluar extensas áreas del genoma. Por otro lado, se pueden generar, también, mapas de exclusión, mismos que facilitan la búsqueda de los genes, ya que hacen más pequeña la búsqueda y es posible avocarse entonces, a las regiones en las que no se ha buscado.

Sin embargo, es importante recordar que el método de enlace génico es una prueba paramétrica, por lo que los resultados dependen de la manera como se han especificado los parámetros, por lo que es difícil

generalizar sus resultados, debido a la gran variabilidad que existe en los valores de dichos parámetros (modo de herencia, frecuencia de fenocopias, frecuencia de los alelos, etc.). En este sentido, el mapeo molecular de los genes responsables de las enfermedades mentales es una de las empresas más difíciles dentro del proyecto del genoma humano (24,25), debido a que son pocos los parámetros que se han establecido.

Estudios de simulación

Un abordaje muy interesante ante este problema son los estudios de simulación por computadora (33). Este tipo de estudios utiliza los datos procedentes de familias potenciales para estudios de enlace, y permite correr el análisis de enlace génico con "Marcadores Polimórficos Simulados" (MPS), los cuales se computan en estrecho enlace con la enfermedad a estudiar, de tal manera que los resultados obtenidos de este análisis serían los máximos que se pueden esperar de ser real esta situación.

Este tipo de estudios son útiles para diseñar y evaluar la factibilidad de llevar a cabo estudios clínicos muy prolongados y costosos, antes del trabajo de campo. También permiten desarrollar pruebas estadísticas, que se aplicarán a los datos reales una vez recopilados.

En contraparte, es importante tomar en cuenta que se trata de un cálculo realizado con parámetros específicos o simulados y que la probabilidad de encontrar enlace génico depende en qué tanto se parezcan los datos reales de los marcadores a los estimados en la simulación.

En este sentido, uno de los objetivos de la simulación es analizar los datos bajo diferentes tipos de parámetros, de modo tal que nuestra expectativa simulada sea un promedio de las diferentes opciones que se puedan dar con los datos reales (en el caso de este estudio de familias con trastorno obsesivo-compulsivo).

El resultado final es lo que se llama el poder de detectar enlace génico (*Linkage Power*), y le llamaremos PE. El PE consiste en la proporción de veces que el índice *lod* se encuentra por arriba de 3. Ejemplificar un PE = 100 % significa que si existe enlace génico, siempre será detectado, por supuesto empleando este grupo de familias, y que los resultados de los marcadores polimórficos semejen a los computados. Un PE = 10 %, significa que hay sólo una oportunidad en 10 de que las familias y los marcadores genéticos seleccionados, puedan detectar el enlace génico.

En este trabajo emplearemos familias con trastorno obsesivo compulsivo (TOC). En este padecimiento es poco lo que se conoce de los mecanismos genéticos subyacentes (20). La frecuencia del TOC es significativamente mayor en parientes de pacientes con TOC que en la población en general (11,22,30,31,32,35). Otro dato importante consiste en la descripción común de TOC junto con el Síndrome de Tourette (ST) y tics crónicos múltiples (TCM) (27,28,30). Se ha sugerido que la triada (TOC, ST y TCM) constituyen parte de un mismo espectro en donde cada entidad representa

variantes de la expresión del mismo gen. Esta hipótesis ha sido parcialmente comprobada por los estudios de segregación, en los que se estudia a familias de probandos tanto con TOC (18) como con ST (29), y los patrones de herencia encontrados son consistentes. Hasta el momento no se han realizado estudios de mapeo genético en este padecimiento; sin embargo, como mencionamos en líneas anteriores, es posible que existan genes importantes en la etiología de la enfermedad y que éstos puedan ser localizados por medio de estudios de enlace génico en las familias adecuadas, las cuales se determinarán con el análisis de simulación.

Objetivo

Determinar por medio de simulación computacional, el poder estadístico de familias candidatas con trastorno obsesivo-compulsivo, para hacer un estudio de mapeo cromosómico por medio de la técnica de enlace génico y con el uso de marcadores polimórficos.

Métodos

Los pacientes fueron captados por la División de Investigaciones Clínicas del Instituto Mexicano de Psiquiatría, incluyendo a todo paciente que cumpliera con los requisitos como el haberse tratado en consulta externa y hospitalización, previo consentimiento de su médico tratante. Los diagnósticos se realizaron por medio de una entrevista estructurada (DIS) (5), un instrumento de tamizaje de psicopatología para niños (6), y el criterio clínico de dos psiquiatras con base en el DSM-III-R (1).

La evaluación clínica adicional a la entrevista estructurada de los probandos y de los familiares que reunieron criterios para TOC, ST o TCM que se realizó para confirmar el diagnóstico y evaluar la severidad de los trastornos, consistió en la aplicación de la escala Yale-Brown para trastorno obsesivo compulsivo (EYBOC) en su versión en español (19); y una lista de verificación de síntomas de personalidad obsesiva-compulsiva (basada en la versión autoaplicable del SCID-P) (9) y la escala de evaluación global de tics y Tourette (8).

Todos los evaluadores clínicos fueron psiquiatras y recibieron un breve curso de entrenamiento para la aplicación de los instrumentos. Los probandos con TOC fueron evaluados por un investigador y los familiares fueron evaluados por otros investigadores de manera ciega al diagnóstico de los probandos. La información sobre los familiares no disponibles se obtuvo de manera indirecta por medio de sus familiares, empleando el mismo instrumento estructurado. Esta información se complementó por medio de entrevistas telefónicas, información por otros parientes que se consideraron confiables y por expedientes médicos.

A todos los sujetos y familiares que se consideraron para participar, se les pidió firmar una hoja de consentimiento. En los sujetos menores de edad este consentimiento fue otorgado por los padres.

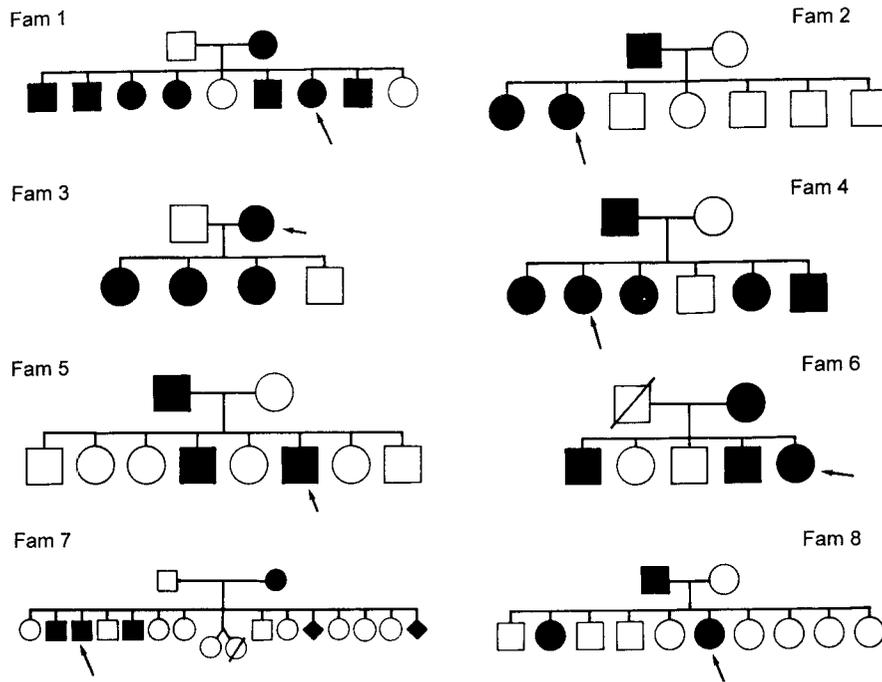


Figura 1.

Se consideraron como candidatas para mapeo cromosómico todas aquellas familias que presentaron cuando menos dos sujetos afectados, distribuidos en dos generaciones, y la presencia de hermanos sanos; disposición para participar de ambos padres si el caso índice es joven. De estas familias se seleccionaron aquellas en las que los probandos tenían también afectado a alguno de sus padres.

Resultados

Se reclutaron en los servicios clínicos del Instituto Mexicano de Psiquiatría 73 pacientes con trastorno obsesivo-compulsivo, definidos de acuerdo a los criterios diagnósticos del DSM-III-R. De estos probandos únicamente ocho tenían familias que llenaban los criterios de selección (fig. 1).

Las familias fueron analizadas por medio del cálculo del índice *lod*, a las estimaciones convencionales de la frecuencia de recombinación (0.01, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4).

Estos cálculos fueron realizados por medio del programa computacional *LINKAGE* (donado al Dr. Nicolini por el Dr. J. Ott).

A las familias seleccionadas se les practicaron varios análisis, los cuales se ilustran en las tablas 1 a 5.

En las tablas 1, 2 y 3 se presentan los resultados de las familias analizadas bajo tres diferentes estimaciones de la penetrancia (porcentaje de individuos que manifiestan el fenotipo entre el número total de individuos que son portadores del gen) y se asumió un conocimiento del genotipo para el MPS en el 100% de los sujetos. Las variaciones del índice *lod* con los tres valores de la penetrancia se ilustra en la figura 2.

En las tablas 4 y 5 se presentan los resultados de las familias analizadas bajo los siguientes parámetros:

TABLA 1
Cálculo del índice *lod*
(Penetrancia 100 %, genotipos 100 %)

Frecuencia de recombinación	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4
Familias 1	2.40	1.99	1.53	1.01	0.42
2	1.80	1.48	1.12	0.72	0.27
3	0.90	0.72	0.51	0.29	0.09
4	1.50	1.23	0.92	0.57	0.21
5	2.10	1.74	1.33	0.86	0.34
6	1.20	0.97	0.71	0.43	0.14
7	3.61	3.01	2.35	1.59	0.73
8	2.40	1.99	1.53	1.01	0.42
Lod total	15.91	13.13	10.00	6.48	2.62

Nota: el valor significativo del índice *lod* es mayor de 3.

TABLA 2
Cálculo del índice *lod*
(Penetrancia 80 %, genotipos 100 %)

Frecuencia de recombinación	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4
Familias 1	2.16	1.77	1.34	0.85	0.33
2	1.40	1.13	0.83	0.50	0.17
3	0.80	0.63	0.44	0.25	0.07
4	1.36	1.10	0.81	0.49	0.17
5	1.63	1.32	0.98	0.60	0.22
6	1.03	0.82	0.59	0.34	0.11
7	2.82	2.32	1.77	1.16	0.48
8	1.85	1.50	1.12	0.71	0.26
Lod total	13.05	10.59	7.88	4.90	1.81

Nota: el valor significativo del índice *lod* es mayor de 3.

TABLA 3
Cálculo del índice *lod*
(Penetrancia 80 %, genotipos 100 %)

Frecuencia de recombinación		0.0	0.1	0.2	0.3	0.4
Familias	1	1.91	1.54	1.13	0.69	0.24
	2	1.07	0.84	0.60	0.34	0.10
	3	0.72	0.56	0.39	0.21	0.06
	4	1.25	1.00	0.73	0.43	0.14
	5	1.22	0.97	0.70	0.41	0.13
	6	0.89	0.70	0.49	0.28	0.08
	7	2.14	1.74	1.30	0.82	0.31
	8	1.38	1.10	0.80	0.47	0.16
Lod total		10.58	8.45	6.14	3.65	1.22

Nota: el valor significativo del índice *lod* es mayor de 3.

una penetrancia del 80 %, y el conocimiento del genotipo para el MPS en el 75 % y 50 % de los sujetos, respectivamente. De manera adicional las variaciones del índice *lod* con los tres valores del número de genotipos conocidos se ilustra en la figura 3.

TABLA 4
Cálculo del índice *lod*
(Penetrancia 80 %, genotipos 75 %)

Frecuencia de recombinación		0.0	0.1	0.2	0.3	0.4
Familias	1	1.27	1.01	0.74	0.44	0.14
	2	0.86	0.67	0.47	0.26	0.08
	3	0.80	0.63	0.44	0.25	0.07
	4	0.54	0.40	0.26	0.13	0.03
	5	1.63	1.32	0.98	0.60	0.22
	6	0.43	0.32	0.21	0.10	0.02
	7	1.84	1.50	1.12	0.70	0.26
	8	1.80	1.20	0.85	0.67	0.25
Lod total		9.17	7.05	5.07	3.15	1.07

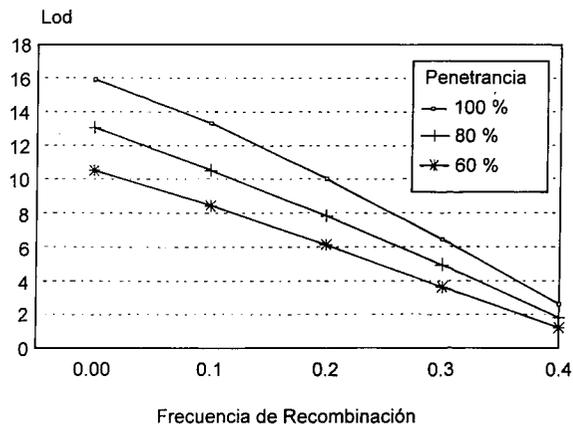
Nota: el valor significativo del índice *lod* es mayor de 3.

Se determinó al azar, en cuáles sujetos se desconocía el genotipo. En situaciones reales, el desconocimiento de los genotipos se puede dar por diversas razones como: que los sujetos se negaran a participar, pérdida de la muestra de ADN, cantidad insuficiente de ADN, etc.

TABLA 5
Cálculo del índice *lod*
(Penetrancia 80 %, genotipos 50 %)

Frecuencia de recombinación		0.0	0.1	0.2	0.3	0.4
Familias	1	0.59	0.44	0.29	0.14	0.04
	2	0.36	0.26	0.17	0.08	0.02
	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	0.88	0.69	0.49	0.27	0.08
	5	0.08	0.05	0.03	0.01	0.00
	6	1.04	0.80	0.54	0.29	0.08
	7	1.10	0.88	0.63	0.37	0.11
	8	0.41	0.28	0.18	0.07	0.00
Lod total		4.46	3.40	2.33	1.23	0.25

Nota: el valor significativo del índice *lod* es mayor de 3.



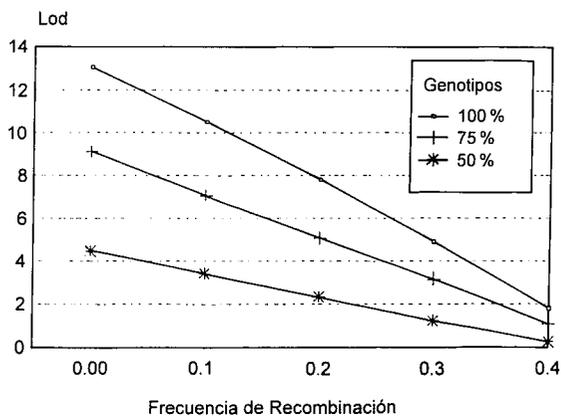
Nota: el valor significativo del índice *lod* es mayor de 3.

Figura 2. Variaciones en el índice *lod* con penetrancia variable. (Asumiendo el 100 % de los genotipos)

Se empleó únicamente un valor de la penetrancia en la estimación de los índices *lod* con desconocimiento de genotipos, debido a que de acuerdo a información anterior (18), la penetrancia que mejor encaja en las familias de sujetos con trastorno obsesivo-compulsivo es la de 80 %.

Las características del "Marcador Polimórfico Simulado" (MPS) fueron las siguientes: un sistema de dos alelos, cada uno con una frecuencia del 50 %, distribuidos normalmente en la población y en equilibrio de Hardy-Weinberg, es decir, bajo condiciones de uniones entre sujetos al azar y ausencia de fuerzas tales como mutación, de tal manera que las frecuencias de los genotipos en la población depende únicamente de la frecuencia de los genes.

Uno de los alelos del MPS siempre se cosegregó de manera conjunta con el alelo mutado de la enfermedad. Para la enfermedad los parámetros del alelo mutado fueron los siguientes: frecuencia del alelo mutado del 2 % (tomada de la frecuencia de la enfermedad en la población) (14).



Nota: el valor significativo del índice *lod* es mayor de 3.

Figura 3. Variaciones en el índice *lod* con disposición variable de genotipos. (Asumiendo penetrancia del 80 %)

Las ocho familias estudiadas alcanzaron un índice *lod* total superior a 3, independientemente de los valores de la penetrancia, y siempre cuando la frecuencia de recombinación fuese menor a 0.4.

Únicamente en el análisis en donde consideramos una penetrancia del 80 % y un porcentaje de genotipos conocidos en sólo el 50 % de los sujetos estudiados, el índice *lod* fue superior a 3, sólo hasta una frecuencia de recombinación del 0.1.

Estos datos nos indican que las familias estudiadas son útiles para llevar a cabo estudios de enlace génico. Adicionalmente, el desconocimiento del genotipo molecular, hasta en el 50 % de los sujetos, aun nos permite evidenciar el enlace con la restricción de una frecuencia de recombinación del 0.1.

Discusión

Es importante recordar que el método de enlace génico es una prueba paramétrica, por lo que los resultados dependen de la manera como se han especificado los parámetros, y si éstos coinciden con los verdaderos mecanismos de herencia del TOC.

De hecho, se ha sugerido que la causa por la cual se han obtenido resultados contrarios y no reproducibles en los estudios de mapeo de los genes para la esquizofrenia y para los trastornos afectivos, recae en la inadecuada especificación de los parámetros empleados en el análisis del enlace génico (15).

Por ejemplo, la gran variabilidad que existe en los valores de dichos parámetros puede limitar la potencia de las estimaciones, por lo que frecuentemente es difícil generalizar los resultados de estudios de *linkage*. Una explicación que no hemos considerado, para la no reproducibilidad de los resultados de los estudios de enlace génico, es la de la heterogeneidad genética (existencia de varias formas genéticas con un fenotipo clínico idéntico).

Si solamente una parte de las familias que tienen la enfermedad están enlazadas con el marcador, entonces el índice *lod* total estaría compuesto por familias con contribución positiva y otras con contribución negativa para los datos en favor al *linkage*. En este punto sería importante separar a dichas familias (enlazadas y no enlazadas) y tratar de buscar diferencias clínicas en la enfermedad, o bien, reunir una muestra mayor de familias con el enlace positivo entre el marcador y la enfermedad. Otra explicación para la no reproducibilidad, es el alto número de fenocopias (formas no genéticas de la enfermedad).

En trastornos psiquiátricos, la información clínica varía mucho entre los pacientes, por la gran variedad

de la sintomatología, edad de inicio variable y manera de recolección de los datos, ya que en algunos casos los diagnósticos no se basan en información por entrevista directa (24). Estos problemas pueden provocar falsos negativos, como serían aquellos pacientes en quienes no se reconoce que padecen la enfermedad, o bien los que la han padecido en algún momento de su vida.

Las estrategias que se están empleando en el presente estudio para tratar de solucionar estos problemas son: análisis de pares de familiares y pares de hermanos afectados, en donde se necesitan muestras considerables, pero en donde no es necesaria la especificación de varios de los parámetros tal como el modo de herencia, o el número de fenocopias (3).

De manera adicional se sabe que el método de "pares de hermanos", que consiste en que cada par compartirá la mitad de su material genético, es capaz de detectar el efecto de un solo gen aun cuando estén interactuando otros genes, o bien, condiciones ambientales. Es necesario hacer mención del reciente trabajo publicado por Hammer y cols. (7), en donde empleando esta estrategia metodológica y en una muestra no tan grande, fueron capaces de localizar un gen que confiere una importante susceptibilidad genética para el desarrollo de la homosexualidad masculina.

Algunas otras metodologías en desarrollo, por ejemplo, el análisis de la transmisión de las enfermedades psiquiátricas bajo modelos más complejos de herencia como *linkage* con dos *loci* principales, o genes modificadores en otros cromosomas, o bien un mapa del genoma con una resolución mayor a la ya alcanzada, pueden tener un favorable impacto en el área (25).

Los estudios de asociación también constituyen una herramienta interesante, sobre todo en la búsqueda de genes candidatos (21). Desde el punto de vista molecular, lo que parece ser más promisorio es la detección de nuevos polimorfismos moleculares generados con la máquina llamada "reactor en cadena de la polimerasa" (RCP), utilizando elementos repetitivos del genoma, y lo que hace posible generar sondas con mucho mayor poder polimórfico a los tradicionales PLFR. También se han postulado la búsqueda de zonas homólogas y desiguales en individuos parientes entre sí, y el análisis del ADN mitocondrial (3).

Todos estos métodos, aunados a los estudios de simulación por computadora, serán de gran utilidad para la mejor selección e implementación de las herramientas necesarias en la detección de los genes responsables de la susceptibilidad a enfermedades mentales como el trastorno obsesivo-compulsivo.

REFERENCIAS

1. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. (3a. edición revisada). DSM-III-R, 1987.
2. ANDERSON C: Genome project plans described. *Science*, 260:152-153, 1993.
3. BARON M: Novel strategies in molecular genetics of mental illness. *Biological Psychiatry*, 35: 757-760, 1994.
4. BOTSTEIN D, WHITE R, SKOLNICK M, DAVIS R: Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet*, 32: 314-331, 1980.
5. CARAVEO J, GONZALEZ C, RAMOS L: Concurrent validity of the DIS: experience with psychiatric patients in Mexico City. *Hispanic J Behav Sciences*, 13(1):63-77, 1991.

6. GOMEZ M, RICO H, CARAVEO J, GUERRERO G: Validez de un instrumento de tamizaje en niños (RQC). *Anales. Instituto Mexicano de Psiquiatría*, 4:204-8, 1993.
7. HAMMER D, HU S, MAGNUSON V, HU N, PATTATUCCI A: A linkage between DNA markers on the X chromosome and male sexual orientation. *Science*, 261:621-327, 1993.
8. HARCHERIC H: Development of tics and Tourette's scale. *J Am Acad Child Psych*, 23(29):153-160, 1984.
9. 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.
10. KARGER (edit): Human Gene Mapping 9. Paris Conference. *Cytogenet and Cell Genet*, 46:1-762, 1987.
11. JENIKE M: Obsessive-compulsive and related disorders. A hidden epidemic. *N Eng J Med*, 321(8):539-41, 1989.
12. JOFFE R, SWINSON R, REGAN J: Personality features of obsessive-compulsive disorder. *Am J Psychiatry*, 1988; 145: 1127-9.
13. KAN Y, DOZY A: Polymorphism of DNA sequence adjacent to human beta globin structural gene, relationship to sickle mutation. *Proc Nat Acad Sci. USA*, 75:5631-5635, 1978.
14. KARNO M, GOLDING J, SORENSON S, BURNAM M: The epidemiology of obsessive-compulsive disorder in five US communities. *Arch Gen Psychiatry*, 45:1094-9, 1987.
15. KELSOE J, GINNS E, EGELAND J, GERHARD D, GOLDSTEIN 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*, 342:238-243, 1989.
16. MORTON N: Sequential tests for the detection of linkage. *Am J Hum Genet*, 7:277-318, 1955.
17. Nicolini H: Los nexos genéticos (linkage) de las entidades psiquiátricas. *Salud Mental*, 12(2):47-51, 1989.
18. NICOLINI H, HANNA G, BAXTER L, SCHWARTZ J, WEISSBECKER K, SPENCE M A: Segregation analysis of obsessive-compulsive and associated disorders. Preliminary results. *Ursus Medicus*, 1(1):25-28, 1991.
19. 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. Instituto Mexicano de Psiquiatría*, 3:25-8, 1991.
20. NICOLINI H, MEJIA J M, MERINO J, SANCHEZ DE CARMONA M: Estudio del paciente obsesivo-compulsivo en una muestra mexicana. *Salud Mental*, 15(4):1-11, 1992.
21. Nicolini H, Camarena B, De La Fuente J R: Mapeo cromosómico molecular en enfermedades psiquiátricas. *Acta Psiquiátrica y Psicológica de America Latina*, 39(1):45-49, 1993.
22. NICOLINI H, SANCHEZ DE CARMONA M, WEISSBECKER K: Family study of obsessive-compulsive disorder on a Mexican population. *Archives of Medical Research*, 24(2):193-198, 1993.
23. NICOLINI H: Editorial. Editor Invitado. La Biología Molecular en la Medicina Mexicana. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 36(1):1, 1993.
24. NICOLINI H, DE LA FUENTE J R: Epidemiología genética y molecular de los trastornos psiquiátricos. *Rev Fac Medicina, UNAM*. 37(2):58-69, 1994.
25. NICOLINI H, MADRID V: La biología molecular en psiquiatría. *Salud Mental*, 17(1):54-62, 1994.
26. OTT J: *Analysis of Human Genetic Linkage*. Johns Hopkins University Press, USA. 1992.
27. 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*, 38:1091-3, 1981.
28. PAULS D, TOWBIN K, LECKMAN J, ZAHNER G, COHEN D: Gilles de la Tourette's syndrome and obsessive-compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry*, 43:1180-2, 1986.
29. 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*, 315:9937, 1986.
30. PITMAN R, GREEN R, JENIKE M, MESULAM M: Clinical comparison of Tourette's disorder and obsessive-compulsive disorder. *Am J Psychiatry*, 144:1166-71, 1987.
31. RAPOPORT J: Recent advances in obsessive-compulsive disorder. *Neuropsychopharmacology*, 5:1-10, 1991.
32. RASMUSSEN S, TSUANG M: Clinical characteristics and family history in DSM-III obsessive-compulsive disorder. *Am J Psychiatry*, 143:317-22, 1986.
33. RICE J: The use of computer simulation in genetic linkage studies. *Alcohol Health and Research World*, 14:(3):253-257, 1990.
34. SALAMANCA F: *Citogenética Humana*. Primera Edición Edit. Médica Panamericana, México, 1990.
35. Swedo S, Rapoport J, Leonard H, Lenane M, Cheslow D: Obsessive-compulsive disorder in children and adolescents. *Arch Gen Psychiatry*, 46:335-41, 1989.