

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós - Graduação em Medicina: Ciências Médicas**

Tese de Doutorado

**Estudo de Marcadores Moleculares Relacionados a Cadeia dos
Retinóides (TTR e RXR β e suas Relações com Endofenótipos
Clínicos e Dismórficos em Esquizofrenia)**

Autora: Maria Inês Lobato

Porto Alegre

2004

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós - Graduação em Medicina: Ciências Médicas**

Tese de Doutorado

**Estudo de Marcadores Moleculares Relacionados a Cadeia dos
Retinóides (TTR e RXR β e suas Relações com Endofenótipos
Clínicos e Dismórficos em Esquizofrenia)**

Autora: Maria Inês Lobato

Orientador: Prof. Dr. Paulo Silva Belmonte-de-Abreu

Porto Alegre

2004

PESQUISADORES / INSTITUIÇÃO

Paulo Belmonte de Abreu / Prodesq / HCPA / UFRGS

Ann Godmann / Dana Faber Cancer Institute / Harvard University\ EUA

Joana Palha / Universidade do Minho-Braga\ Portugal

Maria Helena Azevedo e Cols.Universidade de Coimbra\ Portugal

Serviço de Genética-HCPA - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

SUMÁRIO

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 4 |
| 2 OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICOS | 7 |
| 2.1 Geral..... | 7 |
| 2.2 Específicos | 7 |
| 3 EMBASAMENTO TEÓRICO..... | 8 |
| 3.1 Cadeia Metabólica da Vitamina A | 8 |
| 3.1.1 CRABPs..... | 9 |
| 3.1.2 TTR (Transtirretina)..... | 10 |
| 3.2 Ácido Retinóico e Esquizofrenia..... | 13 |
| 3.2.1 Anomalias Retinóide-Relacionadas e Esquizofrenia..... | 13 |
| 3.2.2 Loci Convergente..... | 144 |
| 3.2.3 Expressão de Genes Candidatos são Regulados por Ácido Retinóico | 15 |
| 3.3 Marcadores Cronológicos | 16 |
| 3.3.1 Anomalias Físicas Menores | 17 |
| 3.3.2 Dermatoglifos..... | 18 |
| 3.4 Sistema Diagnóstico..... | 18 |
| Referências..... | 20 |
| 4 ARTIGOS EM INGLÊS | |
| PHENOTYPICAL MARKS ASSOCIATION BETWEEN SCHIZOPHRENIC AND BIPOLAR PATIENTS COMPARED WITH CONTROL GROUP | 266 |
| STUDY OF MOLECULAR MARKERS RELATED TO THE RETINOID CASCADE (ttr AND rXRB) AND THEIR RELATIONS WITH CLINICAL AND DYSMORPHIC ENDOPHENOTYPES IN SCHIZOPHRENIA | 433 |
| NR4A2 AND SCHIZOPHRENIA: LACK OF ASSOCIATION IN A PORTUGUESE/BRAZILIAN STUDY | 633 |
| 5 ARTIGOS EM PORTUGUÊS | |
| ASSOCIAÇÃO DE MARCADORES FENOTÍPICOS EM PACIENTES ESQUIZOFRÊNICOS E BIPOLARES COMPARADOS COM GRUPO CONTROLE..... | 69 |
| ESTUDO DE MARCADORES MOLECULARES RELACIONADOS A CADEIA DOS RETINÓIDES (TTR E RXR β) E SUAS RELAÇÕES COM ENDOFENÓTIPOS CLÍNICOS E DISMÓRFICOS EM ESQUIZOFRENIA | 88 |
| NR4A2 E ESQUIZOFRENIA: AUSÊNCIA DE ASSOCIAÇÃO NUM ESTUDO PORTUGUÊS/BRASILEIRO..... | 108 |
| Anexos | 1177 |

1 INTRODUÇÃO

Apesar de todos os avanços da tecnologia aplicada à medicina nos últimos anos, esquizofrenia ainda é uma doença de repercussão catastrófica para o indivíduo e seus familiares. Esquizofrenia é uma doença crônica incapacitante que afeta aproximadamente 1% da população em todo o mundo. É considerada a doença mais grave entre todas as doenças psiquiátricas e causa sintomas como afeto embotado, avolia, transtorno do pensamento, alucinações auditivas, isolamento social associado a um curso deteriorante e crônico. Embora a etiologia siga desconhecida, evidências originadas de estudos com famílias, gêmeos e de adoção demonstram que aspectos genéticos estão envolvidos na etiologia, porém a falha na concordância de 100% em gêmeos monozigóticos implica que fatores epigenéticos ambientais são necessários para a instalação da doença (1). Esforços consideráveis têm sido feitos na tentativa de identificar um gen causador, porém nenhum foi ainda identificado. Por esta razão, tem crescido o interesse em hipóteses que liguem mecanismos tanto genéticos com ambientais. Fatores ambientais como hormônios e vitaminas interagem em diferentes receptores nucleares interferindo na transcrição de diversos genes regulando seu desenvolvimento. Entre estes, os retinóides e os hormônios tireóideos (2) são considerados bons candidatos a ter um importante papel etiológico na esquizofrênia. Vitamina A na forma de retinóide, é transportado pela TTR (transtirretina) ligado a proteínas através do plexo coróide, disponibilizando o ácido retinóico ao desenvolvimento cerebral. É interessante que a transtirretina é carregadora tanto do retinol como da tiroxina no plasma e no líquido. Uma vez dentro das células ambas são convertidas em moléculas metabólicas ativas (ácido retinoico e T3), que interagem com seus respectivos receptores nucleares (3,4).

O envolvimento dos retinóides e do hormônio tireóideo no desenvolvimento do SNC tem sido implicado há longo tempo (ex: migração neuronal, sinaptogenesis, regulação axonal e dendrítica), além da já conhecida regulação dos genes dos receptores dopaminérgicos (3,4). Afora, esquizofrenia, o metabolismo alterado tanto do retinóide como do hormônio tireóideo também têm sido implicado na etiologia da depressão e do cretinismo. Em 1998, Goodman propôs um modelo fisiopatológico para a esquizofrenia envolvendo a cascata dos retinóides. Vitamina A (retinóide) é um nutriente essencial envolvido na regulação e expressão gênica e é, particularmente, ativo no neurodesenvolvimento cerebral. Evidências clínicas que conectam retinóides à esquizofrenia são baseadas na observação que tanto o déficit quanto a toxicidade por retinóide resulta em sintomatologia semelhante à esquizofrenia (ex., transtorno do pensamento, deficiência mental, alargamento ventricular, agenesia do corpo caloso, microcefalia e uma variedade de malformações congênitas maiores e menores) (5). Outras linhas de evidências que conectam retinóides à esquizofrenia originam-se de estudos de loci gênicos e de controle transcricional. Entre estes estão os genes do receptor dopaminérgico-2, sinapsin e dopamine β -hydroxilase, os quais na sua expressão requerem ativação pelos retinóides (6, 7, 8, 9).

Dados farmacológicos, histológicos e de neuroimagem relacionam disfunção no sistema dopaminérgico à esquizofrenia, portanto a procura de marcadores moleculares (polimorfismo / mutação) nestes receptores, tanto em indivíduos afetados quanto em seus familiares, poderá nos fornecer substrato molecular para o entendimento de pelo menos algumas formas de esquizofrenia (2).

Um dos maiores problemas na pesquisa da esquizofrenia refere-se ao diagnóstico. A definição de características da doença é especialmente útil aos clínicos para a abordagem

diagnóstica bem como para o monitoramento da resposta ao tratamento. Entretanto, a esquizofrenia é, provavelmente, a mais heterogênea dentre os transtornos psiquiátricos e suas múltiplas formas clínicas tornam a pesquisa, neste campo, mais complexa quando comparada a outros transtornos psiquiátricos. Com objetivo de tentar encontrar umnexo subjacente às etiologias é necessário, à pesquisa de fenótipos clínicos (dependente de sintomas fenomenológicos) e “marcadores fenomenológicos” (independente dos sintomas) que possam definir a doença de forma estatística (10).

2 OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICOS

2.1 GERAL

Verificar a associação entre metabolismo de Vit. A (cadeia do ácido retinóico, dismorfismo e esquizofrenia).

2.2 ESPECÍFICOS

- Estudo de três marcadores moleculares envolvidos no metabolismo da Vitamina A.
- Identificação de endofenótipos clínicos em pacientes esquizofrênicos segundo OPCRIT (Esquizofrenia segundo ao CID-10 e ao DSM-IV).
- Aferição de marcadores antropométricos em pacientes esquizofrênicos e sua associação com endofenótipos clínicos e com marcadores moleculares (RXR beta e TTR).
- Aferição de marcadores antropométricos em uma amostragem de pacientes esquizofrênicos comparados com indivíduos normais e bipolares.

3 EMBASAMENTO TEÓRICO

3.1 CADEIA METABÓLICA DA VITAMINA A

Níveis dietéticos adequados de vitamina A são indispensáveis para o desenvolvimento embrionário vertebral normal. Entretanto, inúmeros estudos têm demonstrado que a exposição a níveis elevados de retinóides também produz uma ruptura no desenvolvimento de vários tecidos, principalmente do SNC. O ácido retinóico, derivado biológico ativo da vitamina A, provoca seus efeitos através dos receptores nucleares (RXR e RAR, subtipos α , β , γ) que agem como reguladores transcricionais dependentes de ligantes (11).

Retinol é secretado em seus locais de armazenamento e circula no sangue ligado a RBP. O principal local de armazenamento de vitamina A e, correspondentemente, de síntese de RBP é o fígado, mas também outros tecidos, incluindo tecido adiposo, rins, pulmões, coração, músculo esquelético, olhos e testículos possuem expressões desta proteína. A secreção de RBP pelo fígado é fortemente ligada à disponibilidade de retinol. Na deficiência de vitamina A, a secreção de RBP está inibida e a proteína acumula-se no retículo endoplasmático do hepatócito. Na presença do retinol, RBP associa-se a ele, move-se do aparelho de Golgi e então é secretada no sangue na forma de uma haloproteína. No sangue, RBP é ligada a transtiretina, a qual a ela associada funciona como carregadora de hormônios tireóideos. O complexo Transtiretina-RBP-Retinol serve para transportar retinol na circulação e liberar para tecidos alvos. RBP é essencial para mobilização de retinol a partir do armazenamento hepático em momentos de ingestão dietética insuficiente, mas não é essencial para a liberação de retinol para os tecidos. Na ausência de RBP, o suprimento de vitamina A

poderá ocorrer com ésteres de retinil recentemente absorvidos, ou pela presença de β -carotene circulante em quilomícrons (11,12).

CRBP-I e II foram as primeiras proteínas de ligação intracelulares a serem descobertas. Ambas reagem tanto com all-trans-retinol como com o all-trans-retinal. A afinidade de ligação da CRBP-I com o retinol é 100 vezes maior que a CRBP-II, e ambas apresentam a mesma afinidade ao retinal. Diferem de forma significativa quanto à distribuição tecidual. CRBP-I no adulto é particularmente abundante no fígado, rins, pulmões e órgãos reprodutivos, além de no plexo coróide cerebral e nas células endoteliais pigmentares do olho. No adulto, CRBP-II está restrita ao intestino delgado, localizada nos enterócitos maduros dos vilos da mucosa epitelial. CRBP-I tem as funções de regulação do armazenamento de Vitamina A e de síntese do ácido retinóico. Já CRBP-II tem papel inicial no processo de absorção do retinol originado da alimentação (11, 12).

3.1.1 CRABPs

Duas proteínas de ligação (I e II) com alta afinidade por ácido all-trans-retinóico foram identificadas. As duas isoformas têm diferentes padrões de expressão através de estágios de desenvolvimento celular. CRABP-I está expressa no adulto de forma mínima, enquanto a II está expressa somente na pele, útero, ovário e plexo coróide. Ambas são amplamente expressas no embrião, entretanto geralmente não co-habitam as mesmas células. CRAB-I modula as atividades enzimáticas que catalisam a transformação do ácido retinóico. Ambas estão presentes no núcleo e devem servir para a liberação do ácido retinóico ao fator de

transcrição, que é ativado pelo receptor de ácido retinóico (RAR). Estudos cinéticos demonstraram que CRAB-I age como um veículo passivo que liga e libera seus ligantes conforme a concentração dos seus gradientes. Já CRABP-II libera o ácido retinóico para o RAR através de um processo de colisão direto e sua expressão excessiva estaria envolvida em um marcado aumento da atividade transcricional do RAR.(11, 12).

3.1.2 TTR (Transtirretina)

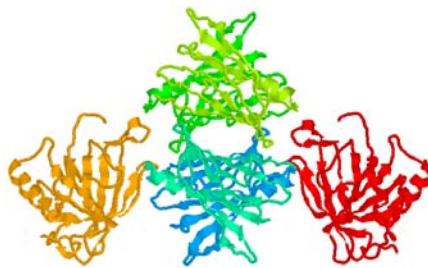


Figura 1 - 2 RBP + 2 retinol + T4

A transtirretina foi pela primeira vez identificada no líquido cefalorraquidiano em 1942 e posteriormente observada no soro. É uma proteína transportadora do retinol (RBP) e de tiroxina (T4). A maior parte da TTR presente na circulação sanguínea é proveniente do fígado e do líquido cefalorraquidiano do plexo coróide. Depois de sintetizada nos plexos coróides (responsável pela produção de líquido cefalorraquidiano e que faz parte da barreira hemato-encefálica), a TTR é secretada no líquido cefalorraquidiano onde desempenha a função de principal transportadora de hormônios da tireóide. O principal local de degradação da TTR é o fígado, não havendo sua degradação no sistema nervoso central. A concentração de RNA mensageiro para a TTR é maior nos plexos coróides

do que no fígado. Outros locais de síntese de TTR incluem o saco vitelino, olho, pâncreas e, em quantidades mínimas, o estômago, coração, músculo esquelético e baço. (12). A síntese da TTR é muito conservada tanto ontogênica quanto filogeneticamente. Por esta razão, julgou-se que a TTR era essencial no transporte de hormônio tireóideo, especialmente para o cérebro. Entretanto estudos com ratos knock-out demonstraram que ela não era necessária. O seu envolvimento no metabolismo dos retinóides no cérebro ainda é desconhecido. Realça-se que vários estudos apontam para a presença de níveis alterados de TTR em doenças psiquiátricas como depressão, esquizofrenia e mesmo em doença de Alzheimer. Em estudos com ratos a ausência de TTR está associada a comportamento locomotor mais intenso e menos predispostos a ansiedade e/ou depressão (11,12).

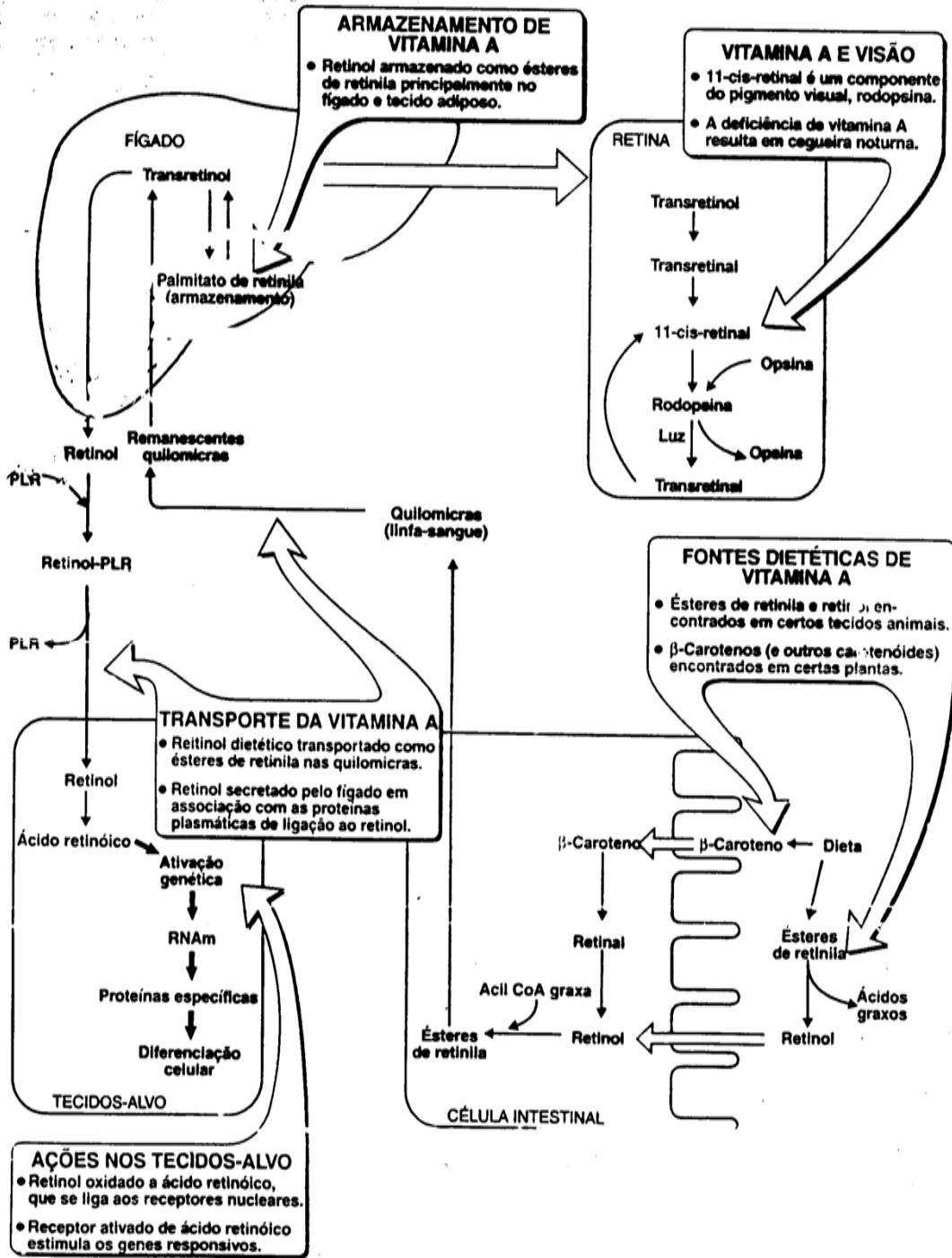


Figura 2 – Absorção, transporte e armazenamento da vitamina A e seus derivados. PLR = Proteína de ligação ao retinol

3.2 ÁCIDO RETINÓICO E ESQUIZOFRENIA

Em 1998, Goodman sugeriu três linhas independentes de evidências relacionando retinóides e esquizofrenia. (5)

3.2.1 Anomalias Retinóide-Relacionadas e Esquizofrenia

A primeira linha de evidências refere-se aos achados clínicos como transtorno do pensamento, déficit cognitivo, alargamento ventricular, agenesia do corpo caloso e uma variedade de malformações digitais e craniofaciais tanto em pacientes portadores de esquizofrenia como em indivíduos com toxicidade ou déficit de retinóides. Desde 1930, já havia o conhecimento de que deficiência materna de vitamina A resultava em interrupção da gestação e em mal formações graves ao feto. Por outro lado, seu excesso causaria teratogênese tendo como alvo coração, esqueleto, crânio, membros, cérebro e estruturas crânio faciais. (5,13)

Os achados de predomínio de alterações dismórficas em pacientes esquizofrênicos e familiares quando comparados a controles sugeriu a hipótese que possíveis anormalidades na cascata metabólica da vitamina A poderiam estar envolvidas na etiologia da esquizofrenia.

3.2.2 Loci Convergente

A segunda linha de evidências é relacionada a dados de estudos de linkage em amostras de indivíduos esquizofrênicos e consideraram história clínica, gemelaridade, adoção e aspectos epidemiológicos como característicos de uma doença não-mendeliana complexa com forte componente genético.(5)

Considerando estes aspectos peculiares da esquizofrenia, estudos genéticos que relacionaram a cadeia do ácido retinóico à doença originaram-se da observação do compartilhamento de loci relacionados a ambos.

Os maiores genes já identificados na cascata retinóide são os fatores de transcrição, denominados receptores retinóides nucleares. Estes são os RAR (retinoic acid receptors) α , β e γ e os RXR (retinoid-X receptors) α , β e γ . Três loci cromossômicos foram especialmente relacionados: 6p22-6p21.1 (mesmo locus do RXR β e PPAR γ), 22q-q13 e PPAR α , e CYP2D6; 8q22- q23 e LPL. Alguns outros loci foram demonstrados, porém com menor significância estatística (5).

Tabela 1– Convergência dos loci do gene retinóide/parceiro heterodimérico e vinculações com a esquizofrenia (loci convergentes)

| Locus retinóide | Gene | Referência da vinculação com esquizofrenia |
|----------------------------------------|---------------|--------------------------------------------|
| 6p21.3 | <i>RXRβ</i> | 24-29,40 |
| | <i>GYP21</i> | |
| 6p21.2- p21.1 | <i>PPARδ</i> | |
| 22q12-q13.1 | <i>PPARα</i> | 30-37 |
| | <i>CYP2D6</i> | |
| 8p22 | <i>LPL</i> | 25,29,38,39 |
| 3p24 | <i>RARβ</i> | 38,54 |
| | <i>PPARγ</i> | |
| 3p24.3 | <i>THRB</i> | |
| 2q22-q23 | <i>NURRI</i> | 25,41,42 |
| <i>D2S142</i> a 2q22-q23 | | |
| 1q22-q23 | <i>RXRγ</i> | 43 |
| 1q21 | <i>CRABP2</i> | |
| 17q12-q21 | <i>RARα</i> | 25,44 |
| | <i>THRα</i> | |
| 11q23.3 | <i>LXR</i> | 45,46 ⁺ ,47 |
| <i>DRD</i> e <i>SHT3</i> a 11q23 | | |
| 3q21-q22 | <i>RBP1</i> | 25,48,50 |
| <i>DRD3</i> a 3q13.3 adjacente de 3q21 | | |
| 3q21 | <i>RBP2</i> | 25,48,50 |
| 9q21 | <i>ALDH1</i> | 25,51,52 |
| 12q24.2 | <i>ALDH2</i> | 25 |
| 18q11.2-12.1 | <i>TTR</i> | 53, ⁺ 55 |

Loci retinóides não vinculados com a esquizofrenia (até o momento): 9q34.3 (*RXR*alfa); 12q13(*RAR*g); 10q11.2 (*CRPB3*); 10q23-q24 (*CRBP4*); 15q22-qter (*CRABP1*); e 15q26(*CRLBP1*).

*Vinculação com esquizofrenia ou estudos de associação alélica ou defeitos de cariotipagem significantes no locus.

⁺ Bipolar

3.2.3 Expressão dos Genes Candidatos Regulados por Ácido Retinóico

A terceira linha de evidências relaciona os alvos de regulação dos retinóides com genes candidatos para esquizofrenia. Esta regulação é feita através do acoplamento do ácido retinóico com transportadores nucleares responsáveis pela transcrição destes alvos,

denominados RARs e RXRs. Entre estes genes que têm a transcrição regulada pelo ácido retinóico encontram-se os da dopamina e de seus receptores, neurotransmissor já definitivamente envolvido na fisiopatologia da doença. Além destes, outro alvos já foram documentados como: os de serotonina, receptores de glutamato, tirosina hidroxilase, dopamina β -hidroxilase, receptores de nicotina, colina acetiltransferase, ácido aracdônico e fosfolipase, todos também já implicados na fisiopatologia esquizofrênica (5).

3.3 MARCADORES CRONOLÓGICOS

Os marcadores cronológicos de neurodesenvolvimento referem-se a características antropométricas que refletem um insulto pré-natal. Os marcadores antropométricos mais estudados em esquizofrenia são as anomalias físicas menores (AFM) e dermatóglifos. Vários outros transtornos psiquiátricos mostram associação com AFM e dermatóglifos (e.g. síndrome hipercinética da infância, autismo e transtorno de conduta na infância). Anomalias físicas menores observadas na região craniana podem indicar alterações neurodesenvolvimentais do primeiro trimestre gestacional. A razão que sugere a associação de AFM/Dermatóglifos e alterações neurodesenvolvimentais é baseada na origem embrionária comum. O tubo neural desenvolve-se do tecido ectodérmico primitivo e o sistema ventricular e tecidos cerebrais originando-se do seu lúmen.(13)

Excesso de ácido retinóico ou déficit no primeiro trimestre pode alterar, simultaneamente, migração neuronal, desenvolvimento do disco subcortical e da superfície não neuronal de formação ectodérmica. Estas alterações neurodesenvolvimentais podem

resultar em malformações craniofaciais, especialmente dos olhos e orelhas, e anomalias epidérmicas como dermatóglifos atípicos.

3.3.1 Anomalias Físicas Menores

Alterações físicas individuais, geralmente, não são importantes tanto sob ponto de vista clínico quanto estético, e é sabido que pessoas normais podem possuir de uma a quatro destes tipos de anomalia. Waldrop et al. elaborou uma escala de 18 itens referentes a anormalidades envolvendo cabeça, mãos e pés. Estas incluem baixa implantação de orelhas, hipertelorismo, palato alto, microcefalia, entre outras. Vários transtornos neurológicos como epilepsia, retardo mental e dislexia são associados com a presença destas anomalias. Estudos comparativos entre pacientes esquizofrênicos e controles normais observaram um excesso de AFM em pacientes esquizofrênicos (14,15,16). O excesso de AFM em esquizofrênicos, também, está relacionado com pior ajustamento pré-mórbido e pior performance na escala Wechsler (17). Em qualquer especulação entre AFM e esquizofrenia é preciso se ter em mente que AFM são preditores inespecíficos de uma potencial psicopatologia em esquizofrenia (18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26).

3.3.2 Dermatoglifos

Dermatoglifos é o termo utilizado para descrever as linhas epidérmicas de pele e das polpas digitais, das palmas das mãos e pés. Linhas epidérmicas estão, já bem desenvolvidas, durante o segundo trimestre gestacional. Tecidos epidérmicos e neurológicos dividem aspectos comuns quanto ao seu desenvolvimento: origem ectodérmica, desenvolvimento rápido durante o segundo trimestre gestacional, suscetibilidade ao fator de crescimento neuronal. (13)

É bem conhecido que o fator de crescimento epidérmico estimula a divisão astrocitária após o início da diferenciação das células gliais pela décima segunda semana de gestação e que estas tem um importante papel na formação da barreira hemato-encefálica. Dermatoglifos são especialmente interessantes no estudo de associação entre problemas de desenvolvimento cerebral envolvendo transtornos neurológicos em gêmeos discordantes para esquizofrenia (27, 28). Estes estudos incluem redução do complexo amígdala-hipocampo, dilatação ventricular e altos escores de alterações neurológicas no gêmeo afetado. Estes achados têm estimulado a pesquisa de fatores ambientais “liberadores de genótipos”. (29, 30, 31, 32).

3.4 Sistema Diagnóstico

Sistema OPCRIT checklist, sistema diagnóstico desenvolvido por McGuffin, 1991. É uma escala de 90 itens fornecendo informações demográficas básicas, índices de curso da doença e severidade e medidas de sintomas psicóticos e afetivos. Os itens dos sintomas

psicóticos são categóricos em sua natureza. Para os sintomas negativos é tomada uma visão mais restrita, aumentando sua confiabilidade. O checklist foi delineado para que as informações possam ser obtidas de diversas fontes, incluindo prontuário médico e entrevista clínica. Estes dados podem ser analisados em programa computadorizado associado para gerar diagnósticos operacionais por diversos sistemas. O checklist tem sido correntemente usado para o diagnóstico pela Fundação Científica Européia no estudo multicêntrico de linkage em esquizofrenia e foi incorporado ao Diagnostic Interview for Genetic Studies. Também tem demonstrado ser útil para pesquisa em estudos epidemiológicos nos quais a identificação de categorias de sintomas é necessária.(33, 34)

REFERÊNCIAS

- 1 Tsuang MT, Stone WS, Faraone SV Genes, environment and schizophrenia. Br J Psychiatry suppl. 2001; 40:18-24.
- 2 Ruano D, Macedo A, Dourado A, Soares MJ, Valente J, Coelho I, Santos V, Azevedo MH, Goodman A, Hutz M, Gama C, Lobato MI, Abreu PB, Palha J. NR4A2 and schizophrenia; Lack of Association in a portuguese/brazilian association study. Am J Med Gen 2004; 1 128B(11): 41-5.
- 3 William S. Blaner and James Allen Olson. Chapter 5: Retinol and retinoic acid metabolism in THE RETINOIDS: Biology, chemistry and medicine. 2nd edition. Edited by M.B. Sporn, A.B Roberts, and D.S. Goodman., Raven Press, Ltda., New York, 1994. Pp229-256.
- 4 William S. Blaner and James Allen Olson. Chapter 6: Plasma retinol-binding proteins in THE RETINOIDS: Biology, chemistry and medicine. 2nd edition. Edited by M.B. Sporn, A.B Roberts, and D.S. Goodman., Raven Press, Ltda., New York, 1994. Pp257-281.
- 5 Goodman A, Three independent lines of evidence suggest retinoids as casual to schizophrenia. Proc Natl. Acad. Sci, 1998; 95; 7240-7244
- 6 Samad TA, Krezel W, Chambon P, Borrelli E. Regulation of dopaminergic pathqays by retinoids: actvation of D2 receptor promoter by members of the retinoic acid receptor-retinoid X receptor family. Proc Natl Acad Sci USA. 1997; 94(26): 14349-54

- 7 Kim HS, Hong SJ, leDoux MS and Kim KS. Regulation of the Tyrosine Hydroxylase and dopamine beta-hydroxylase genes by the transcription factor AP-2. *J. Neurochem* 2001; 76: 280-294
- 8 Kim KS, Kim CH, Hwang DY, Seo H, Chung S, Hong SJ, Lim JK, Anderson T, Isacson O. Orphan nuclear receptor Nurr1 directly transactivates the promoter activity of the tyrosine hydroxylase gene in a cell-specific manner. *J. Neurochem* 2003; 85:622-634
- 9 Balmer JE, Blomhoff R. Gene expression regulation by retinoid acid. *J. lipid Res* 2003; 43: 1773-1808.
- 10 Goodman A, Pardee A, Molecular Neurobiological in Schizophrenia: Seeking a Synthesis- Meeting april 11-14, 1999 Report.
- 11 Noy N, Retinoid-binding proteins : mediators of retinoid action. *Biochem. J.* 2000; 348: 481-495
- 12 Ross SA, McCaffery PJ, Drager UC, DE Luca L. Retinoids in Embryonal Development. *Physiological Reviews* 2000; 80(3)
- 13 Lobato MI, Abreu PB, Knijnick D, Terchkin B, Ghisolfi E, Henriques A, Neurodevelopmental risk factors in schizophrenia. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34(2): 155-163
- 14 Green MF, Satz P, Gaier DJ, et al. Minor Physical Anomalies in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 1989; 15(1): 91-99.
- 15 Green MF, Satz P and Christenson C. Minor Physical Anomalies in Schizophrenia Patients Bipolar Patients, and Their Siblings. *Schizophrenia Bulletin* 1994; 20(3):433-440.

- 16 Green MF, Bracha HS, Satz P and Christenson, CD. Preliminary Evidence for an Association Between Minor Physical Anomalies and Second Trimester: Neurodevelopment in Schizophrenia. *Psychiatry Research* 1994; 53: 119-127.
- 17 Green MF, Satz P, Soper HV and Kharabi F. Relationship Between Physical Anomalies and Age at onset of Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1987; 144:666-7.
- 18 Gualtieri CT, Adams A, Shen CD and Loiselle D. Minor Physical Anomalies in Alcoholic and Schizophrenic Adults and Hyperactive and Autistic Children. *Am J Psychiatry* 1982; 139(5):640-643.
- 19 Guy JD, Majorski LV, Wallace CJ and Guy MP. The Incidence of Minor Physical Anomalies in Adult Male Schizophrenics. *Schizophrenia Bulletin* 1983; 9(4): 571-582.
- 20 Hata K, Iida J, Iwasaka H. Negoro H. Ueda F, Kishimoto T. Minor physical anomalies in childhood and adolescent onset schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 2003; 57: 17-21.
- 21 Hata K, Iida J, Iwasaka H. Negoro H. Kishimoto T. Association between minor physical anomalies and lateral ventricular enlargement in childhood and adolescent onset schizophrenia. *Acta Psychiatry Scand.* 2003; 108: 147-151.
- 22 Ismail B, Cantor-Graae E. McNeil T Minor physical anomalies in schizophrenia: cognitive, neurological and other clinical correlates *J. Psych. Res* 2000; 34: 45-56
- 23 Mc.Grath J, El-Saadi O, Grim V, Cardy S., Chapple B, Lieberman D. Minor Physical Anomalies and Quantitative Measures of the head and face in Patients With Psychosis. *Arch Gen Psychiatry* 2002; 59, 458-464

- 24 Schiffman J, Ekstrom M, LaBrie J, Schulsinger F, Sorensen H, Mednick S. Minor physical anomalies and schizophrenia spectrum Disorders: A Prospective Investigation., *Am.J.Psychiatry* 2002; 159: 238-243.
- 25 Murphy KC and Owen MJ. Minor Physical Anomalies and their Relationship to the Etiology of Schizophrenia. *British Journal of Psychiatry* 1996; 168:139-145.
- 26 Trixler M., Tényi T, Csábi G, Szabó R. Minor physical anomalies in schizophrenia and bipolar affective disorder. *Schiz Research*, 2001; 52; 195-201
- 27 Bracha HS, Torrey EF, Bigelow LB, et al. Subtle Signs of Prenatal Maldevelopment of the Hand Ectoderm in Schizophrenia: A Preliminary Monozygotic Twin Study. *Biol Psychiatry* 1991; 30:719-725.
- 28 Davis JO, Phelps JA and Bracha HS. Prenatal Development of Monozygotic Twins and Concordance fo Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 1995, 21(3):357-365.
- 29 Davis JO and Bracha HS. Prenatal Growth Markers in Schizophrenia: A Monozygotic Co-Twin Control Study. *Am J Psychiatry* 1996; 153(9):1166-1171.
- 30 Markow TA and Wandler K. Fluctuating Dermatoglyphic Asymmetry and the Genetics of Liability to Schizophrenia. *Psychiatry Research* 1986; 19:323-328.
- 31 Markow TA and Gottesman II. Fluctuating Dermatoglyphic Asymmetry in Psychotic Twins. *Psychiatry Research* 1989; 29:37-43.
- 32 Rosa A, Fañanas L, Bracha HS, et al. Congenital Dermatoglyphic Malformations and Psychosis: A Twin Study. *Am J Psychiatry* 2000; 157:9.

33 McGuffin P. Farmer A.E. Harvey L.H. A polydiagnostic Application of Operational Criteria in Studies of Psychotic illness Development and reliability of the OPCIT System Arch. Gen. Psychiatry 1991; 48: 764-770.

34 Cardno A. Jones L. Murphy K. Asherson P. Scott L. Willians J. Owen M. McGuffin P. Factor Analysis of Schizophrenia symptoms using the OPCRIT checklist. Schizophrenia Research 1996; 22; 233-239.

4 ARTIGOS EM INGLÊS



**PHENOTYPICAL MARKS ASSOCIATION BETWEEN SCHIZOPHRENIC AND
BIPOLAR PATIENTS COMPARED WITH CONTROL GROUP**

Maria Inês Rodrigues Lobato

MD; Programa de Esquizofrenia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

Paulo Belmonte-de-Abreu

MD; PHD, Programa de Esquizofrenia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

Alexandre Henriques

MD, Programa de Esquizofrenia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

Joana Palha

Universidade do Minho; Braga; Portugal

Ann B. Goodman

MD, PHD Harvard University , Boston

This work was developed by the Medical Sciences Postgraduate Course of Federal University of Rio Grande do Sul

Estudo financiado pela CAPES, FAPERGS e FIP-HCPA (Brasil), GRICES (Portugal)

Address for correspondence: Rua Vasco da Gama, 1301/401
Rio Branco, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil CEP 90420-111
Phone: 051 33335541 e-mail mlupo@pro.via-rs.com.br

PHENOTYPIC MARKERS IN SCHIZOPHRENIC AND BIPOLAR PATIENTS COMPARED TO NORMAL CONTROLS

SUMMARY

Schizophrenia is a complex disease in which genetic and environmental factors are considered synergistically. Unfortunately, it is not clear the independent effect of each. The present study assessed the frequency of minor physical anomalies (MPA) and dermatoglyphic abnormalities and patterns in 49 DSM-IV Schizophrenic outpatients, 49 DSM-IV Bipolar outpatients and 51 control subjects. The selected Minor Physical Abnormalities were: Cephalic Perimeter (CP), Internal interductal distance (IID), Ogival Palate (OP), Ear Implantation (EI). The dermatoglyphs were 5: total line count (TLC), right-left line difference, A-B line count (ABLC), A-B line right-left difference (ABRLD) and pattern symmetry (PS). Comparisons were made among Schizophrenics X Controls, Bipolars X Controls, Schizophrenics + Bipolars X Controls and Schizophrenics X Bipolars X Controls. Overall, patients (Schizophrenics and bipolars) were more dismorphic than controls. Schizophrenics had less TLC and ABLC than bipolars and controls (bipolars with intermediate count). Finally, Schizophrenics had lower CP than controls. These differences give support to previous findings of dismorphysm in major mental disorders and the idea of major mental disorders as a continuum, were schizophrenia being the extreme and Bipolar disorder an intermediate disorder. The findings support the notion of early developmental disorder in schizophrenia, and additionally bring attention to Bipolar Disorders with associated features. The design failed to identify occurrence of psychosis in the Bipolar Group. Further additional studies must address the issue of psychosis spectrum as a

developmental disorder with similar physical, epidemiological and biochemical features separated from non-psychotic illnesses and from normal subjects.

INTRODUCTION

Schizophrenia is a complex disorder with a synergism of genetic and environmental factors reaching a threshold of illness. Several factors have been described with increased risk for schizophrenia and other major psychiatric illnesses, like maternal desnutrition, viral infections, obstetric complications, maternal stress and several candidate genes (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8). Despite the fact of being the major factor, there is only a 30-40% concordance rate in monozygotic twins, and this calls the attention to environmental factors acting over genetic vulnerability (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8). The next question is about the time of production of the vulnerability: before or after birth? The neurodevelopmental theory of schizophrenia is supported by several studies of brain abnormalities suggestive of intra-uterine damage during early brain development. These evidences are supported by follow-up studies showing slight cognitive deficits and anxiety symptoms preceding illness (1). For most of the authors the damage represents an interruption of normal brain development between second and third gestational trimester, and maybe perinatally, during axonal development. Alterations in earlier periods would be associated to more pronounce neurological and cognitive deficits detected long before adolescence, such as language and motor delays (1). And these developmental delays are not so evident in schizophrenia. Neurodevelopment is also supported by evidences of other ectodermic abnormalities in schizophrenia, like skin and appendages (1). Factors influencing brain development can also affect tissues of same origin.

Bracha (9) evidenced a congenital dermatoglyphics malformations associated to schizophrenia in monozygotic twins discordant to illness, calling it a “fossilized” chronologic marker of second trimester of gestation, just during major dermal cell migration (9, 10, 11, 12, 13, 14).

Minor Physical abnormalities (MPA) and asymmetry of parallel physical structures are anthropometric markers frequently present in schizophrenia, and reflect pre-natal insult occurring in first trimester of gestation. Several psychiatric disturbances, other than schizophrenia, have been associated to MPA, like childhood hyperkinetic syndrome, autism and conduct disorder. The most frequent physical abnormalities are in face and limbs and can pass undetected for many years, and are useful for identification of possible insults of fetal development of first/second trimester of gestation. Some studies suggest that MPA is associated to early onset of illness, worst pre-morbid functioning and lower IQ performance. (15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23)

Trixler performed the only study comparing simultaneously Schizophrenics, Bipolars and Normal controls (Table 1), utilizing the full 57 item Waldrop Scale, including trunk and limb alterations. Trixler evidenced several differences among schizophrenics and controls, bipolars and controls, but not among the three groups. McGrath (24) utilized the concept of affective X non-affective psychosis, and detected brachycephalie in those with psychotic disorder when compared with controls.

McGrath and Trixler findings are not contrasted regarding psychosis and phenotype alterations: Trixler detected an association among illness severity (Schizophrenia-Bipolar-Normal Control) and phenotype alterations, and McGrath's results link phenotype alterations with psychosis. These studies point to the need of new research with more patients and less items in the scale of dimorphism. (24, 25, 26, 27, 28)

METHODOLOGY

Ninety eight subjects under outpatient care at a major teaching Hospital (Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Brasil) (49 with DSM-IV criteria for Schizophrenia and 49 for Bipolar disorder (APA, 1994)), were studied regarding markers of disturbed intra-uterine development (dermatoglyphic markers and minor physical abnormalities). Patients were compared to 51 normal controls with no personal and family history of major psychiatric disorder.

Schizophrenic subjects were consecutively recruited among clients of the Outpatient Schizophrenia Program of the Hospital (Ambulatório de Esquizofrenia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.) Patients must be chronic, ages among 20-40 years old, and under antipsychotic medication. Bipolar patients were consecutively selected among participants of the Bipolar Program of the same Hospital, and must have a chronic course, age among 20-40 years old, and with stable medication. Controls were selected among patients and companions among Outpatient waiting rooms of Internal Medicine and surgery of the same teaching Hospital. All patients and relatives had to sign an Informed consent approved by the Ethics Committee of the hospital (Credited by the National Research Council - Conselho Nacional de Pesquisa).

Patients and controls were submitted to a semistructured interview conducted by a Certified Psychiatrist and reviewed by a Senior Psychiatrist with more than 10 years of graduation, together with Medical record search. Antropometric measures were Head circumference, Internal interdental distance, ear implantation and adherence, and elevated (ogival) palate). They were determined by the Waldrop Scale Parameters of Minor Physical Abnormalities (MPAs) were assessed by trained researchers at Genetics Service of the

teaching hospital (Hospital de Clínicas de Porto Alegre). Dermatoglyphs were studied in total line count (TLC), a-b palmar lines (LPAB), Right-Left symmetry (right-left digital lines, total lines, right-left a-b RC) and line patterns. Data was collected through conventional method (ink) of independent visual inspection, by a 20 years experienced technician of the State Institute of Identification (Instituto de Identificação do Estado do Rio Grande do Sul). The objective was the identification of neurodevelopment markers among cases and controls. The normality of the distribution was studied, with the final allocation to non-parametric methods due to absence of abnormality. Data was analysed by ANOVA and logistic regression to compare the three groups. Statistical analysis was done by SPSS 8.0 Program.

RESULTS

Sample characteristics in table 2.

Schizophrenics display different number of palmar lines (Right, Left and Right+Left Hand), and Head Circumference.

Bipolar patients have different a-b Left and Total.

The ANOVA study comparing three groups simultaneously (Schizophrenics X Bipolars X Normal Controls) evidenced significant difference in Total and Left a-b ridge count and Head circumference .

Patients (Schizophrenics + Bipolars) compared to Normal Controls differed in Total Line Count in Right and Left Hand.

The male group (schizophrenics plus bipolars) failed to reveal differences in symmetry, a-b lines, head circumference and internal interductal distance from Normal controls.

At the female group, there was a difference in Head circumference in Schizophrenics + Bipolars, compared to Normal Controls.

In summary, there was a significant difference in Schizophrenics compared to Normal Controls regarding Right, Left and Right+Left Hand line count and Head circumference. There are also differences in Bipolars compared to Normal Controls, in Left and right plus Left Line Hand count. When the three groups were compared simultaneously (Schizophrenics X Bipolars X Normal Controls) there was a difference in Number of Left and Left+Right Lines, Left, total a-b ridge count and Head Circumference. Gender stratification in Schizophrenics plus bipolars versus normal controls showed Head Circumference differences only in the female group.

DISCUSSION

The studied anthropometric parameters revealed phenotypic markers differentiating the three groups. The differences were:

Schizophrenics X normal Controls: Right, Left and Right plus Left Lines

Patients (schizophrenics plus Bipolars) X Normal Controls: Total lines (Right plus Left).

Schizophrenics X Bipolars x Normal Controls: Number of Lines in Left, and Right plus Left Hand, a-b ridge count in Left, right plus Left hand and Head circumference;

Bipolars X Normal Controls: a-b Ridge count at Left and Total a-b ridge count.

Male Patients (Schizophrenics plus bipolars): no difference

Female Patients (Schizophrenics plus Bipolars): Head Circunference.

The findings support the hypothesis that there are several phenotypic markers differentiating Schizophrenics from Normal controls (Left, right and Left plus Right Hand lines); Bipolars from Normal Controls (a-b ridge count), and Major Psychiatric Illness (Schizophrenics plus Bipolars) from normal Controls (total of Right plus Left Lines).

The data also strengthen the hypothesis of intrauterine damage in schizophrenia with parallel dermal and CNS markers (29). Methodological bias should be questioned in our study. One problem is related to the origin of the sample and assessment methodology. The studies with atypical phenotype alterations utilized the whole Waldrop Scale (WS) and also a modified one that includes 57 items (ref). Others questions involves ethnic aspects, aging factors, and possible influence of genetic factors determining some anomalies in opposition to

exogenous factors (30, 31). Our study utilized only a part of the WS. Some of the trends ($p < 0,100$) can reflect the relatively small sample size, requiring replication in larger samples.

The finding of different total number of hand lines in bipolars is surprising, since, as long as the acknowledgement of the authors, it is the first evidence in this group of patients. The presence of abnormalities in the patterned tracteries of fine ridges of fingers and palms constitute an indelible evidence of prenatal insult in de second trimester gestation. It is recommended additional studies investigating a possible etiologic associating among schizophrenia and bipolar disorder. This hypothesis is considered by some authors as belonging to a *continuum* of psychotic disorders, with schizophrenia disorder in one extreme and bipolar disorder in the middle (32). This observation also extends the hypothesis of the effect of key regulators of brain development (nuclear receptors, transporters and hormones) over the risk of schizophrenia, but also over bipolar disorder and the gender factor. Additional studies should be developed of non-schizophrenic psychosis, since the study failed to define the psychosis in bipolar, requiring additional studies checking relationship of psychosis with phenotype markers.

ACKNOWLEDGEMENTS:

We like to thank the grant sponsors: CAPES, FAPERGS e FIP-HCPA (Brazil), GRICES (Portugal) and to Mrs. Rebeca Braga for her valious contribution.

Programa de Esquizofrenia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

REFERÊNCIAS

- 1 Lobato MI, Abreu PB, Knijnick D, Terchkin B, Ghisolfi E, Henriques A, Neurodevelopmental risk factors in schizophrenia. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34: 155-163
- 2 Hulshoff H, Hans H, Susser E, Brown A, Dingemans A, Schnack H, Van Haren N, Ramos L, Wied C, Kahn R, prenatal Exposure to famine and Brain Morphology in Schizophrenia. *Am J. psychiatry* 2000; 157: 1170-1172
- 3 Hultman CM, Öhman A, Cnattingius S et al. Prenatal and neonatal risk factors for schizophrenia. *British Journal of Psychiatry* 1997; 170: 128-133.
- 4 Huttunen MO, Machon RA and Mednick SA. Prenatal Factors in the Pathogenesis of Schizophrenia. *British Journal of Psychiatry* 1994; 164 (suppl. 23): 15-19.
- 5 Kendell RE, McInnery K, Juszcak E and Bain M. Obstetric complications and schizophrenia: Two case – control studies based on structured obstetric records. *British Journal of Psychiatry* 2000; 176: 516-522.
- 6 Geddes JR, Verdoux H, Takei N, et al. Schizophrenia and Complications of Pregnancy and Labor: An Individual Patient Data Meta-analysis. *Schizophrenia Bulletin* 1999; 25(3):413-423.
- 7 Crow TJ. Invited commentaries on: Obstetric complications and schizophrenia / affective psychoses. *British Journal of Psychiatry* 2000; 176:527:530.

- 8 Pol H, Hoek HW, Susser E, et al. Prenatal Exposure to Famine and Brain Morphology in Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2000; 157:7.
- 9 Bracha HS, Torrey EF, Bigelow LB, et al. Subtle Signs of Prenatal Maldevelopment of the Hand Ectoderm in Schizophrenia: A Preliminary Monozygotic Twin Study. *Biol Psychiatry* 1991; 30:719-725.
- 10 Davis JO, Phelps JA and Bracha HS. Prenatal Development of Monozygotic Twins and Concordance of Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 1995; 21(3):357-365.
- 11 Davis JO and Bracha HS. Prenatal Growth Markers in Schizophrenia: A Monozygotic Co-Twin Control Study. *Am J Psychiatry* 1996; 153(9):1166-1171.
- 12 Markow TA and Wandler K. Fluctuating Dermatoglyphic Asymmetry and the Genetics of Liability to Schizophrenia. *Psychiatry Research* 1986; 19:323-328.
- 13 Markow TA and Gottesman II. Fluctuating Dermatoglyphic Asymmetry in Psychotic Twins. *Psychiatry Research* 1989; 29:37-43.
- 14 Rosa A, Fañanas L, Bracha HS, et al. Congenital Dermatoglyphic Malformations and Psychosis: A Twin Study. *Am J Psychiatry* 2000; 157:9.
- 15 Green MF, Satz P, Gaier DJ, et al. Minor Physical Anomalies in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 1989; 15(1): 91-99.
- 16 Green MF, Satz P and Christenson C. Minor Physical Anomalies in Schizophrenia Patients Bipolar Patients, and Their Siblings. *Schizophrenia Bulletin* 1994; 20(3):433-440.

- 17 Green MF, Bracha HS, Satz P and Christenson, CD. Preliminary Evidence for an Association Between Minor Physical Anomalies and Second Trimester: Neurodevelopment in Schizophrenia. *Psychiatry Research* 1994; 53: 119-127.
- 18 Green MF, Satz P, Soper HV and Kharabi F. Relationship Between Physical Anomalies and Age at onset of Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1987; 144:666-667.
- 19 Gualtieri CT, Adams A, Shen CD and Loiselle D. Minor Physical Anomalies in Alcoholic and Schizophrenic Adults and Hyperactive and Autistic Children. *Am J Psychiatry* 1982; 139(5):640-643.
- 20 Guy JD, Majorski LV, Wallace CJ and Guy MP. The Incidence of Minor Physical Anomalies in Adult Male Schizophrenics. *Schizophrenia Bulletin* 1983; 9(4): 571-582.
- 21 Hata K, Iida J, Iwasaka H. Negoro H. Ueda F, Kishimoto T. Minor physical anomalies in childhood and adolescent onset schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*.2003; 57: 17-21.
- 22 Hata K, Iida J, Iwasaka H. Negoro H. Kishimoto T. Association between minor physical anomalies and lateral ventricular enlargement in childhood and adolescent onset schizophrenia. *Acta Psychiatry Scand*. 2003; 108: 147-151.
- 23 Ismail B, Cantor-Graae E. McNeil T. Minor physical anomalies in schizophrenia: cognitive, neurological and other clinical correlates *J. Psych. Res* 2000; 34: 45-56
- 24 Trixler M.,Tényi T. Csábi G. Szabó R. Minor physical anomalies in schizophrenia and bipolar affective disorder. *Schiz Research*, 2001; 52; 195-201

- 25 Mc.Grath J, El-Saadi O, Grim V, Cardy S., Chapple B, Lieberman D. Minor Physical Anomalies and Quantitative Measures of the head and face in Patients With Psychosis. *Arch Gen Psychiatry*. 2002; 59, 458-464
- 26 Murphy KC and Owen MJ. Minor Physical Anomalies and their Relationship to the Aetiology of Schizophrenia. *British Journal of Psychiatry* 1996; 168:139-145.
- 27 Schiffman J, Ekstrom M, LaBrie J, Schulsinger F, Sorensen H, Mednick S. Minor physical anomalies and schizophrenia spectrum Disorders: A Prospective Investigation., *Am.J.Psychiatry* 2002; 159: 238-243.
- 28 Waldrop MF, Pedersen FA and Bell RQ. Minor Physical Anomalies and Behavior in Preschool Children. *Child Development* 1968, 39:391-400.
- 29 Van Os J, Woodruff PWR, Fañanas L, et al. Association Between Cerebral Structural Abnormalities and Dermatoglyphic Ridge Counts in Schizophrenia. *Comprehensive Psychiatry* 2000; 41(5):380-384.
- 30 Sivkov S and Akabaliev V. Minor physical Anomalies in Mentally Health Subjects: Internal Consistency of the Waldrop Physical Anomaly Scale. *American Journal of Human Biology*. 2003; 67; 15-61
- 31 Lloyd T, Doody G, Brewin J, Park B, Jones P. Minor physical anomalies in schizophrenia: is age a confounding factor? *Schiz.Res*. 2003; 61: 67-73.
- 32 Goodman A, Three independent lines of evidence suggest retinoids as causal to schizophrenia. *Proc natl. Acad. Sci*, 1998; 95; 7240-7244

33 Angst J. Historical aspects of the dichotomy between manic-depressive disorders and schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 2002; 57, 5-13

TABLES

Table 1: Major phenotypic findings in schizophrenia and Affective and Non-Affective psychosis, compared to normal controls:

| Author | year | Sample | Instrument | Results | p |
|-----------|------|-------------------------|------------|-----------------------|--------|
| Lloyd | 2003 | 50 S , 60 NC | | # | <0,05. |
| Ismail, | 2000 | 60 S , 21 SS, 75 NC | WSM | # no Clin/Neurol.rel. | |
| Mc.Grath, | 2002 | 330 P (AP+NAP) x 303 NC | MPA | Pñ aff. # cont. | 0,03 |
| | | | | P aff. #Cont. | >0,05 |
| Trixler | 2001 | 30 S/30 BP/30NC | WS(57) | 3 items esqxc | 0,005 |
| | | | | 1 item bipXc | <0,05 |

Legend: S= Schizophrenia, SS= Schizophrenic sibling, NASS= non affected schizophrenic sibling, NC= Normal Control, BP= Bipolar, P= Psicosis, AP= Affective Psicosis, NAP= Non-Affective Psicosis, WS= Waldrop Scale, WSM= Waldrop Scale Modified, MPA= Minor Physical Abnormalities

Table 2: Variable description: all subjects:

| | N | | Dp | Minimum | Maximum |
|---------------------|-----|--------|-------|---------|---------|
| Simmetry | 148 | 3,78 | ,93 | 1 | 5 |
| Lines: D | 148 | 86,44 | 46,40 | 0 | 235 |
| Lines: E | 148 | 83,14 | 44,57 | 0 | 232 |
| Lines D+E | 148 | 169,80 | 89,14 | 3 | 467 |
| a-b R | 145 | 40,14 | 6,50 | 26 | 64 |
| a-b L | 147 | 41,90 | 6,12 | 24 | 61 |
| a-b Total | 145 | 82,06 | 11,79 | 53 | 122 |
| Brain Circunference | 150 | 57,083 | 2,174 | 52,0 | 63,8 |
| Dii | 150 | 30,276 | 3,266 | 23 | 42 |
| dif. R-L | 148 | 12,18 | 12,13 | 0 | 82 |

**STUDY OF MOLECULAR MARKERS RELATED TO THE RETINOID CASCADE (ttr AND rXRB)
AND THEIR RELATIONS WITH CLINICAL AND DYSMORPHIC ENDOPHENOTYPES IN
SCHIZOPHRENIA**

Dina Ruano, Antonio Macedo, Ana Dourado, Maria João Soares, José Valente, Isabel Coelho, Vítor Santos, Maria Helena Azevedo, Mara Hutz, Clarissa Gama, Denise Zandoná, Gustavo Maegawa

Maria Inês Rodrigues Lobato

MD; Schizophrenia Program, Clinic Hospital of Porto Alegre, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil

Paulo Belmonte-de-Abreu

MD; PHD, Schizophrenia Program, Clinic Hospital of Porto Alegre, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil

Joana Palha

University of Minho, Braga, Portugal

Ann B. Goodman

MD, PHD Harvard University , Boston

Address for correspondence: Rua Vasco da Gama, 1301/401
Rio Branco, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil CEP 90420-111
Phone: 051 33335541 e-mail mlupo@pro.via-rs.com.br

This work was developed by the Medical Sciences Postgraduate Course of Federal University of Rio Grande do Sul

**STUDY OF MOLECULAR MARKERS RELATED TO THE RETINOID CASCADE
(TTR AND RXRB) AND THEIR RELATIONS WITH CLINICAL AND
DYSMORPHIC ENDOPHENOTYPES IN SCHIZOPHRENIA**

SUMMARY

The present study investigated a sample of 87 of Brazilian ICD10 schizophrenics diagnosed by OPCRIT system for the presence of RXR β UTR 376A>T, RXR β UTR 243G>T and TTR exon 2 e TTR exon 4 polymorphisms and association with MPA and clinical endophenotypes. Although there was no allelic association, it was evidenced a strong association of RXR β UTR376A>T BB genotype and two OPCRIT symptoms (“thought racing”: #31; p= 0.009 and “irritable mood”: #36; p=0,014) and one dysmorphic phenotype (decreased Head circumference; p=0,007). Additionally, the data suggests possible involvement of nuclear receptor polymorphisms (RXR β UTR376A) with three affective and associated symptoms (blunted affect, # 33 p= 0,106; middle insomnia, #45 p=0,064 and increased appetite, #50 p= 0,09) and one abnormal belief, (#55 p=0,075). There was no association of TTR polymorphisms and endophenotype (MPA and dimorphisms). Considered globally, the study gives partial support for the theory of involvement of retinoid cascade gene polymorphisms (RXR β UTR376A>T BB genotypes) with developmental abnormalities in schizophrenia (“microcephaly”- check) and affective symptoms (thought racing and irritable mood).

INTRODUCTION

Despite many technical and medical advances over the last years, schizophrenia is still a personal and family disaster. Schizophrenia is a chronic disabling disease that affects about 1% of the world's population. It is considered the most severe of all psychiatry illness and causes symptoms like blunted affect, avolia, thought disorder, auditive hallucinations, social withdrawn, associated with deleterious and progressive course. Although the causes remain unknown, evidence from family, twin and adoption studies demonstrates that genetics aspects play a role in the etiology but the lack of 100% concordance in MZ twins implies that an epigenetic environmental effect is required for disease onset (1). Despite considerable efforts to identify, none causative gene has been found. For this reason, interest has been raised in hypothesis bridging both genetic and environment-related mechanisms. Environmental factors such as hormones and vitamins interact with different nuclear receptors and interfere with the transcription of several genes on a developmental regulated fashion. Among these, are the retinoids and thyroid hormones considered good candidates (2). Retinoid in the form of vitamin A is carried by TTR (transthyretine), the first product of the retinoid cascade, bound to retinoid-binding protein across the choroid plexus, thus making retinoid acid the final product and morphogen of the retinoid cascade, available to the developing brain. Interesting, transthyretine is a carrier for both retinol and thyroxine in the plasma and in the cerebrospinal fluid. Once inside the cells, those are converted into the metabolic active molecules (retinoid acid and T3), which interact with the respective nuclear receptor.

The involvement of retinoids and TH in the development of the CNS has been known for long (neuronal migration, synaptogenesis, axonal e dendritic growth regulation) besides the regulation of genes as of the dopaminergic receptors. In addition, altered retinoid and TH

metabolism have been implicated in the etiology of psychiatry disorders (depression, cretinism and schizophrenia). (3, 4)

In 1998, Goodman purposed a physiopathological model for schizophrenia involving retinoid's cascade. Vitamin A (retinoid) is an essential nutrient involved in gene regulation and expression and is particularly active in brain neurodevelopment. Clinical evidences that connects retinoids to schizophrenia is that retinoid toxicity or deficit has been shown to result in symptom presentations that resemble schizophrenia (e.g. thought disorder, mental deficit, enlarged ventricles, agenesis of the corpus callosum, microcephaly and a variety of major and minor congenital malformations. Among which, craniofacial and digital anomalies are prominent and reported frequently among schizophrenics (5). Others lines of evidence that connects the retinoids to schizophrenia comes from studies of the genic loci and transcriptional regulation. The genes for dopamine-2 receptor, synapsin and dopamine β -hydroxylase are among those whose expression requires activation by retinoids (6, 7, 8, 9).

Pharmacological, histological and neuroimaging data have for long implicated dopaminergic dysfunction to schizophrenia. The neurodevelopment process referred in schizophrenia points to the search of molecular markers at this receptor (polymorphisms/mutations) in subjects affected and in their relatives, expecting to find out molecular substrate, for unless some forms of schizophrenia (10).

One of the major problems at all schizophrenia research is in respect to the diagnosis. Defining characteristics of the disease is especially helpful to clinicians for the diagnostic approach and also for monitoring the treatment response. Although, schizophrenia is probably the most heterogeneous psychiatry disease and its multiples clinical forms make the research

in this field more difficult comparing to others disorders. In order to approach the nexus of underlying etiologies, there is a need for uncovering additional clinical phenotypes (dependent of phenomenological symptoms) and “pathological markers” (independent of the phenomenological symptoms) that could statistically define the illness (10).

Minor Physical Abnormalities (MPA) and asymmetry of parallel physical structures are anthropometric markers frequently present in schizophrenia, and reflect pre-natal insult occurring in first or second trimester of gestation period. Several psychiatric disturbances, other than schizophrenia, have been associated to MPA, like childhood hyperkinetic syndrome, autism and conduct disorder. The most frequent physical abnormalities are in face and limbs and can pass undetected for many years, and are useful for identification of possible insults of fetal development of first or second trimester of gestation period. Some studies suggest that MPA is associated to early onset of illness, worst pre-morbid functioning and lower IQ performance (11).

Trixler (12) performed the only study comparing simultaneously Schizophrenics, Bipolars and Normal controls (Tabela 1), utilizing full 57 item Waldrop Scale (13), including trunk and limb alterations. Trixler evidenced several differences among schizophrenics and controls, bipolars and controls, but not among the three groups. McGrath (14) utilized the concept of affective X non-affective psychosis, and detected brachycephalie in those with psychotic disorder when compared with controls.

In a certain way, McGrath and Trixler findings are not contrasted regarding psychosis and phenotype alterations: Trixler detected an association among illness severity (Esquizofrenia-Bipolar-Normal Control) and phenotype alterations, and McGrath's results

link phenotype alterations with psychosis. This study is also more robust due to its sample size (10 time greater than Trixler's). table 1

Given the above, we choose to study polymorphism/mutations in genes of their metabolic cascade or genes whose expression they regulate, namely TTR, RXR β , and the association with clinical and morphological endophenotypic characteristics in a sample of schizophrenics subjects.

METHODS

A sample of 87 Brazilians schizophrenics (75 men and 12 women, age range 18-63, average 34.3 and 61.9) were studied. Patients and their parents gave informed consent for the study and the ethic committee of the institution approved the study. All schizophrenics received lifetime diagnosis using the OPCRIT system. Interviews and diagnostic formulations were performed by one of the authors. The sample were grouped after factorial OPCRIT item's analyses using Varimax rotational, pointing for co-relations with others similar studies. Later we perform cluster analyses using the between groups linkage, that result in four different populational groups. One of these groups was excluded, because it was not statistically representative.

Parameters of Minor Physical Abnormalities (MPAs) were assessed by 2 trained researchers at Genetics Service of the teaching hospital (Hospital de Clínicas de Porto Alegre), using the Waldrop Scale. The dismorphic parameters were ranked as the following:

- Waldrop Scale, applied with 18 itens, using standarized scoring system;
- The subjects that scored 1sd below the mean at head circumpherence were given weight 4;
- Head and Facial region + limbs.
- Head circumpherence below 1sd (weight 4) + DII (weight 4) + 1 to the others.
- Comparative study of head circumpherence, internal and external interductal distances with relevant OPCRIT diagnostic itens;

Venous blood was drawn from all subjects and DNA extracted using standard salting-out procedures. For genotyping the c.-245 RXRbeta_UTR 376A>T, RXRbeta_UTR 243G>T and TTR exon 2 e TTR exon 4 T>A, we followed PCR conditions previously described (2).

RESULTS

The demographic variables, premorbid and course aspects are described in table 2.

For cluster analysis we defined 3 different groups: Positive (group 1), Disorganized (group 2), Negative (group 3) (table 3).

Comparing the sociodemographic data with the groups obtained, it was found that there must be a difference between them, except for OPCRIT 13 (family history of schizophrenia), of which the lack of history is associated with group 3 (negative). No difference was found

between the groups for: OPCRIT 8 (disease duration in weeks); OPCRIT (structural disease prior to onset); OPCRIT 16 (clear psychological stressor prior to onset); OPCRIT 78 and OPCRIT 83 (lifetime diagnosis of dependency and abuse of psychoactive substances).

Comparing 2 groups of response to neuroleptic agents (high + very high) vs. (moderate + no response), it was found that group 3 (negative) is associated with a strong resistance to treatment (residual=2.2).

Regarding the dysmorphic parameters, when we use the items from the Waldrop scale as a whole or in groupings (see methodology), no statistically significant differences are found. TTR and RXRbeta ($p=0.595$ for 376A and $p=0.608$ for 243 G) (table 4). However, in the analysis of cephalic perimeter, internal and external interdental distance we found associations with the RXRbeta UTR37A genotype (BB) (table 5).

DISCUSSION

The present study investigated a sample of 87 of Brazilian ICD10 schizophrenics diagnosed by OPCRIT system for the presence of RXR β UTR 376A>T, RXR β UTR 243G>T and TTR exon 2 e TTR exon 4 polymorphisms and association with MPA and clinical endophenotypes. Although there was no allelic association, it was evidenced a strong association of RXR β UTR376A>T BB genotype and two OPCRIT symptoms (“thought racing”: #31; $p=0.009$ and “irritable mood”: #36; $p=0,014$) and one dysmorphic phenotype (decreased Head circumference; $p=0,007$). Additionally, the data suggests possible involvement of nuclear receptor polymorphisms (RXR β UTR376A) with three affective and

associated symptoms (blunted affect, # 33 $p= 0,106$; middle insomnia, #45 $p=0,064$ and increased appetite, #50 $p= 0,09$) and one abnormal belief, (#55 $p=0,075$). It is possible that with increased sample the observed trend could provide evidence of statistical significance. There was no association of TTR polymorphisms and endophenotype (MPA and dimorphisms). Considered globally, the study gives partial support for the theory of involvement of retinoid cascade gene polymorphisms (RXR β UTR376A>T BB genotypes) with developmental abnormalities in schizophrenia (“microcephaly”- check) and affective symptoms (thought racing and irritable mood). Although the sample size does not allow for the stratification and application of multivariate methods to check interactions and specific endophenotype study, the increase of sample could allow detailed study of interactions. Given the complex etiology of schizophrenia, the meaning of our results must be considered under a critical view. Since retinoids acids have been described as powerful morphogens and strong regulators of the expression of several target genes by activating specific transcriptions factors, including different forms of retinoid acids. The precise description of this “cascade” is complicated by the evidence of involvement of other nuclear heterodimeric partners and their ligands that may also be susceptible to additional epistatic interactions with environmental sources, including viruses (10). The major genes already identified in the retinoid cascade are the transcription factors, namely the nuclear retinoid receptors, the retinoic acid receptors (RAR) α , β , and γ and the retinoid-X receptors (RXR) α , β , and γ . These transcriptions factors can act either alone or together with heterodimeric partners, specially the Nuclear related receptor-1 (NURR1) and the Peroxisome-proliferator-activated receptors (PPARs). The observed association RXR β BB genotype and a group of affective symptoms (blunted affect, middle insomnia and increased appetite) and organized thought disorder (also considered present in schizophrenic and affective syndromes) contrasts with the evidence of association with specific endophenotype of neurodevelopmental disturbance in schizophrenia (decreased

head perimeter). Although the question of type I error is relatively weak ($p < 0,001$), one could mind about possible error due to repeated testing.

One argument for confounding factors not controlled in the study can be related to defective assessment of ethnicity in the study of Latina-American population. The risk of false assessment of ethnicity due to miscegenation with American-Indian population in Latin America is common. Our results could be associated a methodological bias of our study, due to imprecise definition of ethnicity in our country. This effect is well known in northern Brazil (Bahia, Ceara, Pernambuco), but can be considered of minor importance in southern Brazil (Rio Grande do Sul), a region previously described with predominantly European origin with decreased load of native and African ethnicity

Another possible question regarding type-1 error is related to the decreased number of phenotypic alterations (body and head dimorphisms). Only one measure in 23 was identified. One possible explanation can be linked to the fact that the anomalies previously described in schizophrenia were subtle. For some authors, midline head and face alterations should receive more importance in schizophrenic probands (15). Others described results arguing for the use of the whole body and head Waldrop Scale (WS) (16, 17, 18, 19, 20, 21) and the modified version of this scale. (22, 23, 24, 25, 26). Nevertheless, there is no consensus about the ideal size of WS. Additionally, it would be inadequate the study of 57 items in a sample of 87 subjects.

The cluster analysis of OPCRIT items confirmed previous evidence of three symptom dimensions in schizophrenia (negative, positive, disorganized) (27, 28, 29). The lack of association of symptom dimensions, pre-morbid and prognostic items can be assigned to

putative insufficient power. From all studied sociodemographic variables, only one displayed positive association (family history of schizophrenia; #13). Episodic (non-familial) cases are associated to increased number of cluster 3 symptoms (Negative dimension) suggesting a more severe form of illness involving environmental damage. The other items failed to reveal significant differences among groups (illness duration #8, structural illness preceding illness onset #15, psychosocial stressor before illness #16 and drug dependence and abuse - #78 and #83 before illness). Treatment response was decreased in the Negative Group (#3) (High+Very High vs. Moderate + No Resistance) ($p= 0,00x$, residual = 2.2), and this is supported by previous studies.

Other demographic and clinical characteristics of the sample (onset age, pre-morbid history and disability) were in accordance to previous literature of schizophrenia, a finding providing additional support for the generalization of the findings. Overall, the whole set of data (increased affective symptoms, well organized thought disorder, decreased head circumference) associated to specific genotype of nuclear receptors in schizophrenia suggests partial involvement of retinoid cascade polymorphisms over illness subtypes.

Finally, we must consider the multiple factors (intensity, moment of action, type of stressor) involved in the etiology of schizophrenia and environmental stressors are variables associated to different clinical presentations (symptoms cluster, phenotype, and illness severity) that turns out the schizophrenia research a major challenge.

REFERENCES

- 1 Tsuang MT, Stone WS, Faraone SV Genes, environment and schizophrenia. *Br J Psychiatry suppl.* 2001; 40:18-24.
- 2 Ruano D, Macedo A, Dourado A, Soares MJ, Valente J, Coelho I, Santos V, Azevedo MH, Goodman A, Hutz M, Gama C, Lobato MI, Abreu PB, Palha J. NR4A2 and schizophrenia; Lack of Association in a portuguese/brazilian association study. *Am J Med Gen* 2004; 1 128B(11): 41-5.
- 3 William S. Blaner and James Allen Olson. Chapter 5: Retinol and retinoic acid metabolism in *THE RETINOIDS: Biology, chemistry and medicine*. 2nd edition. Edited by M.B. Sporn, A.B Roberts, and D.S. Goodman., Raven Press, Ltda., New York, 1994. Pp229-256.
- 4 William S. Blaner and James Allen Olson. Chapter 6: Plasma retinol-binding proteins in *THE RETINOIDS: Biology, chemistry and medicine*. 2nd edition. Edited by M.B. Sporn, A.B Roberts, and D.S. Goodman., Raven Press, Ltda., New York, 1994. Pp257-281.
- 5 Goodman A, Three independent lines of evidence suggest retinoids as casual to schizophrenia. *Proc natl. Acad. Sci*, 1998; 95; 7240-7244
- 6 Samad TA, Krezel W, Chambon P, Borrelli E. Regulation of dopaminergic pathqays by retinoids: actvation of D2 receptor promoter by members of the retinoic acid receptor-retinoid X receptor family. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94(26): 14349-54
- 7 Kim HS, Hong SJ, leDoux MS and Kim KS. Regulation of the Tyrosine Hydroxilase amd dopamine beta-hydroxilase genes by the transcription factor AP-2. *J. Neurochem* 2001; 76: 280-294

- 8 Kim KS, Kim CH, Hwang DY, Seo H, Chung S, Hong SJ, Lim JK, Anderson T, Isacson O. Orphan nuclear receptor Nurr1 directly transactivates the promoter activity of the tyrosine hydroxylase gene in a cell-specific manner. *J. Neurochem* 2003; 85:622-634
- 9 Balmer JE, Blomhoff R. Gene expression regulation by retinoid acid. *J. lipid Res* 2003; 43: 1773-1808.
- 10 Goodman A, Pardee A, Molecular Neurobiological in Schizophrenia: Seeking a Synthesis- Meeting april 11-14, 1999 Report.
- 11 Lobato MI, Abreu PB, Knijnick D, Teruschkin B, Ghisolfi E, Henriques A, Neurodevelopmental risk factors in schizophrenia. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34(2): 1
- 12 Trixler M., Tényi T. Csábi G. Szabó R. Minor physical anomalies in schizophrenia and bipolar affective disorder. *Schiz Research*, 2001; 52; 195-201
- 13 Waldrop MF, Pedersen FA and Bell RQ. Minor Physical Anomalies and Behavior in Preschool Children. *Child Development* 1968, 39:391-400.
- 14 McGrath J, El-Saadi O, Grim V, Cardy S., Chapple B, Lieberman D. Minor Physical Anomalies and Quantitative Measures of the head and face in Patients With Psychosis. *Arch Gen Psychiatry* 2002; 59, 458-464
- 15 Ismail B, Cantor-Graae E. McNeil T Minor physical anomalies in schizophrenia: cognitive, neurological and other clinical correlates *J. Psych. Res* 2000; 34: 45-56
- 16 Lloyd T. Doody G, Brewin J, Park B. Jones P Minor physical anomalies in schizophrenia: is age a confounding factor? *Schiz.Res.* 2003; 61: 67-73.

- 17 Green MF, Satz P, Gaier DJ, et al. Minor Physical Anomalies in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 1989; 15(1): 91-99.
- 18 Green MF, Satz P and Christenson C. Minor Physical Anomalies in Schizophrenia Patients Bipolar Patients, and Their Siblings. *Schizophrenia Bulletin* 1994; 20(3):433-440.
- 19 Green MF, Bracha HS, Satz P and Christenson, CD. Preliminary Evidence for an Association Between Minor Physical Anomalies and Second Trimester: Neurodevelopment in Schizophrenia. *Psychiatry Research* 1994; 53: 119-127.
- 20 Green MF, Satz P, Soper HV and Kharabi F. Relationship Between Physical Anomalies and Age at onset of Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1987; 144:666-667.
- 21 Guy JD, Majorski LV, Wallace CJ and Guy MP. The Incidence of Minor Physical Anomalies in Adult Male Schizophrenics. *Schizophrenia Bulletin* 1983; 9(4): 571-582.
- 22 Hata K, Iida J, Iwasaka H. Negoro H. Ueda F, Kishimoto T. Minor physical anomalies in childhood and adolescence onset schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*.2003; 57: 17-21.
- 23 Hata K, Iida J, Iwasaka H. Negoro H. Kishimoto T. Association between minor physical anomalies and lateral ventricular enlargement in childhood and adolescent onset schizophrenia. *Acta Psychiatry Scand*. 2003; 108: 147-151.
- 24 Murphy KC and Owen MJ. Minor Physical Anomalies and their Relationship to the Aetiology of Schizophrenia. *British Journal of Psychiatry* 1996; 168:139-145.

- 25 Schiffman J, Ekstrom M, LaBrie J, Schulsinger F, Sorensen H, Mednick S. Minor physical anomalies and schizophrenia spectrum Disorders: A Prospective Investigation., *Am.J.Psychiatry* 2002; 159: 238-243.
- 26 Sivkov S and Akabaliev V. Minor physical Anomalies in Mentally Health Subjects: Internal Consistency of the Waldrop Physical Anomaly Scale. *Americam Journal of Human Biology*. 2003; 67; 15-61
- 27 Cardno, AG., Sham, PC., Farmer, AE., Murray, RM., McGuffin, P.. Heritability of Schneider first-rank symptoms. *Br J of Psyc* 2002; 180: 35-8
- 28 Cardno, AG; Jones, LA; Murphy, KC; Asherson, P; Scott, LC; Williams, J; Owen, MJ; McGuffin, P; Factor Analysis of schizophrenic symptoms using the OPCRIT checklist; *Schizophrenia Research* 1996; 22: 233-239.
- 29 Wickham, H., Walsh, C., Asherson, P., Taylor, C., Sigmundson, T., Gill, M., Owen, MJ., McGuffin, P., Murray, R., Sham, P. Familiaty of symptom dimensions in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 2001; 47: 223-32

TABLES

Table 1: Major phenotypic findings in schizophrenia and Affective and Non-Affective psychosis, compared to normal controls

| Author | year | Sample | Instrument | Results | p |
|---------------|-------------|------------------------|-------------------|------------------------------------------|----------|
| Lloyd | 2003 | 50 S, 60NC | | <0,05 | |
| Ismail | 2000 | 60 S, 21 SS | WSM | # Clin/Neurol.rel. | no |
| Mc.Grath | 2002 | 330P (AP+NAP) x 303 CN | MPA | Pri aff.#cont.0,03 P aff.= Cont.>0,05 | |
| Trixler | 2001 | 30 S/30 BP / 30 NC | WS (57) | 3 items esqxc.0005 1 item bipXc<0,05 | |

Legend: S=Schizophrenia, SS= Schizophrenic sibling, NASS= non affected Schizophrenic sibling, NC= Normal Control, BP=Bipolar, P=Psicosis, AP= Affectiv Psicosis, NAP= Non-Affectiv Psicosis, WS= Waldrop Scale, WSM= Waldrop Scale Modified, MPA=Minor Phisical Abnormalities.

Table 2: Demographic variables

| OPCRIT variables | Response | frequency | % |
|----------------------------|--------------------------------------|------------------|---------------|
| Gender | Female | 12 | 13.79 |
| | Male | 75 | 86.21 |
| | Total | 87 | 100.00 |
| Pre social | Good adjust | 45 | 59.21 |
| | Misadjust. | 31 | 40.79 |
| | Total | 76 | 100.00 |
| Pre dist. | Absent | 52 | 69.33 |
| | Present | 23 | 30.67 |
| | Total | 75 | 100.00 |
| SPA abuse | Absent | 52 | 68.42 |
| | Present | 24 | 31.58 |
| | Total | 76 | 100.00 |
| Schiz. History | Yes | 43 | 56.58 |
| | No | 33 | 43.42 |
| | Total | 76 | 100.00 |
| Damage during dist. | Social subj. damage | 5 | 6.58 |
| | Damage in most important role | 12 | 15.79 |
| | Nothing works | 59 | 77.63 |
| | Total | 76 | 100.00 |
| Det. In pre func. | Absent | 6 | 7.89 |
| | Present | 70 | 92.11 |
| | Total | 76 | 100.00 |
| Course | mult. with good | 2 | 2.63 |
| | Mult. with partial recovery | 9 | 11.84 |
| | Cont. chronic disease | 23 | 30.26 |
| | Cont. chronic disease w/det. | 42 | 55.26 |
| | Total | 76 | 100.00 |

Table 3: Patients and Opcrit items

| OPCRIT | Group1 | | Group2 | | Group3 | |
|---------------|---------------|----|---------------|----|---------------|----|
| | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| o17 | 8 | 18 | 1 | 15 | 13 | 16 |
| o18 | 11 | 15 | 10 | 6 | 23 | 6 |
| o26 | 10 | 16 | 5 | 11 | 20 | 9 |
| o28 | 11 | 15 | 4 | 12 | 23 | 6 |
| o29 | 8 | 18 | 2 | 14 | 19 | 10 |
| o32 | 2 | 24 | 4 | 12 | 7 | 22 |
| o33 | 2 | 24 | 3 | 13 | 7 | 22 |
| o34 | 3 | 23 | 4 | 12 | 17 | 12 |
| o54 | 2 | 24 | 3 | 13 | 3 | 26 |
| o57 | 10 | 16 | 15 | 1 | 22 | 7 |
| o58 | 7 | 19 | 4 | 12 | 19 | 10 |
| o59 | 4 | 22 | 6 | 10 | 16 | 13 |
| o61 | 12 | 14 | 12 | 4 | 23 | 6 |
| o66 | 10 | 16 | 13 | 3 | 20 | 9 |
| o67 | 8 | 18 | 16 | 0 | 26 | 3 |
| o68 | 2 | 24 | 11 | 5 | 27 | 2 |
| o73 | 4 | 22 | 8 | 8 | 26 | 3 |
| o74 | 2 | 24 | 9 | 7 | 25 | 4 |
| o75 | 4 | 22 | 3 | 13 | 25 | 4 |
| o76 | 5 | 21 | 6 | 10 | 24 | 5 |
| o77 | 11 | 15 | 6 | 10 | 24 | 5 |

Table 4: Genotype and AFM

| Variable | Genotype (RXRbeta UTR376A) | mean | SD | p-value |
|------------------|----------------------------|-------|------|---------|
| perimeter | Bb+bb | 57.75 | 1.29 | 0.007 |
| | BB | 56.51 | 1.83 | |
| DII | Bb+bb | 9.54 | 0.79 | 0.039 |
| | BB | 9.14 | 0.60 | |
| DIE | Bb+bb | 3.42 | 0.53 | 0.165 |
| | BB | 3.22 | 0.47 | |

Table 5: Genotype and Opcrit items

| OPCRIT | presents | Bb+bb | BB | p-value |
|---------------|-----------------|------------------|------------------|----------------|
| 31 | no | 26(57.8%) | 19(42.2%) | 0.009 |
| | yes | 3(18.8%) | 13(81.35) | |
| 33 | no | 1(14.3%) | 6(85.7%) | 0.106 |
| | yes | 28(51.9%) | 26(48.1%) | |
| 36 | no | 24(60.0%) | 16(40.0%) | 0.014 |
| | yes | 5(23.8%) | 16(76.25) | |
| 45 | no | 23(56.1%) | 18(43.9%) | 0.064 |
| | yes | 6(30.0%) | 14(70.0%) | |
| 50 | no | 17(39.5%) | 26(60.5%) | 0.090 |
| | yes | 12(66.7%) | 6(33.3%) | |
| 55 | no | 12(36.4%) | 21(63.6%) | 0.075 |
| | yes | 17(60.7%) | 11(39.3%) | |

NR4A2 AND SCHIZOPHRENIA: LACK OF ASSOCIATION IN A PORTUGUESE/BRAZILIAN STUDY

NR4A2 and Schizophrenia: Lack of Association in a Portuguese/Brazilian Study

Dina Ruano,^{1,2} António Macedo,³ Ana Dourado,³ Maria João Soares,³ José Valente,³ Isabel Coelho,³ Vítor Santos,³ Maria Helena Azevedo,³ Ann Goodman,⁴ Mara Helena Hutz,⁵ Clarissa Gama,⁶ Maria Inês Lobato,⁵ Paulo Belmonte-de-Abreu,⁶ and Joana Almeida Palha^{1,2*}

¹Health Sciences School, University of Minho, Braga, Portugal

²Institute for Molecular and Cell Biology, Porto, Portugal

³Instituto de Psicologia Médica, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

⁴Department of Psychiatry at Massachusetts Mental Health Center, Harvard Medical School, Boston

⁵Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

⁶Departamento de Psiquiatria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

The present study investigates the association of mutations in the nuclear receptor NR4A2 in schizophrenic patients. The human Nur-related receptor 1, NR4A2, is an orphan nuclear receptor that can be constitutively active as a transcription factor and for which no natural ligand has yet been identified. Alone or with retinoid X receptor, RXR, NR4A2 influences the expression of several genes important for human brain development and regulation. In the absence of Nurr1 (the mouse homologue to human NR4A2), ventral mesencephalic dopaminergic mouse neurons evidence severe developmental failure, a condition that is lethal soon after birth. Nurr1 involvement in the dopaminergic system makes it a good candidate for study in neuropsychiatric disorders such as schizophrenia and Parkinson disease. Evidence by others support this hypothesis (1) mapping of the NR4A2 gene to chromosome 2q22-23, a region with suggestive linkage to schizophrenia and (2) identification of mutations in patients with schizophrenia (c.366-369delTAC, c.308A > G, c.-469delG), manic depression (c.289A > G), and familial Parkinson's disease (c.-291delT, c.-245T > G). To further extend these observations, we searched for all these mutations in 176 Caucasian Portuguese and 82 Caucasian Brazilian subjects with lifetime diagnosis of schizophrenia. The study failed to identify any of the described mutations in patients or controls. Nevertheless, these negative results do not exclude altered expression of nuclear receptors in schizophrenia or the presence of other mutations.

© 2004 Wiley-Liss, Inc.

KEY WORDS: Nurr1; nuclear orphan receptor; dopamine; retinoids

INTRODUCTION

Schizophrenia is a chronic psychotic disorder of unknown etiology. Twin and family studies demonstrate a genetic basis for the disease [Tsuang et al., 2001]. Several genome wide studies identified chromosome loci consistently linked to increased susceptibility to schizophrenia in different populations [Lewis et al., 2003]. Despite the evidence for genetic predisposition, the lack of concordance in monozygotic twins implies that an epigenetic environmental effect is required for disease onset [Tsuang et al., 2001]. For this reason, interest has been raised in hypothesis bridging both genetic and environment-related mechanisms. Environmental factors such as hormones and vitamins interact with different nuclear receptors and interfere with the transcription of several genes on a developmental regulated fashion. Among these are the retinoids, considered good candidates because of genetic linkage studies implicating schizophrenia with dysregulation of the retinoid cascade and/or genes whose expression they regulate [Goodman, 1998]. The genes for dopamine-2 receptor, synapsin, and dopamine β -hydroxylase are among those whose expression requires activation by retinoids [Samad et al., 1997; Kim et al., 2001, 2003; Balmer and Blomhoff, 2002]. Pharmacological, histological, and brain imaging data have for long implicated dopaminergic dysfunction in the etiology of schizophrenia. Retinoid availability can, therefore, interfere with susceptibility to schizophrenia, either directly, through the dopamine system, or indirectly through molecules involved in its development and/or regulation. Interestingly, retinoid analogs have been suggested in the treatment of schizophrenia, alone or in combination with dopamine receptor agonists [Citver et al., 2002].

Retinoic acid receptors belong to the steroid/thyroid hormone nuclear receptor superfamily that includes several orphan receptors for which no ligands have been identified. These receptors often act as heterodimers greatly increasing the complexity of gene regulation. NR4A2, one of these orphan nuclear receptors, is known to regulate transcription of target genes in two different ways: alone, as a monomer, or as a partner with the retinoid X receptor (RXR) [Perlmann and Jansson, 1995; Wang et al., 2003].

Nurr1 (the mouse homologue to human NR4A2 gene) mRNA is expressed very early in the ventral midbrain [Zetterström et al., 1996, 1997] and disruption of its expression is responsible for massive failure to generate dopaminergic neurons in the midbrain and causes death soon after birth [Zetterström

Part of this study has been presented in 10th World Congress on Psychiatric Genetics, Brussels, Belgium, October 2002.

Grant sponsor: Fundação para a Ciência e Tecnologia (Portugal); Grant number: POCTI/MGI/35837-FEDER; Grant sponsor: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, BRASIL); Grant sponsor: GRICES (Portugal)/CAPES (Brasil) exchange grant.

*Correspondence to: Joana Almeida Palha, Life and Health Sciences Research Institute, Health Sciences School, University of Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal.
E-mail: jpalha@eicsau.de.uminho.pt

Received 8 September 2003; Accepted 23 December 2003

DOI 10.1002/ajmg.b.30031

et al., 1997; Saucedo-Cardenas et al., 1998]. The lack of dopaminergic neurons in the midbrain seems to be related with the inability to express tyrosine hydroxylase, the rate-limiting enzyme in dopamine synthesis [Zetterström et al., 1996]. Furthermore, Nurr 1 seems to retain its role in mature dopaminergic neurons, since its expression continues over adulthood and is extremely impaired after ventral mesencephalic dopaminergic neurons injury [Zetterström et al., 1996].

These observations increased the interest in identifying precise molecular and biochemical mechanisms of behavior regulation by NR4A2 in psychiatric and neurological disorders. Furthermore, the 2q22-q23 chromosome region that harbors the NR4A2 gene has suggestive linkage with schizophrenia in various populations [Moises et al., 1995; Williams et al., 1999; DeLisi et al., 2002; Lewis et al., 2003]. In accordance to this hypothesis several groups have looked for mutations in the NR4A2 human gene that could increase susceptibility to schizophrenia. Up to date, two deletions and one missense mutation have been described in schizophrenic patients and one missense mutation has been found in manic-depressed individuals [Buervenich et al., 2000; Chen et al., 2001] while, recently, two mutations in the untranslated region have been identified in patients with familial Parkinson's disease [Le et al., 2003]. These findings prompted us to investigate all these NR4A2 mutations in a large sample of Portuguese and Brazilian schizophrenic patients. Patients fulfilled DSM-IV lifetime diagnosis of schizophrenia, confirmed by Operational Checklist for Psychotic Disorders (OPCRIT) diagnostic algorithm. None of the mutations described in the literature were identified in this group of patients.

MATERIALS AND METHODS

The sample consisted in 176 Portuguese (age range 15–74, average 34.0; 67 female and 109 male) and 82 Brazilian (age range 18–63, average 34.3; 10 female and 72 male) schizophrenic patients and 105 Portuguese (age range 19–79, average 35.5; 53 female and 52 male) and 85 Brazilian (age range 19–58, average 32.9; all men) mentally healthy individuals. All subjects were unrelated Caucasians. Patients gave informed consent for the study, and ethic committees of both institutions approved the study. All patients (Portuguese and Brazilian) were classified by the OPCRIT system [McGuffin and Farmer, 2001]. OPCRIT automated system gathered information from all case records, including medical, nursing, social work and occupational therapy notes together with data from clinical interview with patient and relatives. Additionally, Portuguese schizophrenic patients received lifetime diagnosis using DIGS (Diagnostic Interview for Genetic Studies) as previously described [Nurnberger et al., 1994]. Controls were from European origin or descent and free of any lifetime diagnosis of major mental illness and physical illness. Portuguese controls received DIGS assessment and Brazilian controls were selected among blood bank volunteer donors documented to be free of chemical dependence [Rios et al., 2003]. All interviews and diagnostic formulations were performed by one of the authors. Venous blood was drawn from all subjects and DNA extracted using standard salting-out procedures.

For genotyping the c.-245T > G, c.289 A > G, c.308 A > G mutations and the deletion c.-469delG, we followed PCR conditions previously described [Buervenich et al., 2000; Chen et al., 2001; Le et al., 2003]. PCR products were analyzed on gel electrophoresis after digestion with the restriction enzymes *Ava* II (Fermentas, Vilnius, Lithuania), *Apa* I (Fermentas), *Tse* I (New England Biolabs, Beverly, MA), and *Cfr* I (Fermentas), respectively. The c.366-369delTAC deletion was screened by single strand conformation polymorphism (SSCP) on the PCR product amplified with the primers (5'-3')

CTTGTACCAATGCCCTGT and GAGACTGGCGTTT-CCTCT. Electrophoresis on 10% non-denaturing polyacrylamide gel with 2.5% glycerol was performed at 500 V for 2.5–3 hr. Temperature was strictly maintained at 14°C. Samples from patient carriers of the mutations c.366-369delTAC, c.289 A > G, and c.308 A > G were used as controls.

Search for the c.-291delT on the PCR product amplified with primers previously described [Le et al., 2003] was done by SSCP analysis on MDE gel (Cambrex Bio Science Rockland, Rockland, ME) run at 4, 10, or 25°C.

RESULTS

Using SSCP analysis, we searched the deletions c.366-369delTAC and c.-291delT, looking also for other possible mutations [Vidal-Puig and Moller, 1994] on the same PCR product. Figure 1 shows the SSCP migration pattern of a c.366-369delTAC deletion carrier. None of the sample tested revealed the presence of mutated alleles.

For the c.-291delT deletion we analyzed one subpopulation of 60 Portuguese schizophrenic patients and run the SSCP at three different temperatures to increase the rate of detection. Again, we failed to identify any mutation in the PCR product containing the position c.-291. Analysis of the mutations c.-469delG, c.-245T > G, c.289 A > G, and c.308 A > G was done by digestion with the enzymes *Cfr* I, *Ava* II, *Apa* I, and *Tse* I for which a new restriction site is present in the mutated allele. None of the samples, from schizophrenic or mentally healthy individuals, contained any of the mutations screened.

Table I is a summary of all studies, including ours, in which NR4A2 mutations described in diseases have been investigated.

DISCUSSION

In the present study we investigated, for the first time, the presence of two NR4A2 mutations recently identified in familial Parkinson's disease [Le et al., 2003] in 258 schizophrenic patients and 190 mentally healthy individuals. We also searched for mutations in the NR4A2 previously described in patients with schizophrenia and manic-depression [Buervenich et al., 2000; Chen et al., 2001]. No mutation was found either in patients or controls. Given the complex etiology of schizophrenia and the failure to identify a single causative gene, it is unlikely that any individual mutation will be strongly represented in the patient's population [Chakravarti, 1999]. In the case of transcription factors such as nuclear receptors, several different mutations can impair proper function and influence the appropriate expression of several genes. Therefore, for any new mutation found it is important to increase the size of the patient sample analyzed. The fact that

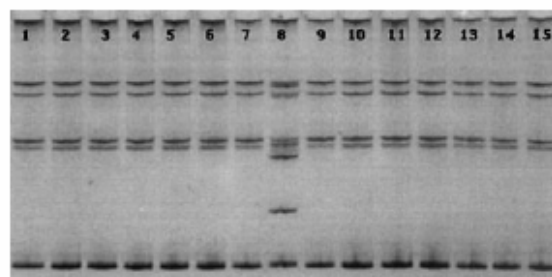


Fig. 1. Single strand conformation polymorphism (SSCP) analysis of the NR4A2 exon 3 PCR fragment. On lane 8 run a sample containing the c.366-369delTAC mutation. Lanes 1–6 correspond to Brazilian schizophrenic patients and lanes 7–15 to Brazilian mentally healthy individuals.

TABLE I. NR4A2 Mutations Detected in Patients With Schizophrenia, Manic Depression, and Parkinson's Disease

| Mutation | Location | Population | In vitro transcription activity |
|-------------------|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| c.-469 delG | Promoter | 2/176 Han Chinese schizophrenic [Chen et al., 2001] 0/176 Caucasian Portuguese schizophrenic 0/82 Caucasian Brazilian schizophrenic | Not determined |
| c.-291 delT | Exon 1, untranslated | 8/107 familial + 0/94 sporadic Parkinson's (mostly Caucasian) [Le et al., 2003] 0/60 Caucasian Portuguese schizophrenic | Decreased [Le et al., 2003] |
| c.-245 T > G | Exon 1, untranslated | 2/107 familial + 0/94 sporadic Parkinson's (mostly Caucasian) [Le et al., 2003] 0/176 Caucasian Portuguese schizophrenic 0/82 Caucasian Brazilian schizophrenic | Decreased [Le et al., 2003] |
| c.289 A > G | Exon 3, coding | 0/135 Swedish schizophrenics [Buervenich et al., 2000] 0/160 North American Caucasian schizophrenics [Buervenich et al., 2000] 0/70 Caucasian Swedish idiopathic Parkinson [Buervenich et al., 2000] 1/30 Caucasian Swedish manic depressed [Buervenich et al., 2000] 0/176 Caucasian Portuguese schizophrenic 0/82 Caucasian Brazilian schizophrenic | Decreased [Buervenich et al., 2000] |
| c.308 A > G | Exon 3, coding | 1/135 Swedish schizophrenics [Buervenich et al., 2000] 0/160 Caucasian North American schizophrenics [Buervenich et al., 2000] 0/70 Caucasian Swedish Idiopathic Parkinson [Buervenich et al., 2000] 0/30 Caucasian Swedish manic depressed [Buervenich et al., 2000] 0/176 Caucasian Portuguese schizophrenic 0/82 Caucasian Brazilian schizophrenic | Decreased [Buervenich et al., 2000] |
| c.366-369 del TAC | Exon 3, coding | 1 childhood-onset/135 Caucasian Swedish schizophrenics [Buervenich et al., 2000] 0/160 Caucasian North American schizophrenics [Buervenich et al., 2000] 0/70 Caucasian Swedish Idiopathic Parkinson [Buervenich et al., 2000] 0/30 Caucasian Swedish manic depressed [Buervenich et al., 2000] 0/176 Caucasian Portuguese schizophrenic 0/82 Caucasian Brazilian schizophrenic | Decreased [Buervenich et al., 2000] |

Represented is the number of individuals in which NR4A2 mutations were found among all patients tested.

we failed to identify the mutations previously described confirms that they are very rare in *NR4A2* gene.

Other studies have reported lack of association of NR4A2 polymorphic variants in the promoter [Carmine et al., 2003], 5' and 3' untranslated regions and intron 6 with schizophrenia [Ishiguro et al., 2002; Iwayama-Shigeno et al., 2003].

The human *NR4A2* gene exists as a single locus in human genome, covering 8.3 Kb in length, consisting of eight exons and is mapped to chromosome 2q22-23 [Ichinose et al., 1999; Torii et al., 1999]. This chromosome region has been implicated in schizophrenia [Lewis et al., 2003]. The mutations c.289A > G, c.308A > G, and c.366-369delTAC, originate amino acid changes at the protein level (M97V, H103R, and ΔY122, respectively) and result in decreased in vitro transcriptional activity of NR4A2 dimmers [Buervenich et al., 2000]. Decreased transcription activity of the NR4A2 is also described for the mutations in the 5' untranslated region found in patients with Parkinson's disease [Le et al., 2003]. Therefore, impaired transcription activation of downstream target genes such as tyrosine hydroxylase is expected in carriers of these mutant variants of NR4A2.

Studies in mice have revealed important functions for NR4A2 that clearly suggest its possible involvement in several

disorders of the central nervous system in which the dopaminergic system has been implicated. Observations in Nurr1-null mice revealed that Nurr1 is requested for the formation of midbrain dopaminergic neurons [Zetterström et al., 1997; Saucedo-Cardenas et al., 1998] and that tyrosine hydroxylase, the rate-limiting enzyme in the catecholaminergic pathway, is absent in dopaminergic neurons [Zetterström et al., 1997]. On the other hand, mice lacking the D2 receptors for dopamine show increase Nurr1 expression in mesencephalic dopaminergic neurons, suggesting that actions mediated by D2 receptors might be a consequence of altered expression of Nurr1 [Tseng et al., 2000]. In addition, Nurr1 enhances the transcription of the human dopamine transporter gene [Sacchetti et al., 2001], one of the most specific phenotypic markers for dopaminergic neurons, and of the tyrosine hydroxylase gene [Sakurada et al., 1999; Kim et al., 2001, 2003]. Studies in Nurr1-null heterozygous mice show that Nurr1 increases spontaneous locomotor activity in response to stress [Eells et al., 2002]. The effect of amphetamines in Nurr1-null heterozygous locomotion remains controversial [Eells et al., 2002; Bäckman et al., 2003].

These observations suggest that NR4A2 by itself, or through heterodimerization partners, may participate in diseases with altered dopaminergic function such as Parkinson's,

schizophrenia, and drug abuse. NR4A2 may also be implicated in some personality traits with increased vulnerability to stress [Eells et al., 2002] such as those in the schizophrenia phenotype spectrum. Both mutations associated with decreased or increased NR4A2 activity and with altered regulation of the NR4A2 gene throughout development might be associated with disorders such as schizophrenia and Parkinson's. Future studies must address whether the expression of NR4A2 is altered in the brain of schizophrenic patients or influences their response to alcohol exposure or drug treatment. Better understanding of the pathways involving NR4A2 might make it a potential target for therapy with drugs like 6-mercaptopurine analogs or even stem-cell transplants as recently suggested [Ordentlich et al., 2003].

ACKNOWLEDGMENTS

We want to thank Dr. Silvia Buervenich for kindly providing DNA samples with the mutations c.289A > G, c.308A > G, and c.366-369delTAC, and Dr. Wei-dong Le for providing the PCR primer sequences for the fragments containing mutations c.-291delT and c.-245T > G. Dina Ruano is a recipient of a Ph.D fellowship from Fundação para a Ciência e Tecnologia (Portugal).

REFERENCES

- Balmer JE, Blomhoff R. 2002. Gene expression regulation by retinoic acid. *J Lipid Res* 43:1773–1808.
- Buervenich S, Carmine A, Arvidsson M, Xiang F, Zhang Z, Sydow O, Jönsson EG, Sedvall GC, Leonard S, Ross RG, Freedman R, Chowdari KV, Nimgaonkar VL, Perlmann T, Anvret M, Olson L. 2000. NURR1 mutations in cases of schizophrenia and manic-depressive disorder. *Am J Med Genet* 96:808–813.
- Bäckman C, You ZB, Perlmann T, Hoffer BJ. 2003. Elevated locomotor activity without altered striatal dopamine contents in Nurr1 heterozygous mice after acute exposure to methamphetamine. *Behav Brain Res* 143:95–100.
- Carmine A, Buervenich S, Galter D, Jönsson EG, Sedvall GC, Farde L, Gustavsson JP, Bergman H, Chowdari KV, Nimgaonkar VL, Anvret M, Sydow O, Olson L. 2003. NURR1 promoter polymorphisms: Parkinson's disease, schizophrenia, and personality traits. *Am J Med Genet* 120: 51–57.
- Chakravarti A. 1999. Population genetics-making sense out of sequence. *Nat Genet* 21:56–60.
- Chen YH, Tsai MT, Shaw CK, Chen CH. 2001. Mutation analysis of the human NR4A2 gene, an essential gene for midbrain dopaminergic neurogenesis, in schizophrenic patients. *Am J Med Genet* 105:753–757.
- Citver AS, Shields AM, Ciaccia LM, Schulingkamp RJ, Raffa RB. 2002. Indirect modulation of dopamine D2 receptors as potential pharmacotherapy for schizophrenia: III. Retinoids. *J Clin Pharm Ther* 27:161–168.
- DeLisi LE, Mesen A, Rodriguez C, Bertheau A, LaPrade B, Llach M, Riondet S, Razi K, Relja M, Byerley W, Sherrington R. 2002. Genome-wide scan for linkage to schizophrenia in a Spanish-origin cohort from Costa Rica. *Am J Med Genet* 114:497–508.
- Eells JB, Lipska BK, Yeung SK, Misdler JA, Nikodem VM. 2002. Nurr1-null heterozygous mice have reduced mesolimbic and mesocortical dopamine levels and increased stress-induced locomotor activity. *Behav Brain Res* 136:267–275.
- Goodman AB. 1998. Three independent lines of evidence suggest retinoids as causal to schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:7240–7244.
- Ichinose H, Ohye T, Suzuki T, Sumi-Ichinose C, Nomura T, Hagino Y, Nagatsu T. 1999. Molecular cloning of the human Nurr1 gene: Characterization of the human gene and cDNAs. *Gene* 230:233–239.
- Ishiguro H, Okubo Y, Ohtsuki T, Yamakawa-Kobayashi K, Arinami T. 2002. Mutation analysis of the retinoid X receptor beta, nuclear-related receptor 1, and peroxisome proliferator-activated receptor alpha genes in schizophrenia and alcohol dependence: Possible haplotype association of nuclear-related receptor 1 gene to alcohol dependence. *Am J Med Genet* 114:15–23.
- Iwayama-Shigeno Y, Yamada K, Toyota T, Shimizu H, Hattori E, Yoshitsugu K, Fujisawa T, Yoshida Y, Kobayashi T, Toru M, Kurumaji A, Detera-Wadleigh S, Yoshikawa T. 2003. Distribution of haplotypes derived from three common variants of the NR4A2 gene in Japanese patients with schizophrenia. *Am J Med Genet* 118:20–24.
- Kim HS, Hong SJ, LeDoux MS, Kim KS. 2001. Regulation of the tyrosine hydroxylase and dopamine beta-hydroxylase genes by the transcription factor AP-2. *J Neurochem* 76:280–294.
- Kim KS, Kim CH, Hwang DY, Seo H, Chung S, Hong SJ, Lim JK, Anderson T, Isacson O. 2003. Orphan nuclear receptor Nurr1 directly transactivates the promoter activity of the tyrosine hydroxylase gene in a cell-specific manner. *J Neurochem* 85:622–634.
- Le WD, Xu P, Jankovic J, Jiang H, Appel SH, Smith RG, Vassilatou DK. 2003. Mutations in NR4A2 associated with familial Parkinson disease. *Nat Genet* 33:85–89.
- Lewis CM, Levinson DF, Wise LH, DeLisi LE, Straub RE, Hovatta I, Williams NM, Schwab SG, Pulver AE, Faraone SV, Brzustowicz LM, Kaufmann CA, Garver DL, Gurling HM, Lindholm E, Coon H, Moises HW, Byerley W, Shaw SH, Mesen A, Sherrington R, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS, Ekelund J, Pausio T, Lönngqvist J, Peltonen L, O'Donovan MC, Owen MJ, Wildenauer DB, Maier W, Nestadt G, Blouin JL, Antonakis SE, Mowry BJ, Silverman JM, Crowe RR, Cloninger CR, Tsuang MT, Malaspina D, Harkavy-Friedman J, Svrakic DM, Bassett AS, Holcomb J, Kalsi G, McQuillin A, Brynjolfsson J, Sigurdsson T, Petursson H, Jazin E, Zoega T, Helgason T. 2003. Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet* 73:34–48.
- McGuffin P, Farmer A. 2001. Polydiagnostic approaches to measuring and classifying psychopathology. *Am J Med Genet* 105:39–41.
- Moises HW, Yang L, Kristbjarnarson H, Wiese C, Byerley W, Macciardi F, Arolt V, Blackwood D, Liu X, Sjogren B, Aschauer HN, Hwu HG, Jang K, Livesley WJ, Kennedy JL, Zoega T, Ivarsson O, Bui MT, Yu MH, Havsteen B, Commenges D, Weissenbach J, Schwinger E, Gottesman II, Pakistis AJ, Wetterberg L, Kidd KK, Helgason T. 1995. An international two-stage genome-wide search for schizophrenia susceptibility genes. *Nat Genet* 11:321–324.
- Numberger JI Jr, Blehar MC, Kaufmann CA, York-Cooler C, Simpson SG, Harkavy-Friedman J, Severe JB, Malaspina D, Reich T. 1994. Diagnostic interview for genetic studies. Rationale, unique features, and training. NIMH Genetics Initiative. *Arch Gen Psychiatry* 51:849–859.
- Ordentlich P, Yan Y, Zhou S, Heyman RA. 2003. Identification of the antineoplastic agent 6-mercaptopurine as an activator of the orphan nuclear hormone receptor Nurr1. *J Biol Chem* 278:24791–24799.
- Perlmann T, Jansson L. 1995. A novel pathway for vitamin A signaling mediated by RXR heterodimerization with NGFI-B and NURR1. *Genes Dev* 9:769–782.
- Rios DL, Vargas AF, Torres MR, Zago AJ, Callegari-Jacques SM, Hutz MH. 2003. Interaction between SREBP-1a and APOB polymorphisms influences total and low-density lipoprotein cholesterol levels in patients with coronary artery disease. *Clin Genet* 63:380–385.
- Sacchetti P, Mitchell TR, Granneman JG, Bannon MJ. 2001. Nurr1 enhances transcription of the human dopamine transporter gene through a novel mechanism. *J Neurochem* 76:1565–1572.
- Sakurada K, Ohshima-Sakurada M, Palmer TD, Gage FH. 1999. Nurr1, an orphan nuclear receptor, is a transcriptional activator of endogenous tyrosine hydroxylase in neural progenitor cells derived from the adult brain. *Development* 126:4017–4026.
- Samad TA, Krezel W, Chambon P, Borrelli E. 1997. Regulation of dopaminergic pathways by retinoids: Activation of the D2 receptor promoter by members of the retinoic acid receptor-retinoid X receptor family. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:14349–14354.
- Saucedo-Cardenas O, Quintana-Hau JD, Le WD, Smidt MP, Cox JJ, De Mayo F, Burbach JP, Conneely OM. 1998. Nurr1 is essential for the induction of the dopaminergic phenotype and the survival of ventral mesencephalic late dopaminergic precursor neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:4013–4018.
- Torii T, Kawarai T, Nakamura S, Kawakami H. 1999. Organization of the human orphan nuclear receptor Nurr1 gene. *Gene* 230:225–232.
- Tseng KY, Roubert C, Do L, Rubinstein M, Kelly MA, Grandy DK, Low MJ, Gershnik OS, Murer MG, Giros B, Raisman-Vozari R. 2000. Selective increase of Nurr1 mRNA expression in mesencephalic dopaminergic neurons of D2 dopamine receptor-deficient mice. *Brain Res Mol Brain Res* 80:1–6.

- Tsuang MT, Stone WS, Faraone SV. 2001. Genes, environment and schizophrenia. *Br J Psychiatry* 40:s18–s24.
- Vidal-Puig A, Moller DE. 1994. Comparative sensitivity of alternative single-strand conformation polymorphism (SSCP) methods. *Biotechniques* 17:490–496.
- Wang Z, Benoit G, Liu J, Prasad S, Aarnisalo P, Liu X, Xu H, Walker NP, Perlmann T. 2003. Structure and function of Nurr1 identifies a class of ligand-independent nuclear receptors. *Nature* 423:555–560.
- Williams NM, Rees MI, Holmans P, Norton N, Cardno AG, Jones LA, Murphy KC, Sanders RD, McCarthy G, Gray MY, Fenton I, McGuffin P, Owen MJ. 1999. A two-stage genome scan for schizophrenia susceptibility genes in 196 affected sibling pairs. *Hum Mol Genet* 8:1729–1739.
- Zetterström RH, Williams R, Perlmann T, Olson L. 1996. Cellular expression of the immediate early transcription factors Nurr1 and NGFI-B suggests a gene regulatory role in several brain regions including the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res Mol Brain Res* 41:111–120.
- Zetterström RH, Solomin L, Jansson L, Hoffer BJ, Olson L, Perlmann T. 1997. Dopamine neuron agenesis in Nurr1-deficient mice. *Science* 276:248–250.

5 ARTIGOS EM PORTUGUÊS



**ASSOCIAÇÃO DE MARCADORES FENOTÍPICOS EM PACIENTES
ESQUIZOFRÊNICOS E BIPOLARES COMPARADOS COM GRUPO CONTROLE**

Maria Inês Rodrigues Lobato

MD; Programa de Esquizofrenia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

Paulo Belmonte-de-Abreu

MD; PHD, Programa de Esquizofrenia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

Alexandre Henriques

MD, Programa de Esquizofrenia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

Joana Palha

Universidade do Minho; Braga; Portugal

Ann B. Goodman

MD, PHD Harvard University , Boston

Estudo financiado pela CAPES, FAPERGS e FIP-HCPA (Brasil), GRICES (Portugal)
Este trabalho foi desenvolvido no Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Endereço para correspondência: Rua Vasco da Gama, 1301/401
Rio Branco, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil CEP 90420-111
Phone: 051 33335541 e-mail mlupo@pro.via-rs.com.br

ASSOCIAÇÃO DE MARCADORES FENOTÍPICOS EM PACIENTES ESQUIZOFRÊNICOS E BIPOLARES COMPARADOS COM GRUPO CONTROLE

RESUMO

A esquizofrenia é uma doença complexa em que fatores genéticos e ambientais operam em sinergia, aumentando o risco para a sua ocorrência, sem ainda uma evidência clara do papel isolado de cada fator. Com objetivo de identificarmos marcadores fenotípicos, estudamos dois tipos de marcadores (anomalias físicas menores e dermatóglifos) de 49 pacientes portadores de esquizofrenia e 49 com distúrbio bipolar, comparados com 51 controles normais. Foram avaliados quatro parâmetros de anomalias físicas menores - perímetro cefálico, distância interductal interna, palato ogival e implantação de orelhas - e 5 parâmetros de dematóglifos - contagem de linhas totais, diferença de linhas mão direita e esquerda, contagem total de linhas A-B, diferença de linhas A-B direita-esquerda e simetria de padrões.

Foram identificadas diferenças significativas entre Esquizofrênicos e Controles (E X CO), entre Bipolares e Controles (B X CO), entre Bipolares, Esquizofrênicos e Controles (B X E X CO), e entre Bipolares + Esquizofrênicos e Controles (B+E X CO). A tendência geral é de que o grupo de pacientes tenha mais dismorfismo quando comparados aos controles. Quanto aos dermatóglifos, encontrou-se uma diferença significativa quanto ao parâmetro total de linhas em pacientes esquizofrênicos quando comparados a grupo de controles, e na comparação entre os três grupos. Além disso, foi vista diferença quanto as linhas a-b em comparação de Bipolares e Controles e na comparação dos 3 grupos. Dos parâmetros dismórficos de face foram encontradas diferenças estatisticamente significativas quanto a

Perímetro cefálico na comparação entre Esquizofrênicos X Controles. Essas diferenças adicionam evidências aos achados prévios de dismorfismo em transtornos psicóticos sendo a esquizofrenia um extremo e o transtorno bipolar um transtorno intermediário. Nossos achados reforçam a noção de um transtorno desenvolvimental precoce em esquizofrenia e adicionalmente associa ao transtorno bipolar características similares. Nosso delineamento falhou na identificação de sintomatologia psicótica no grupo de Bipolares. Estudos adicionais deverão enfatizar síndromes psicóticas como transtorno desenvolvimental com características físicas, epidemiológicas e bioquímicas similares e separadas de transtornos não-psicóticos e de controles normais. Objetivos adicionais estão relacionados ao estudo dos efeitos de anormalidades moleculares em genes reguladores do desenvolvimento cerebral, como tireóide, testosterona, estrógenos hormônios, retinóides e em receptores nucleares em ambas as síndromes para testar a hipótese que eventos em genes reguladores do desenvolvimento do corpo e do cérebro aumentem o risco tanto para esquizofrenia e como para transtorno bipolar.

PHENOTYPIC MARKERS IN SCHIZOPHRENIC AND BIPOLAR PATIENTS COMPARED TO NORMAL CONTROLS

SUMMARY

Schizophrenia is a complex disease in which genetic and environmental factors are considered synergistically. Unfortunately, it is not clear the independent effect of each. The present study assessed the frequency of minor physical anomalies (MPA) and dermatoglyphic abnormalities and patterns in 49 DSM-IV Schizophrenic outpatients, 49 DSM-IV Bipolar outpatients and 51 control subjects. The selected Minor Physical Abnormalities were: Cephalic Perimeter (CP), Internal interductal distance (IID), Ogival Palate (OP), Ear Implantation (EI). The dermatoglyphs were 5: total line count (TLC), right-left line difference, A-B line count (ABLC), A-B line right-left difference (ABRLD) and pattern symmetry (PS). Comparisons were made among Schizophrenics X Controls, Bipolars X Controls, Schizophrenics + Bipolars X Controls and Schizophrenics X Bipolars X Controls. Overall, patients (Schizophrenics and bipolars) were more dismorphic than controls. Schizophrenics had less TLC and ABLC than bipolars and controls (bipolars with intermediate count). Finally, Schizophrenics had lower CP than controls. These differences give support to previous findings of dismorphysm in major mental disorders and the idea of major mental disorders as a continuum, were schizophrenia being the extreme and Bipolar disorder an intermediate disorder. The findings support the notion of early developmental disorder in schizophrenia, and additionally bring attention to Bipolar Disorders with associated features. The design failed to identify occurrence of psychosis in the Bipolar Group. Further additional studies must address the issue of psychosis spectrum as a

developmental disorder with similar physical, epidemiological and biochemical features separated from non-psychotic illnesses and from normal subjects.

INTRODUÇÃO

A esquizofrenia é uma doença complexa em que fatores genéticos e ambientais operam de forma sinérgica, atingindo um determinado limiar que desencadeia a doença. Inúmeros fatores têm sido associados com um aumento de risco para a esquizofrenia, entre eles a desnutrição materna, as infecções virais, as complicações obstétricas, o estresse materno, além do fator genético. Este, apesar de ser o mais claramente envolvido, quando tomado isoladamente, não consegue explicar a falha na concordância para esquizofrenia, que varia de 30 a 40 % em gêmeos monozigóticos (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8). Existem diversas abordagens em pesquisa na busca da identificação dos possíveis fatores deletérios ambientais capazes de desencadear o processo patológico. A abordagem da esquizofrenia como uma doença de origem neurodesenvolvimental é defendida por diversos estudos que demonstram alterações morfológicas cerebrais em esquizofrênicos compatíveis com uma origem intra-uterina em fases ainda precoces de desenvolvimento cerebral. Estas evidências são reforçadas por estudos de seguimento que encontraram alterações cognitivas leves, além de sintomas de ansiedade em períodos da vida dos indivíduos em que a doença não era de nenhuma forma evidente, podendo ter ocorrido em qualquer momento antes da avaliação (1). Este fato promove a questão da busca quanto ao período no qual o desenvolvimento cerebral possa ter sido atingido e instalado o processo fisiopatológico envolvido com a etiologia da esquizofrenia. Para a maioria dos autores, a interrupção no processo fisiológico do desenvolvimento cerebral em esquizofrenia, dá-se em estágios mais tardios de organização neuronal, entre o segundo e terceiro trimestre de gestação ou no período perinatal, quando os axônios estão se desenvolvendo, formando suas ligações e tornando-se mielinizados, já que alterações em estágios gestacionais mais precoces levam a transtornos neurológicos e cognitivos mais marcantes (1) O tubo neural desenvolve-se do ectoderma primitivo e do

lúmen do tubo neural origina-se o sistema ventricular e das paredes desse origina-se a substância cerebral (1). Fatores que influenciem adversamente o desenvolvimento cerebral podem influenciar outros tecidos de origem ectodérmica como a pele.

Os achados de Bracha (9), quanto à formação anatômica dermatológica em gêmeos monozigóticos discordantes para esquizofrenia, evidenciaram de forma contundente que dermatóglifos podem servir como um fóssil (marcador cronológico) para qualquer um dos fatores não genéticos que possam afetar um feto diferentemente do outro durante o segundo trimestre de gestação, visto que é um período de migração maciça das células neuronais e das células da derme (9, 10, 11, 12, 13, 14).

Anomalias físicas menores (AFM) e assimetrias físicas de estruturas paralelas são marcadores antropométricos encontrados em esquizofrenia que refletem um insulto pré-natal mais precoce, relacionados ao primeiro trimestre de gestação. Diversos transtornos psiquiátricos, além da esquizofrenia, já foram associados com a presença de AFM, como síndrome hipercinética da infância, autismo e distúrbio de conduta. As anomalias físicas mais comuns localizam-se em região de face e membros e podem passar despercebidas, tanto pelo aspecto de malformação quanto pelo aspecto cosmético. No entanto, são úteis para identificação de possíveis insultos no desenvolvimento fetal no primeiro trimestre de gestação (10). Em alguns estudos sugere-se que a presença de AFM em pacientes esquizofrênicos esteja associada com idade precoce de início da doença, pobre condição pré-mórbida e baixa performance nos testes de QI (15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23).

O único estudo comparando simultaneamente esquizofrênicos com bipolares e controles normais é o de Trixler (2001) (Tabela 1), utilizando a escala de 57 itens de Waldrop, que inclui alterações de corpo (tronco, membros). Trixler evidenciou diferenças

entre esquizofrênicos e controles e entre bipolares e controles, mas não detectou diferenças entre os três grupos comparados simultaneamente. O estudo de McGrath utilizou o conceito de psicose, separando psicose afetiva da não-afetiva, e encontrou diferenças em alterações físicas menores entre as psicoses não-afetivas e controles, e não entre psicoses afetivas e controles. De certa forma, os achados de McGrath e de Trixler se reforçam quanto à psicose e às alterações de fenótipo. Trixler aponta para associação entre um gradiente de gravidade de doença (Esquizofrenia-Bipolar-Controle normal) e alteração de fenótipo. Estes estudos apontam para a necessidade de pesquisas com tamanho amostral maior e menor quantidade de itens de avaliação de dismorfismo. (24, 25, 26, 27, 28)

METODOLOGIA

Foram estudados 49 pacientes portadores de esquizofrenia e 49 de Transtorno Bipolar, conforme critérios do DSM-IV (APA, 1994), com objetivo de investigar possíveis marcadores de alteração de desenvolvimento intra-uterino. Os pacientes foram comparados com 51 controles normais, sem história passada nem familiar de distúrbios psiquiátricos maiores, quanto à presença de marcadores dermatoglíficos e anomalias físicas menores. Os pacientes esquizofrênicos estudados foram recrutados consecutivamente entre os que estavam em atendimento no Ambulatório de Esquizofrenia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) com curso crônico, idades entre 20 e 40 anos, em uso de medicação antipsicótica. Os pacientes bipolares foram selecionados consecutivamente entre os participantes do programa de atendimento de pacientes com Transtorno Afetivo Bipolar do mesmo hospital, igualmente com curso crônico, idades entre 20 e 40 anos, e com medicação ajustada de acordo com indicação clínica. Os controles foram selecionados entre os pacientes e acompanhantes que

aguardavam nas salas de esperas dos ambulatórios de medicina interna e cirurgia do HCPA. Todos preencheram Termo de consentimento aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do HCPA (Hospital credenciado pelo Conselho Nacional de Pesquisa).

Pacientes e controles foram submetidos a uma entrevista semi-estruturada conduzida por um psiquiatra com Residência em Psiquiatria e revisado por psiquiatra sênior com 10 anos de formação em Psiquiatria. Obteve-se auxílio de dados de prontuário, com aplicação de critérios diagnósticos da DSM-IV com objetivo de confirmação diagnóstica. As medidas antropométricas selecionadas (perímetro cefálico, distância interductal interna, implantação de orelhas e palato ogival) foram determinadas pela Escala Waldrop. Os parâmetros de Anormalidades Físicas Menores (AFM) foram determinados por pesquisadores treinados no Serviço de Genética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os dermatóglifos foram estudados através da inspeção visual, para determinação de padrões anômalos. Foram comparados os padrões dermatoglíficos quanto à contagem total das linhas digitais (CTLD), linhas palmares a-b (LPAB), simetria no indivíduo quanto à diferença na contagem direita-esquerda (total digitais direita-esquerda e a-b) e padrões de linhas. Os dados foram coletados através de métodos convencionais de impressão à tinta e foram medidos de forma cega, através da inspeção visual, por um técnico com 20 anos de prática de identificação (Instituto de Identificação do Estado do Rio Grande do Sul). Os dados foram analisados com o objetivo de identificar marcadores de neurodesenvolvimento em pacientes e controles. Foi feito teste de normalidade das amostras, sendo todas comparadas com testes não paramétricos devido a não normalidade das mesmas. Foi aplicada a análise de variância para comparar os escores entre os três grupos e foi realizado o cálculo de regressão logística comparando as variáveis entre os três grupos. Foi utilizado o programa SPSS 8.0 para este estudo estatístico.

RESULTADOS

Descrição da amostra: tabela 2.

Esquizofrênicos tem diferença em Número Total de Linhas, tanto da mão Direita, Esquerda e Direita mais Esquerda, e em Perímetro Cefálico.

Pacientes Bipolares apresentam diferença quanto à contagem a-b Esquerda e Total. Os três grupos comparados entre si (Pacientes Esquizofrênicos X Bipolares X controles normais) apresentam diferença na contagem a-b Esquerda e total e no Perímetro Cefálico.

Os pacientes (Esquizofrênicos + Bipolares) comparados com os controles Normais apresentam diferença na contagem total de linhas das mãos Esquerda + Direita.

Examinando o grupo dos homens, não existe diferença de parâmetros de simetria, linhas a-b, perímetro cefálico e distância interductal interna, comparando pacientes agrupados (esquizofrênicos + bipolares) com controles normais.

Examinando o grupo das mulheres, existe diferença de perímetro cefálico, comparando pacientes agrupados (esquizofrênicos + bipolares) com controles normais.

Em resumo, encontrou-se uma diferença significativa no grupo de esquizofrênicos em relação a controles quanto à contagem de linhas das mãos Direita, Esquerda e D+E, e perímetro cefálico. Nos bipolares comparados com controles normais foi encontrada diferença em a-b Esquerda e de D+E. Comparados os três grupos entre si (Esquizofrênicos X Bipolares X Controles Normais) foi encontrada diferença em Número de Linhas Mão

Esquerda, Esquerda + Direita, a-b Esquerda e Total, e Perímetro Cefálico. Estratificando por gênero, comparando Pacientes Agrupados (Esquizofrênicos + Bipolares) com Controles, no grupo dos homens não houve diferença, e no grupo das mulheres o Perímetro Cefálico foi diferente.

Por último, foi realizado cálculo de regressão logística comparando as variáveis entre os três grupos.

As variáveis significativas na Regressão Logística comparando esquizofrênicos com controles normais foram Linhas Totais e Perímetro Cefálico.

DISCUSSÃO

Os parâmetros antropométricos utilizados em nosso estudo revelaram marcadores fenotípicos que diferenciaram os três grupos estudados. As diferenças encontradas foram:

- Esquizofrênicos X Controles Normais: Linhas Direita, Esquerda, Total de linhas (Direita+Esquerda);
- Pacientes (Esquizofrênicos+Bipolares) X Controles Normais: Total linhas (D+E);

- Esquizofrênicos X Bipolares x Controles Normais: Número de Linhas Mão Esquerda, Direita + Esquerda, Contagem a-b Esquerda, a-b total e perímetro cefálico;
- Bipolares X Controles Normais: a-b Esquerda, a-b total;
- Pacientes (Esquizofrênicos+Bipolares) Homens: sem diferença;
- Pacientes (Esquizofrênicos+Bipolares) Mulheres; Perímetro Cefálico.

Os achados reforçam a hipótese de que os marcadores fenotípicos diferenciam Esquizofrênicos de Controles Normais (linhas D, E, D+E); Bipolares de Controles Normais (linhas a-b), e Pacientes (Esquizofrênicos e Bipolares) de Controles Normais (total de Linhas D+E).

Estes achados acima descritos reforçam parcialmente a literatura a respeito do assunto que sugere que esquizofrenia esteja associada com insultos deletérios intra-uterinos que promovam, além de danos em SNC, alterações de fenótipo. (29) Nossos resultados nos remetem a questionamentos quanto ao método de definição de casos e medida de parâmetros. Os trabalhos que encontraram fenotipia atípica em pacientes esquizofrênicos utilizaram a tabela Waldrop na íntegra. O estudo utilizou apenas alguns parâmetros da mesma. Perguntas envolvendo aspectos étnicos, envelhecimento e possível efeitos genéticos determinando algumas anomalias em oposição a fatores exógenos (30, 31). Algumas tendências ($p < 0,100$) podem ser devidas ao pequeno tamanho da amostra estudada, devendo ser medido em amostras maiores, especialmente o número total de linhas comparando os três grupos entre si.

O achado alterado (total de linhas) em pacientes bipolares surpreendeu, haja visto que esta apresentação, tanto quanto é de nosso conhecimento, não é mencionada em literatura. Recomendam-se estudos adicionais investigando uma possível relação etiológica comum entre esquizofrenia e transtorno bipolar. Esta hipótese é considerada por alguns autores que sugerem que os transtornos psicóticos tenham um *continuum* de gravidade no qual a esquizofrenia estaria no extremo e o Transtorno bipolar no meio (32). Esta observação estende também a hipótese do efeito de reguladores de neurodesenvolvimento (transportadores e receptores nucleares, hormônios, tiroxina, retinóides, estrógenos) sobre o risco de esquizofrenia para outras doenças mentais graves. Em particular, neste estudo, é o efeito do gênero (diferenças nas mulheres e não nos homens). Segue a dúvida quanto à questão da psicose não-esquifrênica, uma vez que o estudo não definiu a ocorrência da mesma nos pacientes bipolares, necessitando um estudo adicional para verificar a relação desta síndrome com os marcadores de fenótipo.

Agradecimentos: Eduardo Ghisolfi, Sebastian Kiegel, Manoela Fonseca, Rebeca Braga

REFERÊNCIAS

- 1 Lobato MI, Abreu PB, knijnick D, Terchkin B, Ghisolfi E, Henriques A, Neurodevelopmental risk factors in schizophrenia. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34: 155-163
- 2 Hulshoff H, Hans H, Susser E, Brown A, Dingemans A, Schnack H, Van Haren N, Ramos L, Wied C, Kanh R, -renatal Exposure to famine and Brain Morphology in Schizophrenia. *Am J. psychiatry* 2000; 157: 1170-1172
- 3 Hultman CM, Öhman A, Cnattingius S et al. Prenatal and neonatal risk factors for schizophrenia. *British Journal of Psychiatry* 1997; 170: 128-133.
- 4 Huttunen MO, Machon RA and Mednick SA. Prenatal Factors in the Pathogenesis of Schizophrenia. *British Journal of Psychiatry* 1994; 164 (suppl. 23): 15-19.
- 5 Kendell RE, McInneny K, Juszczak E and Bain M. Obstetric complications and schizophrenia: Two case – control tudies based on structured obstetric records. *British Journal of Psychiatry* 2000; 176: 516-522.
- 6 Geddes JR, Verdoux H, Takei N, et al. Schizophrenia and Complications of Pregnancy and Labor: An Individual Patient Data Meta-analysis. *Schizophrenia Bulletin* 1999; 25(3):413-423.
- 7 Crow TJ. Invited commentaries on: Obstetric complications and schizophrenia / affective psychoses. *British Journal of Psychiatry* 2000; 176:527:530.
- 8 Pol H, Hoek HW, Susser E, et al. Prenatal Exposure to Famine and Brain Morphology in Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2000; 157:7.

- 9 Bracha HS, Torrey EF, Bigelow LB, et al. Subtle Signs of Prenatal Maldevelopment of the Hand Ectoderm in Schizophrenia: A Preliminary Monozygotic Twin Study. *Biol Psychiatry* 1991; 30:719-725.
- 10 Davis JO, Phelps JA and Bracha HS. Prenatal Development of Monozygotic Twins and Concordance fo Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 1995, 21(3):357-365.
- 11 Davis JO and Bracha HS. Prenatal Growth Markers in Schizophrenia: A Monozygotic Co-Twin Control Study. *Am J Psychiatry*1996; 153(9):1166-1171,.
- 12 Markow TA and Wandler K. Fluctuating Dermatoglyphic Asymmetry and the Genetics of Liability to Schizophrenia. *Psychiatry Research* 1986; 19:323-328.
- 13 Markow TA and Gottesman II. Fluctuating Dermatoglyphic Asymmetry in Psychotic Twins. *Psychiatry Research* 1989; 29:37-43.
- 14 Rosa A, Fañanas L, Bracha HS, et al. Congenital Dermatoglyphic Malformations and Psychosis: A Twin Study. *Am J Psychiatry* 2000; 157:9.
- 15 Green MF, Satz P, Gaier DJ, et al. Minor Physical Anomalies in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 1989; 15(1): 91-99.
- 16 Green MF, Satz P and Christenson C. Minor Physical Anomalies in Schizophrenia Patients Bipolar Patients, and Their Siblings. *Schizophrenia Bulletin* 1994; 20(3):433-440.
- 17 Green MF, Bracha HS, Satz P and Christenson, CD. Preliminary Evidence for an Association Between Minor Psysical Anomalies and Second Trimester: Neurodevelopment in Schizophrenia. *Psychiatry Research* 1994; 53: 119-127.

- 18 Green MF, Satz P, Soper HV and Kharabi F. Relationship Between Physical Anomalies and Age at onset of Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1987; 144:666-667.
- 19 Gualtieri CT, Adams A, Shen CD and Loiselle D. Minor Physical Anomalies in Alcoholic and Schizophrenic Adults and Hyperactive and Autistic Children. *Am J Psychiatry* 1982; 139(5):640-643.
- 20 Guy JD, Majorski LV, Wallace CJ and Guy MP. The Incidence of Minor Physical Anomalies in Adult Male Schizophrenics. *Schizophrenia Bulletin* 1983; 9(4): 571-582.
- 21 Hata K, Iida J, Iwasaka H. Negoro H. Ueda F, Kishimoto T. Minor physical anomalies in childhood and adolescent onset schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*.2003; 57: 17-21.
- 22 Hata K, Iida J, Iwasaka H. Negoro H. Kishimoto T. Association between minor physical anomalies and lateral ventricular enlargement in childhood and adolescent onset schizophrenia. *Acta Psychiatry Scand*. 2003; 108: 147-151.
- 23 Ismail B, Cantor-Graae E. McNeil T. Minor physical anomalies in schizophrenia: cognitive, neurological and other clinical correlates *J. Psych. Res* 2000; 34: 45-56
- 24 Trixler M.,Tényi T. Csábi G. Szabó R. Minor physical anomalies in schizophrenia and bipolar affective disorder. *Schiz Research*, 2001; 52; 195-201
- 25 Mc.Grath J, El-Saadi O, Grim V, Cardy S., Chapple B, Lieberman D. Minor Physical Anomalies and Quantitative Measures of the head and face in Patients With Psychosis. *ARCH GEN PSYCHIATRY*. 2002; 59, 458-464

- 26 Murphy KC and Owen MJ. Minor Physical Anomalies and their Relationship to the Aetiology of Schizophrenia. *British Journal of Psychiatry* 1996; 168:139-145.
- 27 Schiffman J, Ekstrom M, LaBrie J, Schulsinger F, Sorensen H, Mednick S. Minor physical anomalies and schizophrenia spectrum Disorders: A Prospective Investigation., *Am.J.Psychiatry* 2002; 159: 238-243.
- 28 Waldrop MF, Pedersen FA and Bell RQ. Minor Physical Anomalies and Behavior in Preschool Children. *Child Development* 1968, 39:391-400.
- 29 Van Os J, Woodruff PWR, Fañanas L, et al. Association Between Cerebral Structural Abnormalities and Dermatoglyphic Ridge Counts in Schizophrenia. *Comprehensive Psychiatry* 2000; 41(5):380-384.
- 30 Sivkov S and Akabaliev V. Minor physical Anomalies in Mentally Health Subjects: Internal Consistency of the Waldrop Physical Anomaly Scale. *American Journal of Human Biology*. 2003; 67; 15-61
- 31 Lloyd T, Doody G, Brewin J, Park B, Jones P. Minor physical anomalies in schizophrenia: is age a confounding factor? *Schiz.Res.* 2003; 61: 67-73.
- 32 Goodman A, Three independent lines of evidence suggest retinoids as causal to schizophrenia. *Proc natl. Acad. Sci*, 1998; 95; 7240-7244
- 33 Angst J. Historical aspects of the dichotomy between manic-depressive disorders and schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 2002; 57, 5-13

TABELAS

Tabela 1: Revisão dos principais achados de alterações de fenótipo em pacientes com Esquizofrenia e Psicose Afetiva e Não-afetiva, comparados com controles normais

| Autor | anos | Amostra | Instrumento | Resultado | p |
|--------------|-------------|-------------------------|--------------------|------------------|----------|
| Lloyd | 2003 | 50 S , 60 NC | | # | <0,05. |
| Ismail, | 2000 | 60 S , 21 SS, 75 NC | WSM | # | no |
| | | | | Clin/Neurol.rel. | |
| Mc.Grath, | 2002 | 330 P (AP+NAP) x 303 NC | MPA | P ñ aff. # cont. | 0,03 |
| | | | | P aff. #Cont. | >0,05 |
| Trixler | 2001 | 30 S/30 BP/30NC | WS(57) | 3 items esqxc | 0,005 |
| | | | | 1 item bipXc | <0,05 |

Legendas: E= Esquizofrenia, IE= Irmão de Esquizofrênico Não afetado, CN= Controle Normal,

BP= Bipolar, P= Psicose, PA= Psicose Afetiva, PNA= Psicose Não-Afetiva, WS= Escala

Waldrop, WSM= Escala Waldrop modificada, AFM= Anomalias Físicas Menores

Tabela 2: Descrição das Variáveis: todos os sujeitos estudados:

| | N | Média | Dp | Mínimo | Máximo |
|---------------------------|------------|---------------|--------------|---------------|---------------|
| Simetria | 148 | 3,78 | ,93 | 1 | 5 |
| linhas: D | 148 | 86,44 | 46,40 | 0 | 235 |
| linhas: E | 148 | 83,14 | 44,57 | 0 | 232 |
| Linhas D+E | 148 | 169,80 | 89,14 | 3 | 467 |
| a-b D | 145 | 40,14 | 6,50 | 26 | 64 |
| a-b E | 147 | 41,90 | 6,12 | 24 | 61 |
| a-b Total | 145 | 82,06 | 11,79 | 53 | 122 |
| Perímetro Cefálico | 150 | 57,083 | 2,174 | 52,0 | 63,8 |
| Dii | 150 | 30,276 | 3,266 | 23 | 42 |
| dif. D-E | 148 | 12,18 | 12,13 | 0 | 82 |

**ESTUDO DE MARCADORES MOLECULARES RELACIONADOS A CADEIA DOS RETINÓIDES
(TTR E RXR β) E SUAS RELAÇÕES COM ENDOFENÓTIPOS CLÍNICOS E DISMÓRFICOS EM
ESQUIZOFRENIA**

Maria Inês Lobato, Paulo Abreu, Dina Ruano, Antonio Macedo, Ana Dourado, Maria João Soares, José Valente, Isabel Coelho, Vítor Santos, Maria Helena Azevedo, Mara Hutz, Clarissa Gama, Denise Zandoná, Gustavo Maegawa

Maria Inês Rodrigues Lobato

MD; Programa de Esquizofrenia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

Paulo Belmonte-de-Abreu

MD; PHD, Programa de Esquizofrenia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

Joana Palha

Universidade do Minho; Braga; Portugal

Ann B. Goodman

MD, PHD Harvard University , Boston

Endereço para correspondência: Rua Vasco da Gama, 1301/401
Rio Branco, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil CEP 90420-111
Tel. 051 33335541 e-mail mlupo@pro.via-rs.com.br

**ESTUDO DE MARCADORES MOLECULARES RELACIONADOS A CADEIA DOS
RETINÓIDES (TTR E RXRB) E SUAS RELAÇÕES COM ENDOFENÓTIPOS
CLÍNICOS E DISMÓRFICOS EM ESQUIZOFRENIA**

RESUMO

O presente estudo investigou a presença de polimorfismos em RXR β UTR 376A>T, RXR β UTR 243G>T, TTR exon 2, TTR exon 4, a associação com AFM e endofenótipos clínicos em uma amostra de 87 indivíduos brasileiros com diagnóstico de esquizofrenia (CID 10-OMS) diagnosticados através do sistema OPCRIT. Embora não haja nenhuma associação alélica, encontrou-se uma forte associação do genótipo RXR β UTR376A>T BB e dois sintomas do OPCRIT (“pensamento rápido” #31; p= 0.009 e “humor irritável”: #36; p=0,014 e um fenótipo “diminuição do perímetro cefálico; p=0,007). Além disto, os dados sugerem possível envolvimento de polimorfismo em receptores nucleares (RXR β UTR376A) com três sintomas afetivos (afeto embotado, # 33 p= 0,106; insônia intermediária, #45 p=0,064 e aumento do apetite, #50 p= 0,09); e uma crença anormal (#55 p= 0,075). Não se encontrou associação de polimorfismos em TTR e endofenótipos clínicos ou dismórficos. Considerado globalmente, o estudo fornece suporte parcial para a teoria do envolvimento de polimorfismo no gene da cascata do ácido retinóico (genótipo RXR β UTR376A>T BB) com anormalidades desenvolvimentais em esquizofrenia (microcefalia) e sintomas afetivos (pensamento rápido e humor irritável).

INTRODUÇÃO

Apesar dos muitos avanços médicos e técnicos nos últimos anos, a esquizofrenia segue sendo um transtorno de repercussões catastróficas para o indivíduo e seus familiares. É um transtorno crônico que afeta aproximadamente 1% da população em todo o mundo. É considerada a mais grave entre todos os transtornos psiquiátricos e provoca sintomas como embotamento afetivo, avolia, transtorno do pensamento, alucinações auditivas, isolamento social, associado com curso progressivo e deteriorante. Embora suas causas permaneçam ainda desconhecidas, evidências de estudos de famílias com sujeitos afetados, gemelaridade e estudos de adoção demonstram que aspectos genéticos participam da etiologia da doença, mas a falha na concordância de 100% em gêmeos monozigóticos implica que fatores epigenéticos ambientais associam-se aos genéticos para a instalação da doença (1). Embora grandes esforços tenham sido feitos, nenhum gene isoladamente foi implicado na doença. Por esta razão tem crescido o interesse em pesquisas que ligam fatores genéticos e ambientais. Fatores ambientais como os hormônios e as vitaminas interagem com diferentes receptores nucleares e interferem nos processos transcricionais de inúmeros genes de forma desenvolvimental. Entre estes, são considerados bons candidatos os retinóides e os hormônios tireóideos (2). Retinóide na forma de vitamina A é transportado pela TTR (transtirretina) através do plexo coróide, fazendo supor com isto que o ácido retinóico seja produto morfogênico da cascata metabólica do retinóide para o cérebro em desenvolvimento. A Transtirretina é a transportadora tanto do retinol como da tiroxina tanto no plasma como no líquido os quais são convertidas dentro das células em moléculas metabolicamente ativas (ácido retinóico e T3) que interagem com seus respectivos receptores nucleares. (3, 4)

O envolvimento dos retinóides e dos hormônios tireóideos já foi implicado em várias fases do neurodesenvolvimento como migração neuronal, sinaptogenese, regulação do

crescimento axonal e dendrítico, além da regulação dos genes dos receptores dopaminérgicos. Alterações no metabolismo dos retinóides e dos hormônios tireóideos foram referidos na etiologia de outros transtornos psiquiátricos como cretinismo e depressão. (3, 4)

Em 1998, Goodman propôs um modelo fisiopatológico que relacionava esquizofrenia com a cascata metabólica da vitamina A. Evidências clínicas que conectam retinóides à esquizofrenia mostram que tanto toxicidade como déficit resultam em apresentações clínicas que lembram as da esquizofrenia (e.g. transtorno do pensamento, déficit cognitivo, alargamento ventricular, agenesia do corpo caloso, microcefalia e uma variedade malformações congênitas). Entre estas, anomalias digitais e craniofaciais seriam proeminentes (5). Outras linhas de evidências que conectam esquizofrenia aos retinóides vêm de estudos de loci gênicos e fatores de regulação transcricional. Genes do receptor D-2, sinapsin dopamina β -hidroxilase, estão entre os que a expressão precisa ser ativada pelos retinóides (6, 7, 8, 9). Estudos farmacológicos, histológicos e de neuroimagem têm implicado disfunção dopaminérgica à esquizofrenia. O processo neurodesenvolvimental referido aponta para a busca de marcadores moleculares neste receptor (polimorfismos/mutações) em indivíduos afetados e seus familiares, esperando encontrar substrato molecular para pelo menos algumas formas de esquizofrenia (10). Um dos maiores problemas para a pesquisa em esquizofrenia refere-se ao diagnóstico. Definir características da doença é especialmente útil para o estabelecimento do diagnóstico e para o monitoramento da resposta à terapêutica. Esquizofrenia é a mais heterogênea entre as doenças psiquiátricas e suas múltiplas formas clínicas tornam a pesquisa nesta área mais complexa quando comparadas a outras. Com objetivo de tentar encontrar um nexo entre as etiologias subjacentes, é necessária a busca de fenótipos clínicos adicionais (dependente da fenomenologia sintomática) e “marcadores

patológicos” (independentes da fenomenologia sintomática) que possam estatisticamente definir a doença (10).

Anomalias Físicas Menores (AFM) e assimetria de estruturas físicas paralelas são marcadores antropométricos frequentemente presentes em esquizofrênicos e refletem um dano pré-natal ocorrido entre o primeiro e o segundo trimestre de gestação. Vários transtornos psiquiátricos já foram associados a anomalias físicas menores, como transtorno de conduta na infância, autismo e síndrome hiperkinética. As anormalidades mais comuns são as de face e membros e podem passar despercebidas por muitos anos. Alguns autores sugerem que AFM estão associadas com instalação precoce da doença, pior funcionamento pré-mórbido e baixa performance no QI (11).

Trixler (12) apresentou o único estudo comparando simultaneamente esquizofrênicos, bipolares e controles normais (Tabela 1), utilizando a escala Waldrop (13) com 57 itens, incluindo alterações no tronco e membros. Trixler encontrou várias diferenças entre esquizofrênicos e controles, bipolares e controles, mas não entre os três grupos. McGrath (14) utilizou o conceito de psicose afetiva X não-afetiva, e detectou braquicefalia naqueles com transtorno psicótico quando comparados a controles.

Os achados McGrath e Trixler reforçam a idéia entre psicose e alterações fenotípicas. Trixler encontrou uma associação entre gravidade de doença (Esquizofrenia-Bipolar-Controles Normais) e alterações fenotípicas, e os resultados de McGrath ligam alterações fenotípicas à psicose. Este estudo é mais robusto sob ponto de vista estatístico já que sua amostra é 10 vezes maior.

Considerando estes fatores decidimos estudar polimorfismo em marcadores moleculares de genes da cadeia metabólica do ácido retinóico ou os genes que regulam sua expressão, denominados TTR, RXR β , e sua associação com características clínicas e morfológicas em uma amostra de indivíduos esquizofrênicos.

MÉTODOS

Foi estudada uma amostra de 87 esquizofrênicos brasileiros (75 homens e 12 mulheres, idade variando entre 18-63, média 34.3 anos). Familiares e pacientes assinaram o consentimento informado após aprovação pelo comitê de bioética institucional. Todos os indivíduos receberam o diagnóstico de esquizofrenia usando o sistema OPCRIT. As entrevistas diagnósticas foram formuladas por um dos autores. A amostra foi agrupada após análise fatorial dos itens do OPCRIT. Posteriormente foi realizada uma análise de Clusters usando método “Between Groups Linkage”, que resultou em quatro diferentes grupos populacionais. Um grupo foi excluído pela sua não representatividade estatística. Parâmetros de Anomalias Físicas Menores (AFM) foram realizados por dois pesquisadores do serviço de genética do hospital onde o estudo foi realizado (Hospital de Clínicas de Porto Alegre), utilizando a escala Waldrop. Os parâmetros dismórficos foram valorados de quatro formas:

- 1) Escala Waldrop, aplicada na íntegra, somando-se os pesos conforme orientação do autor (13).
- 2) Soma dos escores craniofaciais dando maior peso aos microcefálicos.

3) Craniofacial + membros.

4) Microcefálicos (peso 4) + DII (peso 4) + 1 pelos demais.

5) Comparação das variáveis perímetro cefálico, distância interductal interna e externa com os itens de OPCRIT considerados relevantes para o diagnóstico.

Na tentativa de diferenciarmos um grupo de indivíduos mais dismórficos, foi dado escore 4 para os que apresentavam perímetro cefálico e medida da distância interductal interna 1dp abaixo da média.

Foram coletadas amostras de sangue venoso de todos os sujeitos e o seu DNA foi extraído usando procedimentos “salting-out”. Para genotipar os c.-245 RXRbeta_UTR 376A>T, RXRbeta_UTR 243G>T e TTR exon 2 e TTR exon 4 T>A, foram feitas condições de PCR previamente descritas (2)

RESULTADOS

As variáveis demográficas, aspectos pré-mórbidos e de curso estão descritas na tabela 2.

Pela análise de cluster definimos três grupos distintos: Positivos (grupo 1), Desorganizados (grupo 2), Negativos (grupo 3). (Tabela 3)

Comparando os dados sócio-demográficos com os grupos obtidos, verificou-se que não deve existir diferença entre eles, exceto o OPCRIT 13 (histórico familiar de esquizofrenia), no qual a ausência de histórico está associada ao grupo 3 (negativos). Não se verificou diferença entre os grupos em relação: OPCRIT 8 (duração da doença em semanas); OPCRIT 15 (doença estrutural anterior ao início); OPCRIT 16 (claro estressor psicossocial anterior ao início); OPCRIT 78 e 83 (diagnóstico na vida de dependência e abuso de substâncias psicoativas). Comparando dois grupos de respostas a neurolépticos (High + Very High) vs. (moderate + No Response), verificou-se que o grupo 3 (negativo) está associado a uma forte resistência ao tratamento (resíduo = 2.2).

Em relação aos parâmetros dimórficos quando utilizamos itens da escala Waldrop na íntegra ou em agrupamentos (vide metodologia) não encontramos diferenças estatisticamente significativas. TTR e RXR β (p=0,595 para 376A e p=0,608 para 243G) (tabela 4). No entanto, na análise perímetro cefálico, distância interductal interna e externa encontramos associações com genótipo RXR β UTR376A (BB). (tabela 5)

DISCUSSÃO

O presente estudo investigou a presença de polimorfismos em RXR β UTR 376A>T, RXR β UTR 243G>T, TTR exon 2, TTR exon 4, a associação com AFM e endofenótipos clínicos em uma amostra de 87 indivíduos brasileiros com diagnóstico de esquizofrenia (CID 10-OMS) diagnosticados através do sistema OPCRIT. Embora não haja nenhuma associação alélica, encontrou-se uma forte associação do genótipo RXR β UTR376A>T BB e dois sintomas do OPCRIT (“pensamento rápido” #31; p= 0.009 e “humor irritável”: #36; p=0,014

e um fenótipo “diminuição do perímetro cefálico; $p=0,007$). Além disto, os dados sugerem possível envolvimento de polimorfismo em receptores nucleares (RXR β UTR376A) com três sintomas afetivos (afeto embotado, # 33 $p= 0,106$; insônia intermediária, #45 $p=0,064$ e aumento do apetite, #50 $p= 0,09$); e uma crença anormal (#55 $p= 0,075$). É possível que aumentando a amostra esta tendência observada poderia demonstrar significância estatística. Não se encontrou associação de polimorfismos em TTR e endofenótipos clínicos ou dismórficos. Considerado globalmente, o estudo fornece suporte parcial para a teoria do envolvimento de polimorfismo no gene da cascata do ácido retinóico (genótipo RXR β UTR376A>T BB) com anormalidades desenvolvimentais em esquizofrenia (microcefalia) e sintomas afetivos (pensamento rápido e humor irritável). Apesar do tamanho da amostra não permitir estratificação e aplicação de métodos multivariados para a verificação de estudos de interações endofenotípicas específicas, o aumento da amostra poderá detalhar estas interações. Considerando a complexa etiologia da esquizofrenia, o significado dos nossos resultados deve ser considerado sob ponto de vista crítico. Considerando-se que os retinóides são potentes reguladores transcricionais de diversos genes alvo e com isto com papel morfogênico, o conhecimento preciso da “cascata” torna-se mais complexo pela evidência do envolvimento de outros parceiros nucleares heterodímeros e seus ligantes que são também suscetíveis a interações epistáticas adicionais com o ambiente (10). Os genes mais importantes já identificados da cascata dos retinóides são os de transcrição, denominados receptores nucleares, receptores de ácido retinóico (RAR) α , β e γ e os receptores de retinóide X (RXR) α , β e γ , que quando agem juntos seus parceiros heterodímeros mais comuns são os receptores nucleares 1-relacionados (NURR1) e receptores de proliferação e ativação peroxisome (PPARs). A associação observada entre o genótipo RXR β BB, o grupo de sintomas afetivos (afeto embotado, insônia intermediária, aumento de apetite) e transtorno de pensamento (presente em síndromes esquizofrênicas e afetivas) contrasta com a evidência de associação

com marcador dismórfico específico de distúrbio neurodesenvolvimental em esquizofrenia (diminuição do perímetro cefálico). Embora a questão envolvendo um provável erro tipo I ser relativamente fraca ($p < 0,001$), poderia se pensar em possível erro devido a testagem repetida.

Um possível fator de confusão não controlado em nosso estudo refere-se às dificuldades relacionadas à aferição da etnia na população Latino-Americana. Estudos repetidos argumentam para o risco de falsa aferição de etnia devido a grande miscigenação em nossa população. Nossos resultados podem estar associados a um viés metodológico, devido à imprecisão da definição étnica. Este efeito apesar de ser bem conhecido no norte e nordeste do Brasil (Bahia, Ceará, Pernambuco), pode ser considerado de menor importância no sul brasileiro (Rio Grande do Sul), região já previamente descrita como predominantemente de origem europeia com menor quantidade de nativos e africanos.

Outro possível questionamento referente a erro tipo-1 está relacionado ao pequeno número de alterações dismórficas corporais encontradas. Somente uma medida entre 23 foi identificada. Uma explicação possível pode estar ligada ao fato das anomalias previamente descritas em esquizofrenia serem sutis. Para alguns autores deveria ser privilegiada a investigação de alterações de linha média em face e crânio em esquizofrênicos (15). Outros descrevem resultados significativos com a Escala Waldrop (EW) (16, 17, 18, 19, 20, 21) e Escala Waldrop modificada (22, 23, 24, 25, 26). Entretanto não há consenso sobre o número de itens da EW e seria inadequada a inclusão de 57 itens (EW modificada) para uma amostra de 87 indivíduos.

A análise de cluster dos itens do OPCRIT confirma evidências prévias de três dimensões de sintomas em esquizofrenia (negativo, positivo, desorganizado) (27, 28, 29). A

falha na associação do cluster de dimensões de sintomas de itens pré-mórbidos e prognósticos pode se dever a baixo poder da amostra. Entre todas as variáveis sócio-demográficas somente uma apresentou associação positiva (história familiar de esquizofrenia, #13). Casos episódicos (não-familiares) são associados com maior número de sintomas do cluster 3 (Dimensão Negativa) sugerindo uma forma mais grave de doença envolvendo dano ambiental. Outros itens falharam em revelar diferenças significativas entre os grupos (duração de doença #8, doença estrutural precedendo instalação da doença #15, estressor psicossocial antes da instalação #16 e abuso ou dependência substância psicoativa #83 e #78). Resposta a tratamento está diminuída no grupo dos negativos (#3) (Resistência Alta + Resistência Muito Alta vs. Resistência Moderada + Sem Resistência) ($p= 0,00x$, residual = 2.2), sendo isto conhecido, já que este grupo de sintomas segue “intratável” em esquizofrenia.

Outras características clínicas e demográficas da amostra (idade de instalação, história pré-mórbida e incapacitação) estão de acordo com a literatura sobre esquizofrenia, achado que promove evidência adicional para a generalização dos nossos dados.

Por fim deve-se considerar os aspectos envolvidos na própria idéia etiológica da esquizofrenia. É sabido que esquizofrenia é uma doença de etiologia multifatorial e que estes de forma sinérgica atuam alcançando o limiar para desencadear a doença. Os múltiplos fatores, intensidade, momento da ação, o sítio envolvido e estressores ambientais pós-natais são variáveis responsáveis pelas diferentes formas clínicas tanto quanto ao grupo de sintomas, apresentação fenotípica e quanto ao grau de malignidade da doença.

Portanto é grande o desafio da pesquisa e da análise dos resultados dos estudos desta doença.

REFERÊNCIAS

- 1 Tsuang MT, Stone WS, Faraone SV Genes, environment and schizophrenia. *Br J Psychiatry suppl.* 2001 Apr; 40:s18-24.
- 2 Ruano D, Macedo A, Dourado A, Soares MJ, Valente J, Coelho I, Santos V, Azevedo MH, Goodman A, Hutz M, Gama C, Lobato MI, Abreu PB, Palha J. NR4A2 and schizophrenia; Lack of Association in a portuguese/brazilian association study. *Am J Med Gen* 2004; 1 128B(11): 41-5.
- 3 William S. Blaner and James Allen Olson. Chapter 5: Retinol and retinoic acid metabolism in *THE RETINOIDS: Biology, chemistry and medicine*. 2nd edition. Edited by M.B. Sporn, A.B Roberts, and D.S. Goodman., Raven Press, Ltda., New York, 1994. Pp229-256.
- 4 William S. Blaner and James Allen Olson. Chapter 6: Plasma retinol-binding proteins in *THE RETINOIDS: Biology, chemistry and medicine*. 2nd edition. Edited by M.B. Sporn, A.B Roberts, and D.S. Goodman., Raven Press, Ltda., New York, 1994. Pp257-281.
- 5 Goodman A, Three independent lines of evidence suggest retinoids as casual to schizophrenia. *Proc natl. Acad. Sci*, 1998; 95; 7240-7244
- 6 Samad TA, Krezel W, Chambon P, Borrelli E. Regulation of dopaminergic pathqays by retinoids: actvation of D2 receptor promoter by members of the retinoic acid receptor-retinoid X receptor family. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94(26): 14349-54
- 7 Kim HS, Hong SJ, leDoux MS and Kim KS. Regulation of the Tyrosine Hydroxilase amd dopamine beta-hydroxilase genes by the transcription factor AP-2. *J. Neurochem* 2001; 76: 280-294

- 8 Kim KS, Kim CH, Hwang DY, Seo H, Chung S, Hong SJ, Lim JK, Anderson T, Isacson O. Orphan nuclear receptor Nurr1 directly transactivates the promoter activity of the tyrosine hydroxylase gene in a cell-specific manner. *J. Neurochem* 2003; 85:622-634
- 9 Balmer JE, Blomhoff R. Gene expression regulation by retinoid acid. *J. lipid Res* 2003; 43: 1773-1808.
- 10 Goodman A, Pardee A, Molecular Neurobiological in Schizophrenia: Seeking a Synthesis- Meeting april 11-14, 1999 Report.
- 11 Lobato MI, Abreu PB, Knijnick D, Teruschkin B, Ghisolfi E, Henriques A, Neurodevelopmental risk factors in schizophrenia. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34(2): 1
- 12 Trixler M., Tényi T. Csábi G. Szabó R. Minor physical anomalies in schizophrenia and bipolar affective disorder. *Schiz Research*, 2001; 52; 195-201
- 13 Waldrop MF, Pedersen FA and Bell RQ. Minor Physical Anomalies and Behavior in Preschool Children. *Child Development* 1968, 39:391-400.
- 14 McGrath J, El-Saadi O, Grim V, Cardy S., Chapple B, Lieberman D. Minor Physical Anomalies and Quantitative Measures of the head and face in Patients With Psychosis. *Arch Gen Psychiatry* 2002; 59, 458-464
- 15 Ismail B, Cantor-Graae E. McNeil T Minor physical anomalies in schizophrenia: cognitive, neurological and other clinical correlates *J. Psych. Res* 2000; 34: 45-56
- 16 Lloyd T. Doody G, Brewin J, Park B. Jones P Minor physical anomalies in schizophrenia: is age a confounding factor? *Schiz.Res.* 2003; 61: 67-73.

- 17 Green MF, Satz P, Gaier DJ, et al. Minor Physical Anomalies in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 1989; 15(1): 91-99.
- 18 Green MF, Satz P and Christenson C. Minor Physical Anomalies in Schizophrenia Patients Bipolar Patients, and Their Siblings. *Schizophrenia Bulletin* 1994; 20(3):433-440.
- 19 Green MF, Bracha HS, Satz P and Christenson, CD. Preliminary Evidence for an Association Between Minor Physical Anomalies and Second Trimester: Neurodevelopment in Schizophrenia. *Psychiatry Research* 1994; 53: 119-127.
- 20 Green MF, Satz P, Soper HV and Kharabi F. Relationship Between Physical Anomalies and Age at onset of Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1987; 144:666-667.
- 21 Guy JD, Majorski LV, Wallace CJ and Guy MP. The Incidence of Minor Physical Anomalies in Adult Male Schizophrenics. *Schizophrenia Bulletin* 1983; 9(4): 571-582.
- 22 Hata K, Iida J, Iwasaka H. Negoro H. Ueda F, Kishimoto T. Minor physical anomalies in childhood and adolescence onset schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*.2003; 57: 17-21.
- 23 Hata K, Iida J, Iwasaka H. Negoro H. Kishimoto T. Association between minor physical anomalies and lateral ventricular enlargement in childhood and adolescent onset schizophrenia. *Acta Psychiatry Scand*. 2003; 108: 147-151.
- 24 Murphy KC and Owen MJ. Minor Physical Anomalies and their Relationship to the Aetiology of Schizophrenia. *British Journal of Psychiatry* 1996; 168:139-145.

- 25 Schiffman J, Ekstrom M, LaBrie J, Schulsinger F, Sorensen H, Mednick S. Minor physical anomalies and schizophrenia spectrum Disorders: A Prospective Investigation., *Am.J.Psychiatry* 2002; 159: 238-243.
- 26 Sivkov S and Akabaliev V. Minor physical Anomalies in Mentally Health Subjects: Internal Consistency of the Waldrop Physical Anomaly Scale. *Americam Journal of Human Biology*. 2003; 67; 15-61
- 27 Cardno, AG., Sham, PC., Farmer, AE., Murray, RM., McGuffin, P.. Heritability of Schneider first-rank symptoms. *Br J of Psyc* 2002; 180: 35-8
- 28 Cardno, AG; Jones, LA; Murphy, KC; Asherson, P; Scott, LC; Williams, J; Owen, MJ; McGuffin, P; Factor Analysis of schizophrenic symptoms using the OPCRIT checklist; *Schizophrenia Research* 1996; 22: 233-239.
- 29 Wickham, H., Walsh, C., Asherson, P., Taylor, C., Sigmundson, T., Gill, M., Owen, MJ., McGuffin, P., Murray, R., Sham, P. Familiaty of symptom dimensions in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 2001; 47: 223-32

TABELAS

Tabela 1: Principais achados fenotípicos na esquizofrenia e psicose afetiva e não-afetiva, em comparação com controles normais.

| Autor | ano | amostra | instrumento | resultados | p |
|--------------|------------|---------------------------|--------------------|------------------------------------------|----------|
| Lloyd | 2003 | 50 S, 60NC | | <0,05 | |
| Ismail | 2000 | 60 S, 21 SS | WSM | # no Clin/Neurol.rel. | |
| Mc.Grath | 2002 | 330P (AP+NAP) x 303 CN | MPA | Pri aff.#cont.0,03 P aff.= Cont.>0,05 | |
| Trixler | 2001 | 30 S/30 BP / 30 NC | WS (57) | 3 itens esqxc.0005 | |
| 1 | item | | | | |
| bipXc<0,05 | | | | | |

Tabela 2: Variáveis demográficas

| Variáveis OPCRIT | Resposta | Frequência | % |
|--------------------------------------|------------------------------------------|----------------------|---------------|
| Gênero | Feminino | 12 | 13.79 |
| | Masculino | 75 | 86.21 |
| | Total | 87 | 100.00 |
| Social Pré | Bom ajustamento | 45 | 59.21 |
| | Mal ajustamento | 31 | 40.79 |
| | Total | 76 | 100.00 |
| Dist. Pré | Ausente | 52 | 69.33 |
| | Presente | 23 | 30.67 |
| | Total | 75 | 100.00 |
| Abuso SPA | Ausente | 52 | 68.42 |
| | Presente | 24 | 31.58 |
| | Total | 76 | 100.00 |
| Hist. Esq. | Sim | 43 | 56.58 |
| | Não | 33 | 43.42 |
| | Total | 76 | 100.00 |
| Prej. durante dist. | Prejuízo sub. social | 5 | 6.58 |
| | Prejuízo no papel mais importante | 12 | 15.79 |
| | Não funciona nada | 59 | 77.63 |
| | Total | 76 | 100.00 |
| | Det. In pre func. | Ausente | 6 |
| Det. In pre func. | Presente | 70 | 92.11 |
| | Total | 76 | 100.00 |
| | Course | Mult. com boa | 2 |
| Mult. com recorrência parcial | | 9 | 11.84 |
| Doença crônica cont. | | 23 | 30.26 |
| Doença crônica cont. com det. | | 42 | 55.26 |

| | | |
|--------------|-----------|---------------|
| Total | 76 | 100.00 |
|--------------|-----------|---------------|

Tabela 3: Pacientes e itens do Opcrit

| Opcrit | Grupo1 | | Grupo2 | | Grupo3 | |
|------------|--------|----|--------|----|--------|----|
| | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| o17 | 8 | 18 | 1 | 15 | 13 | 16 |
| o18 | 11 | 15 | 10 | 6 | 23 | 6 |
| o26 | 10 | 16 | 5 | 11 | 20 | 9 |
| o28 | 11 | 15 | 4 | 12 | 23 | 6 |
| o29 | 8 | 18 | 2 | 14 | 19 | 10 |
| o32 | 2 | 24 | 4 | 12 | 7 | 22 |
| o33 | 2 | 24 | 3 | 13 | 7 | 22 |
| o34 | 3 | 23 | 4 | 12 | 17 | 12 |
| o54 | 2 | 24 | 3 | 13 | 3 | 26 |
| o57 | 10 | 16 | 15 | 1 | 22 | 7 |
| o58 | 7 | 19 | 4 | 12 | 19 | 10 |
| o59 | 4 | 22 | 6 | 10 | 16 | 13 |
| o61 | 12 | 14 | 12 | 4 | 23 | 6 |
| o66 | 10 | 16 | 13 | 3 | 20 | 9 |
| o67 | 8 | 18 | 16 | 0 | 26 | 3 |
| o68 | 2 | 24 | 11 | 5 | 27 | 2 |
| o73 | 4 | 22 | 8 | 8 | 26 | 3 |
| o74 | 2 | 24 | 9 | 7 | 25 | 4 |
| o75 | 4 | 22 | 3 | 13 | 25 | 4 |
| o76 | 5 | 21 | 6 | 10 | 24 | 5 |
| o77 | 11 | 15 | 6 | 10 | 24 | 5 |

Tabela 4: Genótipo e AFM

| Variável | Genótipo (RXRbeta UTR376A) | Média | dp | p-valor |
|-----------|----------------------------|-------|------|---------|
| perímetro | Bb+bb | 57.75 | 1.29 | 0.007 |
| | BB | 56.51 | 1.83 | |
| DII | Bb+bb | 9.54 | 0.79 | 0.039 |
| | BB | 9.14 | 0.60 | |
| DIE | Bb+bb | 3.42 | 0.53 | 0.165 |
| | BB | 3.22 | 0.47 | |

Tabela 5: Genótipo e itens do OPCRIT

| Opcrits | Apresenta | Bb+bb | BB | P valor |
|---------|-----------|-----------|-----------|---------|
| 31 | Não | 26(57.8%) | 19(42.2%) | 0.009 |
| | Sim | 3(18.8%) | 13(81.3%) | |
| 33 | Não | 1(14.3%) | 6(85.7%) | 0.106 |
| | Sim | 28(51.9%) | 26(48.1%) | |
| 36 | Não | 24(60.0%) | 16(40.0%) | 0.014 |
| | Sim | 5(23.8%) | 16(76.2%) | |
| 45 | Não | 23(56.1%) | 18(43.9%) | 0.064 |
| | Sim | 6(30.0%) | 14(70.0%) | |
| 50 | Não | 17(39.5%) | 26(60.5%) | 0.090 |
| | Sim | 12(66.7%) | 6(33.3%) | |
| 55 | Não | 12(36.4%) | 21(63.6%) | 0.075 |
| | Sim | 17(60.7%) | 11(39.3%) | |

NR4A2 E ESQUIZOFRENIA: AUSÊNCIA DE ASSOCIAÇÃO NUM ESTUDO PORTUGUÊS/BRASILEIRO

Dina Ruano,^{1,2} Antonio Macedo,³ Ana Dourado,³ Maria João Soares,³ José Valente,³ Isabel Coelho,³ Vítor Santos,³ Maria Helena Azevedo,³ Ann Goodman,⁴ Mara Helena Hutz,⁵ Clarissa Gama,⁶ Maria Inês Lobato,⁵ Paulo Belmonte-de-Abreu,⁶ and Joana Almeida Palha^{1,2*}

¹Health Sciences School, University of Minho, Braga, Portugal

²Institute for Molecular and Cell Biology, Porto, Portugal

³Instituto de Psicologia Médica, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

⁴ Department of Psychiatry at Massachusetts Mental Health Center, Harvard Medical School, Boston

⁵ Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

⁶ Departamento de Psiquiatria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

O presente estudo investiga a associação de mutações no receptor nuclear NR4A2 em pacientes esquizofrênicos. O receptor humano 1 relacionado ao Nur, NR4A2, é um receptor nuclear órfão que pode ser constitutivamente ativo enquanto fator de transcrição e para o qual nenhum ligante natural foi identificado ainda. Sozinho ou com o receptor retinóide X, RXR, o NR4A2 influencia a expressão de diversos genes importantes para o desenvolvimento e regulação do cérebro humano. Na ausência do Nurr 1 (o homólogo do camundongo para o NR4A2 humano), neurônios de camundongo dopaminérgicos mesencefálicos ventrais evidenciam um severo fracasso em seu desenvolvimento, uma condição letal logo após o nascimento. O envolvimento de Nurr1 no sistema dopaminérgico torna-o um bom candidato para

estudo em transtornos neuropsiquiátricos como a esquizofrenia e o mal de Parkinson. Evidências de outros apóiam esta hipótese (1) o mapeamento do gene NR4A2 até o cromossomo 2q22-23, uma região com vínculo sugestivo à esquizofrenia e (2) a identificação de mutações em pacientes com esquizofrenia (c.366-369delTAC, c.308^A>G, c.-469delG), depressão maníaca (c.289^A>G), e mal de Parkinson familiar (c.-291delT, c.-245T >G). Para estender ainda mais essas observações, buscamos todas essas mutações em 176 portugueses caucasianos e 82 brasileiros caucasianos com diagnóstico de esquizofrenia a vida inteira. O estudo não conseguiu identificar quaisquer das mutações descritas nos pacientes ou controles. Ainda assim, esses resultados negativos não excluem a expressão alterada de receptores nucleares na esquizofrenia ou a presença de outras mutações.

Parte desse estudo foi apresentado no 10th World Congress on Psychiatric Genetics, Brussels, Belgium, October 2002.

Apoio financeiro: Fundação para a Ciência e Tecnologia (Portugal); Grant number: POCTI/MGI/35837-FEDER; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, BRASIL); GRICES (Portugal)/ CAPES (Brasil).

*Correspondência para: Joana Almeida Palha, Life and Health Sciences Research Institute, Health Sciences School, University of Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal.

E-mail: jpalha@ecsau.de.uminho.pt

DESCRITORES: Nurr 1; receptor nuclear órfão; dopamina; retinóides.

INTRODUÇÃO

A esquizofrenia é um transtorno psicótico de etiologia desconhecida. Estudos com famílias e gêmeos demonstram uma base genética para a doença (Tsuang et al. 2001). Diversos estudos sobre o genoma identificaram loci de cromossomas consistentemente vinculados a uma maior suscetibilidade para a esquizofrenia em diferentes populações (Lewis et al. 2003). Apesar da evidência de predisposição genética, a falta de concordância em gêmeos monozigóticos sugere que um efeito ambiental epigenético é necessário para o começo da doença (Tsuang et al. 2001).

Por essa razão tem aumentado o interesse na hipótese que liga tanto mecanismos genéticos quanto mecanismos relacionados com o ambiente. Fatores ambientais tais como hormônios e vitaminas interagem com diferentes receptores nucleares e interferem na transcrição de diversos genes numa maneira evolutiva regulada. Entre estes estão os retinóides, considerados bons candidatos por causa de estudos de vinculação genética implicando a esquizofrenia com a desregulação da cascata retinóide e/ou genes cuja expressão eles regulam (Goodman, 1998). Os genes para o receptor de dopamina 2, sinapsina e dopamina beta-hidroxilase estão entre aqueles cuja expressão exige ativação pelos retinóides (Samad et al, 1997; Kim et al, 2001, 2003; Balmer e Blomhoff, 2002). Dados farmacológicos, histológicos e de imagens cerebrais há muito têm implicado a disfunção dopaminérgica na etiologia da esquizofrenia.

A presença de retinóides pode, portanto, interferir na suscetibilidade à esquizofrenia, seja diretamente, através do sistema da dopamina, ou indiretamente através de moléculas envolvidas em seu desenvolvimento e/ou regulação. É interessante que análogos retinóides têm sido sugeridos no tratamento da esquizofrenia, sozinhos ou em combinação com agonistas do receptor da dopamina (Citver et al., 2002).

Os receptores do ácido retinóico pertencem à superfamília do receptor nuclear do hormônio da tireóide/esteróide que inclui diversos receptores órfãos para os quais nenhum ligante foi identificado. Esses receptores agem frequentemente como heterodímeros, aumentando bastante a complexidade da regulação gênica. O NR4A2, um desses receptores nucleares órfãos, é conhecido por regular a transcrição de genes-alvo de 2 formas diferentes: sozinho, como monômero, ou como parceiro do receptor retinóide X (RXR) (Perlmann e Jansson, 1995; Want et al., 2003).

O mRNA do Nurr 1 (o homólogo do camundongo para o gene humano NR4A2) é expresso bastante cedo no mesencéfalo ventral (Zetterstrom et al, 1996, 1997) e o interrompimento de sua expressão é responsável pelo maciço fracasso em gerar neurônios dopaminérgicos no mesencéfalo e é causa de morte logo após o nascimento (Zetterstrom et al, 1997; Saucedo-Cardenas et al, 1998). A falta de neurônios dopaminérgicos no mesencéfalo parece estar relacionada com a incapacidade de expressar tirosina hidroxilase, a enzima limitadora de velocidade na síntese da dopamina (Zetterstrom et al, 1996). Além disso, o Nurr 1 parece reter seu papel em neurônios dopaminérgicos maduros, visto que sua expressão continua durante a idade adulta e é extremamente prejudicada após lesão de neurônios dopaminérgicos mesencefálicos ventrais (Zetterstrom et al, 1996).

Essas observações aumentaram o interesse pela identificação de mecanismos moleculares e bioquímicos precisos de regulação do comportamento pelo NR4A2 em transtornos psiquiátricos e neurológicos. Além disso, a região do cromossomo 2q22-q23 que aloja o gene NR4A2 tem uma vinculação sugestiva com a esquizofrenia em várias populações (Moisés et al, 1995; Williams et al., 1999; DeLisi et al, 2002; Lewis et al, 2003). De acordo com essa hipótese, vários grupos têm procurado por mutações no gene humano NR4A2 que poderiam aumentar a suscetibilidade à esquizofrenia.

Até o momento, 2 apagamentos e uma mutação "missense" foram descritas em pacientes esquizofrênicos e uma mutação "missense" foi encontrada em indivíduos maníaco-depressivos (Buervenich et al, 2000; Chen et al, 2001), ao passo que recentemente 2 mutações na região não traduzida foram identificadas em pacientes com mal de Parkinson na família (Le et al., 2003). Esses achados levaram-nos a investigar todas essas mutações do NR4A2 numa grande amostra de pacientes esquizofrênicos portugueses e brasileiros. Os pacientes preenchem o diagnóstico do DSM IV de esquizofrenia a vida inteira, confirmado pelo programa OPCRIT. Nenhuma das mutações descritas na literatura foi identificada nesse grupo de pacientes.

MATERIAIS E MÉTODOS

A amostra consistiu em 176 pacientes esquizofrênicos portugueses (idade entre 15-74 anos, média 34,0; 67 mulheres e 109 homens) e 82 pacientes esquizofrênicos brasileiros (idade entre

18-63, média 34,3; 10 mulheres e 72 homens) e 105 portugueses (idade entre 19-79, média 35,5; 53 mulheres e 52 homens) e 85 brasileiros (idade entre 19-58, média 32,9; todos homens) mentalmente saudáveis. Todos os sujeitos eram caucasianos sem parentesco. Os pacientes deram seu consentimento esclarecido para o estudo e as comissões de ética de ambas instituições aprovaram o estudo. Todos os pacientes (portugueses e brasileiros) foram classificados pelo sistema OPCRIT (McGuffin e Farmer, 2001). O sistema automatizado OPCRIT colheu informações de todos os registros dos casos, incluindo anotações de terapia ocupacional, médicas, de enfermagem e serviço social junto com dados da entrevista clínica com o paciente e seus parentes.

Além disso, os pacientes esquizofrênicos portugueses receberam um diagnóstico de vida inteira usando o DIGS (entrevista diagnóstica para estudos genéticos) como anteriormente descrito (Nurnberger et al, 1994). Os controles eram de origem ou descendência européia e não possuíam diagnóstico de doenças mentais e físicas importantes. Os controles portugueses receberam a avaliação DIGS e os controles brasileiros foram selecionados entre doadores voluntários de sangue comprovadamente livres de dependência química (Rios et al., 2003). Todas as entrevistas e formulações diagnósticas foram realizadas por um dos autores. Sangue venoso foi colhido de todos os sujeitos e o DNA foi extraído através de procedimentos comuns com sal.

Para a genotipagem das mutações c.-245T >G, c.289 A>G, c.308 A>G e o apagamento de c.-469de1G, seguimos as condições de PCR anteriormente descritas (Buervenich et al, 2000; Chen et al, 2001; Le et al, 2003). Os produtos da PCR foram analisados em eletroforese com gel após digestão com as enzimas de restrição Ava II (Fermentas, Vilnius, Lituânia), ApaL I (Fermentas), Tse I (New England Biolabs, Beverly, MA, EUA) e Cfr I (Fermentas), respectivamente. O apagamento de c.366-369de1TAC foi testado por polimorfismo conformacional de cadeia simples (SSCP) no produto da PCR amplificado com os primers (5'-3') CTTGTACCAAATGCCCTGT e GAGACTGGCGTTTT-CCTCT.

Realizou-se a eletroforese em gel de poliacrilamida não desnaturante com glicerol a 2,5% a 500 V por 2,5-3 h. A temperatura foi rigorosamente mantida a 14 graus C. Amostras de pacientes portadoras das mutações c.366-369de1TAC, c.289A>G e c.308 A>G foram usadas como controles. A busca pelo c.-291de1T no produto da PCR amplificado com primers como anteriormente descrito (Le et al., 2003) foi feita por análise de SSCP em gel MDE (Cambrex Bio

Science Rockland, Rockland, ME, EUA) realizada a 4, 10 ou 25 graus C.

RESULTADOS

Usando análise de SSCP, buscamos os apagamentos de c.366-369de1TAC e c.-291de1T, procurando também por outras possíveis mutações (Vidal-Puig e Moller, 1994) no mesmo produto da PCR. A figura 1 mostra o padrão de migração de SSCP de um portador de apagamento de c.366-369de1TAC. Nenhuma das amostras testadas revelou a presença de alelos que sofreram mutação.

Para o apagamento de c.-291de1T, analisamos uma subpopulação de 60 pacientes esquizofrênicos portugueses e realizamos o SSCP sob 3 temperaturas diferentes para aumentar a taxa de detecção. Mais uma vez, não conseguimos identificar qualquer mutação no produto da PCR contendo a posição c.-291. A análise das mutações c.-469de1G, c.-245T >, c.289A >, e c.308A>G foi realizada por digestão com as enzimas Cfr I, Ava II, ApaL I e Tse I para as quais um novo local de restrição encontra-se presente no alelo que sofreu mutação. Nenhuma das amostras, dos indivíduos esquizofrênicos ou mentalmente saudáveis, continha quaisquer das mutações testadas. A tabela 1 é um sumário de todos os estudos, inclusive o nosso, nos quais as mutações do NR4A2 descritas em doenças vêm sendo investigadas.

DISCUSSÃO

No presente estudo, investigamos pela primeira vez a presença de 2 mutações do NR4A2 recentemente identificadas no mal de Parkinson (Le et al., 2003) em 258 pacientes esquizofrênicos e 190 indivíduos mentalmente sadios. Também procuramos por mutações no NR4A2 anteriormente descritas em pacientes com esquizofrenia e depressão maníaca (Buervenich et al, 2000; Chen et al, 2001). Nenhuma mutação foi encontrada nos pacientes ou controles. Em vista da etiologia complexa da esquizofrenia e o fracasso em identificar um único gene causador, é provável que qualquer mutação individual seja fortemente representada na população de pacientes (Chakravarti, 1999).

No caso de fatores de transcrição tais como os receptores nucleares, diversas mutações podem prejudicar o funcionamento correto e influenciar a expressão apropriada de vários genes. Portanto para

qualquer nova mutação encontrada é importante aumentar o tamanho da amostra de pacientes analisada. O fato de conseguirmos identificar as mutações anteriormente descritas confirma que estas são bastante raras no gene NR4A2.

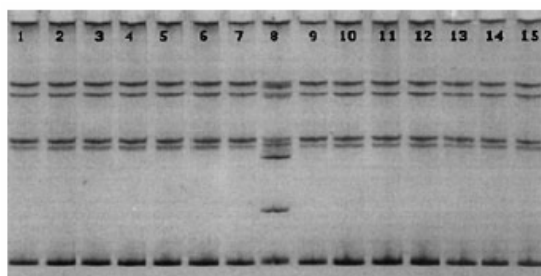


Figura 1. Análise de SSCP do fragmento da PCR do exon 3 do NR4A2. Na coluna 8 corre a amostra contendo a mutação c.366-369delTAC. As colunas 1-6 correspondem aos pacientes esquizofrênicos brasileiros e as colunas 7, 9-15 aos brasileiros mentalmente saudáveis.

Tabela 1. Mutações do NR4A2 detectadas em pacientes com esquizofrenia, depressão maníaca e Parkinson.

| Mutação | localização | população | atividade transcricional in vitro não determinada |
|-------------------------|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| c.-469 ^{de} 1G | promotor | 2/176chineses han2/176chineses hanesquizofrênicos 2/176chineses hanesquizofrênicos0/176portugueses caucasianos esquizofrênicos 0/82brasileiros caucasianos esquizofrênicos | |
| c.-291de1T | | 8/107 familiar+0/94 esporádico (Parkinson) (maioria caucasiana) (Le et al, 2003) 0/60portugueses caucasianos esquizofrênicos | reduzida(Le et al) |
| c.-245T>G | exon 1 não traduzida | 2/107 familiar+0/94esporádico (Parkinson) (maioria caucasiana) 0/176portugueses caucasianos esquizofrênicos 0/82brasileiros caucasianos esquizofrênicos | reduzida(Le et al) |
| c.289A>G | exon 3 codificante | 0/135suecos esquizofrênicos (Buevernich et al,2000) 0/160norte-americanos caucasianos esquizofrênicos (Buevernich et al,2000) 0/70suecos caucasianos c/Parkinson idiopático (Buevernich et al,2000) 1/30suecos caucasianos maníaco-depressivos (Buevernich et al,2000) 0/176portugueses caucasianos esquizofrênicos 0/82brasileiros caucasianos esquizofrênicos | reduzida (Buevernich et al) |
| c.308 ^A >G | exon 3 codificante | 1/135suecos esquizofrênicos (Buevernich et al., 000) 0/160norte-americanos caucasianos esquizofrênicos (Buevernich et al,2000) 0/70suecos caucasianos c/Parkinson idiopático (Buevernich et al,2000) 0/30suecos caucasianos maníaco-depressivos 0/176portugueses caucasianos | reduzida (Buevernich et al) |

| | | | |
|-----------------|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| c.366-369de1TAC | exon 3 codificante | esquizofrênicos 0/82brasileiros caucasianos esquizofrênicos Esquizofrênicos (Buevernich et al,2000) 0/160n. americanos caucasianos esquizofrênicos (Buevernich et al,2000) 0/70suecos caucasianos c/Parkinson idiopático (Buevernich et al,2000) 0/30suecos caucasianos maníaco- depressivos (Buevernich et al,2000) 0/176portugueses caucasianos esquizofrênicos 0/82brasileiros caucasianos esquizofrênicos | reduzida (Buevernich et al) |
|-----------------|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|

Representou-se o número de indivíduos em que mutações do NR4A2 foram encontradas entre todos os pacientes tratados.

Outros estudos têm relatado ausência de associação das variantes polimórficas do NR4A2 no promotor (Carmino et al, 2003), regiões não traduzidas 5' e 3' e íntron 6 com a esquizofrenia (Ishiguro et al, 2002; Iwayama-Shigeno et al, 2003). O gene NR4A2 humano existe como um locus simples no genoma humano, cobrindo 8,3 Kb de comprimento, consistindo em 8 exons, e é mapeado até o cromossomo 2q22-23 (Ichinose et al, 1999; Torii et al, 1999). Essa região cromossômica tem sido implicada na esquizofrenia (Lewis et al., 2003).

As mutações c.289A →G, c.308A →G, and c.366-369delTAC originam mudanças no aminoácido a nível protéico (M97V, H103R e DY122, respectivamente) e resultam numa atividade transcricional *in vitro* reduzida dos dímeros do NR4A2 (Buervenich et al, 2000). A atividade reduzida de transcrição do NR4A2 é também descrita para as mutações na região não traduzida 5' encontrada em pacientes com mal de Parkinson (Le et al, 2003). Portanto, espera-se uma ativação transcricional prejudicada de genes alvo corrente abaixo, tais como a tirosina hidroxilase, em portadores dessas variantes mutantes do NR4A2.

Estudos em camundongos têm revelado funções importantes para o NR4A2 que claramente sugerem seu possível envolvimento em vários distúrbios do sistema nervoso central em que o sistema dopaminérgico tem sido implicado. Observações em camundongos com Nurr1 nulo revelaram que o Nurr1 é exigido para a formação dos neurônios dopaminérgicos do mesencéfalo (Zetterstrom et al, 1997; Saucedo-Cardenas et al, 1998) e que a tirosina hidroxilase, a enzima limitadora de velocidade no trajeto catecolaminérgico, está ausente nos neurônios dopaminérgicos (Zetterstrom et al., 1997).

Por outro lado, camundongos sem receptores D2 para a dopamina mostram uma maior expressão de Nurr1 em neurônios dopaminérgicos mesencefálicos, sugerindo que ações mediadas pelos receptores D2 poderiam ser consequência da expressão alterada do Nurr1 (Tseng et al, 2000). Além disso, o Nurr1 amplia a transcrição do gene transportador humano da dopamina (Sacchetti et al., 2001), um dos marcadores fenotípicos mais específicos para neurônios dopaminérgicos, e do gene da tirosina hidroxilase (Sakurada et al, 1999; Kime et al., 2001, 2003). Estudos em camundongos heterozigóticos com Nurr1 nulo mostram que o Nurr1 aumenta a atividade locomotora espontânea em resposta ao estresse (Eells et al., 2002).

O efeito das anfetaminas na locomoção de heterozigotos com Nurr1 nulo permanece

controverso (Eells et al, 2002; Backman et al, 2003). Essas observações sugerem que o NR4A2 por si mesmo, ou através de parceiros de heterodimerização, possa participar em doenças com função dopaminérgica alterada como o mal de Parkinson, a esquizofrenia e o abuso de drogas. O NR4A2 talvez possa estar implicado em alguns traços de personalidade com maior vulnerabilidade ao estresse (Eells et al, 2002) como aquelas no espectro fenotípico da esquizofrenia. Tanto mutações associadas com uma maior ou menor atividade do NR4A2 e com regulação alterada do gene NR4A2 durante todo o desenvolvimento podem estar associadas com transtornos como a esquizofrenia e o mal de Parkinson.

Estudos futuros deverão responder se a expressão de NR4A2 é alterada no cérebro de pacientes esquizofrênicos ou se influencia sua resposta à exposição ao álcool ou tratamento de drogas. Uma melhor compreensão dos trajetos envolvendo o NR4A2 poderia torná-lo um alvo potencial para a terapia com drogas como os análogos da 6-mercaptopurina ou mesmo transplantes de células-tronco, como recentemente sugerido (Ordentlich et al, 2003).

REFERÊNCIAS

- Balmer JE, Blomhoff R. 2002. Gene expression regulation by retinoic acid. *J Lipid Res* 43:1773–1808.
- Buervenich S, Carmino A, Arvidsson M, Xiang F, Zhang Z, Sydow O, Jönsson EG, Sedvall GC, Leonard S, Ross RG, Freedman R, Chowdari KV, Nimgaonkar VL, Perlmann T, Anvret M, Olson L. 2000. NURR1 mutations in cases of schizophrenia and manic-depressive disorder. *Am J Med Genet* 96:808–813.
- Bäckman C, You ZB, Perlmann T, Hoffer BJ. 2003. Elevated locomotor activity without altered striatal dopamine contents in Nurr1 heterozygous mice after acute exposure to methamphetamine. *Behav Brain Res* 143:95–100.
- Carmino A, Buervenich S, Galter D, Jönsson EG, Sedvall GC, Farde L, Gustavsson JP, Bergman H, Chowdari KV, Nimgaonkar VL, Anvret M, Sydow O, Olson L. 2003. NURR1 promoter polymorphisms: Parkinson's disease, schizophrenia, and personality traits. *Am J Med Genet* 120: 51–57.
- Chakravarti A. 1999. Population genetics-making sense out of sequence. *Nat Genet* 21:56–60.
- Chen YH, Tsai MT, Shaw CK, Chen CH. 2001. Mutation analysis of the human NR4A2 gene, an essential gene for midbrain dopaminergic

- neurogenesis, in schizophrenic patients. *Am J Med Genet* 105:753–757.
- Citver AS, Shields AM, Ciaccia LM, Schulingkamp RJ, Raffa RB. 2002. Indirect modulation of dopamine D2 receptors as potential pharmacotherapy for schizophrenia: III. Retinoids. *J Clin Pharm Ther* 27:161–168.
- DeLisi LE, Mesen A, Rodriguez C, Bertheau A, LaPrade B, Llach M, Riondet S, Razi K, Relja M, Byerley W, Sherrington R. 2002. Genome-wide scan for linkage to schizophrenia in a Spanish-origin cohort from Costa Rica. *Am J Med Genet* 114:497–508.
- Eells JB, Lipska BK, Yeung SK, Mislner JA, Nikodem VM. 2002. *Nurr1*-null heterozygous mice have reduced mesolimbic and mesocortical dopamine levels and increased stress-induced locomotor activity. *Behav Brain Res* 136:267–275.
- Goodman AB. 1998. Three independent lines of evidence suggest retinoids as causal to schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:7240–7244.
- Ichinose H, Ohye T, Suzuki T, Sumi-Ichinose C, Nomura T, Hagino Y, Nagatsu T. 1999. Molecular cloning of the human *Nurr1* gene: Characterization of the human gene and cDNAs. *Gene* 230:233–239.
- Ishiguro H, Okubo Y, Ohtsuki T, Yamakawa-Kobayashi K, Arinami T. 2002. Mutation analysis of the retinoid X receptor beta, nuclear-related receptor 1, and peroxisome proliferator-activated receptor alpha genes in schizophrenia and alcohol dependence: Possible haplotype association of nuclear-related receptor 1 gene to alcohol dependence. *Am J Med Genet* 114:15–23.
- Iwayama-Shigeno Y, Yamada K, Toyota T, Shimizu H, Hattori E, Yoshitsugu K, Fujisawa T, Yoshida Y, Kobayashi T, Toru M, Kurumaji A, Detera-Wadleigh S, Yoshikawa T. 2003. Distribution of haplotypes derived from three common variants of the NR4A2 gene in Japanese patients with schizophrenia. *Am J Med Genet* 118:20–24.
- Kim HS, Hong SJ, LeDoux MS, Kim KS. 2001. Regulation of the tyrosine hydroxylase and dopamine beta-hydroxylase genes by the transcription factor AP-2. *J Neurochem* 76:280–294.
- Kim KS, Kim CH, Hwang DY, Seo H, Chung S, Hong SJ, Lim JK, Anderson T, Isacson O. 2003. Orphan nuclear receptor *Nurr1* directly transactivates the promoter activity of the tyrosine hydroxylase gene in a cell-specific manner. *J Neurochem* 85:622–634.
- Le WD, Xu P, Jankovic J, Jiang H, Appel SH, Smith RG, Vassilatis DK. 2003. Mutations in NR4A2 associated with familial Parkinson disease. *Nat Genet* 33:85–89.
- Lewis CM, Levinson DF, Wise LH, DeLisi LE, Straub RE, Hovatta I, Williams NM, Schwab SG, Pulver AE, Faraone SV, Brzustowicz LM, Kaufmann CA, Garver DL, Gurling HM, Lindholm E, Coon H, Moises HW, Byerley W, Shaw SH, Mesen A, Sherrington R, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS, Ekelund J, Paunio T, Lonnqvist J, Peltonen L, O'Donovan MC, Owen MJ, Wildenauer DB, Maier W, Nestadt G, Blouin JL, Antonarakis SE, Mowry BJ, Silverman JM, Crowe RR, Cloninger CR, Tsuang MT, Malaspina D, Harkavy-Friedman JM, Svrakic DM, Bassett AS, Holcomb J, Kalsi G, McQuillin A, Brynjolfsson J, Sigmundsson T, Petursson H, Jazin E, Zocaga T, Helgason T. 2003. Genome scan metaanalysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet* 73:34–48.
- McGuffin P, Farmer A. 2001. Polydiagnostic approaches to measuring and classifying psychopathology. *Am J Med Genet* 105:39–41.
- Moises HW, Yang L, Kristbjarnarson H, Wiese C, Byerley W, Macciardi F, Arolt V, Blackwood D, Liu X, Sjogren B, Aschauer HN, Hwu HG, Jang K, Livesley WJ, Kennedy JL, Zoega T, Ivarsson O, Bui MT, Yu MH, Havsteen B, Commenges D, Weissenbach J, Schwinger E, Gottesman II, Pakstis AJ, Wetterberg L, Kidd KK, Helgason T. 1995. An international two-stage genome-wide search for schizophrenia susceptibility genes. *Nat Genet* 11:321–324.
- Nurnberger JI Jr, Blehar MC, Kaufmann CA, York-Cooler C, Simpson SG, Harkavy-Friedman J, Severe JB, Malaspina D, Reich T. 1994. Diagnostic interview for genetic studies. Rationale, unique features, and training. NIMH Genetics Initiative. *Arch Gen Psychiatry* 51:849–859.
- Ordentlich P, Yan Y, Zhou S, Heyman RA. 2003. Identification of the antineoplastic agent 6-mercaptopurine as an activator of the orphan nuclear hormone receptor *Nurr1*. *J Biol Chem* 278:24791–24799.
- Perlmann T, Jansson L. 1995. A novel pathway for vitamin A signaling mediated by RXR heterodimerization with NGFI-B and NURR1. *Genes Dev* 9:769–782.
- Rios DL, Vargas AF, Torres MR, Zago AJ, Callegari-Jacques SM, Hutz MH. 2003. Interaction between SREBP-1a and APOB polymorphisms influences total and low-density lipoprotein cholesterol levels in patients with coronary artery disease. *Clin Genet* 63:380–385.
- Sacchetti P, Mitchell TR, Granneman JG, Bannon MJ. 2001. *Nurr1* enhances transcription of the

- human dopamine transporter gene through a novel mechanism. *J Neurochem* 76:1565–1572.
- Sakurada K, Ohshima-Sakurada M, Palmer TD, Gage FH. 1999. Nurr1, an orphan nuclear receptor, is a transcriptional activator of endogenous tyrosine hydroxylase in neural progenitor cells derived from the adult brain. *Development* 126:4017–4026.
- Samad TA, Krezel W, Chambon P, Borrelli E. 1997. Regulation of dopaminergic pathways by retinoids: Activation of the D2 receptor promoter by members of the retinoic acid receptor-retinoid X receptor family. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:14349–14354.
- Saucedo-Cardenas O, Quintana-Hau JD, Le WD, Smidt MP, Cox JJ, De Mayo F, Burbach JP, Conneely OM. 1998. Nurr1 is essential for the induction of the dopaminergic phenotype and the survival of ventral mesencephalic late dopaminergic precursor neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:4013–4018.
- Torii T, Kawarai T, Nakamura S, Kawakami H. 1999. Organization of the human orphan nuclear receptor Nurr1 gene. *Gene* 230:225–232.
- Tseng KY, Roubert C, Do L, Rubinstein M, Kelly MA, Grandy DK, Low MJ, Gershanik OS, Murer MG, Giros B, Raisman-Vozari R. 2000. Selective increase of Nurr1 mRNA expression in mesencephalic dopaminergic neurons of D2 dopamine receptor-deficient mice. *Brain Res Mol Brain Res* 80:1–6.
- Iwayama-Shigeno Y, Yamada K, Toyota T, Shimizu H, Hattori E, Yoshitsugu K, Fujisawa T, Yoshida Y, Kobayashi T, Toru M, Kurumaji A, Detera-Wadleigh S, Yoshikawa T. 2003. Distribution of haplotypes derived from three common variants of the NR4A2 gene in Japanese patients with schizophrenia. *Am J Med Genet* 118:20–24.
- Kim HS, Hong SJ, LeDoux MS, Kim KS. 2001. Regulation of the tyrosine hydroxylase and dopamine beta-hydroxylase genes by the transcription factor AP-2. *J Neurochem* 76:280–294.
- Kim KS, Kim CH, Hwang DY, Seo H, Chung S, Hong SJ, Lim JK, Anderson T, Isacson O. 2003. Orphan nuclear receptor Nurr1 directly transactivates the promoter activity of the tyrosine hydroxylase gene in a cell-specific manner. *J Neurochem* 85:622–634.
- LeWD, Xu P, Jankovic J, Jiang H, Appel SH, Smith RG, Vassilatis DK. 2003. Mutations in NR4A2 associated with familial Parkinson disease. *Nat Genet* 33:85–89.
- Lewis CM, Levinson DF, Wise LH, DeLisi LE, Straub RE, Hovatta I, Williams NM, Schwab SG, Pulver AE, Faraone SV, Brzustowicz LM, Kaufmann CA, Garver DL, Gurling HM, Lindholm E, Coon H, Moises HW, Byerley W, Shaw SH, Mesen A, Sherrington R, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS, Ekelund J, Paunio T, Lonnqvist J, Peltonen L, O'Donovan MC, Owen MJ, Wildenauer DB, Maier W, Nestadt G, Blouin JL, Antonarakis SE, Mowry BJ, Silverman JM, Crowe RR, Cloninger CR, Tsuang MT, Malaspina D, Harkavy-Friedman JM, Svrakic DM, Bassett AS, Holcomb J, Kalsi G, McQuillin A, Brynjolfsson J, Sigmundsson T, Petursson H, Jazin E, Zouga T, Helgason T. 2003. Genome scan metaanalysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet* 73:34–48.
- McGuffin P, Farmer A. 2001. Polydiagnostic approaches to measuring and classifying psychopathology. *Am J Med Genet* 105:39–41.
- Moises HW, Yang L, Kristbjarnarson H, Wiese C, Byerley W, Macciardi F, Arolt V, Blackwood D, Liu X, Sjogren B, Aschauer HN, Hwu HG, Jang K, Livesley WJ, Kennedy JL, Zoega T, Ivarsson O, Bui MT, Yu MH, Havsteen B, Commenges D, Weissenbach J, Schwinger E, Gottesman II, Pakstis AJ, Wetterberg L, Kidd KK, Helgason T. 1995. An international two-stage genome-wide search for schizophrenia susceptibility genes. *Nat Genet* 11:321–324.
- Nurnberger JI Jr, Blehar MC, Kaufmann CA, York-Cooler C, Simpson SG, Harkavy-Friedman J, Severe JB, Malaspina D, Reich T. 1994. Diagnostic interview for genetic studies. Rationale, unique features, and training. NIMH Genetics Initiative. *Arch Gen Psychiatry* 51:849–859.
- Ordentlich P, Yan Y, Zhou S, Heyman RA. 2003. Identification of the antineoplastic agent 6-mercaptopurine as an activator of the orphan nuclear hormone receptor Nurr1. *J Biol Chem* 278:24791–24799.
- Perlmann T, Jansson L. 1995. A novel pathway for vitamin A signaling mediated by RXR heterodimerization with NGFI-B and NURR1. *Genes Dev* 9:769–782.
- Rios DL, Vargas AF, Torres MR, Zago AJ, Callegari-Jacques SM, Hutz MH. 2003. Interaction between SREBP-1a and APOB polymorphisms influences total and low-density lipoprotein cholesterol levels in patients with coronary artery disease. *Clin Genet* 63:380–385.
- Sacchetti P, Mitchell TR, Granneman JG, Bannon MJ. 2001. Nurr1 enhances transcription of the human dopamine transporter gene through a novel mechanism. *J Neurochem* 76:1565–1572.
- Sakurada K, Ohshima-Sakurada M, Palmer TD, Gage FH. 1999. Nurr1, an orphan nuclear receptor, is a transcriptional activator of endogenous tyrosine hydroxylase in neural

- progenitor cells derived from the adult brain. *Development* 126:4017–4026.
- Samad TA, Krezel W, Chambon P, Borrelli E. 1997. Regulation of dopaminergic pathways by retinoids: Activation of the D2 receptor promoter by members of the retinoic acid receptor-retinoid X receptor family. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:14349–14354.
- Saucedo-Cardenas O, Quintana-Hau JD, Le WD, Smidt MP, Cox JJ, De Mayo F, Burbach JP, Conneely OM. 1998. Nurr1 is essential for the induction of the dopaminergic phenotype and the survival of ventral mesencephalic late dopaminergic precursor neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:4013–4018.
- Torii T, Kawarai T, Nakamura S, Kawakami H. 1999. Organization of the human orphan nuclear receptor Nurr1 gene. *Gene* 230:225–232.
- Tseng KY, Roubert C, Do L, Rubinstein M, Kelly MA, Grandy DK, Low MJ, Gershanik OS, Murer MG, Giros B, Raisman-Vozari R. 2000. Selective increase of Nurr1 mRNA expression in mesencephalic dopaminergic neurons of D2 dopamine receptor-deficient mice. *Brain Res Mol Brain Res* 80:1–6.
- Tsuang MT, Stone WS, Faraone SV. 2001. Genes, environment and schizophrenia. *Br J Psychiatry* 40:s18–s24.
- Vidal-Puig A, Moller DE. 1994. Comparative sensitivity of alternative single-strand conformation polymorphism (SSCP) methods. *Biotechniques* 17:490–496.
- Wang Z, Benoit G, Liu J, Prasad S, Aarnisalo P, Liu X, Xu H, Walker NP, Perlmann T. 2003. Structure and function of Nurr1 identifies a class of ligand-independent nuclear receptors. *Nature* 423:555–560.
- Williams NM, Rees MI, Holmans P, Norton N, Cardno AG, Jones LA, Murphy KC, Sanders RD, McCarthy G, Gray MY, Fenton I, McGuffin P, Owen MJ. 1999. A two-stage genome scan for schizophrenia susceptibility genes in 196 affected sibling pairs. *Hum Mol Genet* 8:1729–1739.
- Zetterstrom RH, Williams R, Perlmann T, Olson L. 1996. Cellular expression of the immediate early transcription factors Nurr1 and NGFI-B suggests a gene regulatory role in several brain regions including the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res Mol Brain Res* 41:111–120.
- Zetterstrom RH, Solomin L, Jansson L, Hoffer BJ, Olson L, Perlmann T. 1997. Dopamine neuron agenesis in Nurr1-deficient mice. *Science* 276:248–250.

Anexos

| Cabeça | |
|----------------------|--|
| Cabelo muito fino 2 | |
| Cabelo fino 1 | |
| 2 ou + redemoinhos 2 | |
| Macrocefalia 2 | |
| Microcefalia 2 | |

| Olhos | |
|----------------------------------|--|
| Epicanto coberto completamente 2 | |
| Epicanto coberto parcialmente 1 | |
| Grande distância interductal 2 | |
| Pequena distância interductal 2 | |

| Orelhas | |
|--------------------------------|--|
| Implantação baixa de orelhas 2 | |
| Lobos aderidos 1 | |
| Orelha mal formada 1 | |
| Orelha assimétrica 1 | |
| Orelha mole e dobrada 1 | |

| Boca | |
|---------------------------|--|
| Palato alto 1 | |
| Plano estreito 1 | |
| Língua com rugas 1 | |
| Língua enrugada ou lisa 1 | |

| Mãos | |
|---------------------------------------|--|
| Quinto dedo curvado marcadamente 2 | |
| levemente 1 | |
| Linha palmar única 2 | |

| Pés | |
|----------------------------------------|--|
| Terceiro dedo Maior que o segundo 2 | |
| Igual ao segundo 1 | |
| sindactilia 2 | |
| Fenda entre o 1 eo 2 21 | |

Cf. WALDROP, P. and Bell, in "Child Development", 1968, 39, 391-400

EXAME FÍSICO



PROJETO CAPS – BRASIL/PORTUGAL

Registro HCPA:

Nº no estudo:

Nome:

Idade:

Sexo:

Estado Civil:

Endereço (rua, cep, cidade):

Telefone:

Escolaridade:

Profissão:

Altura:

Peso:

Número de Internações:

Idade da 1º Internação:

Tempo de Doença:

História Prévia de Uso de Substâncias Psicoativas-álcool:

História Familiar de esquizofrenia? () não () sim Quem?.....

História Familiar de outras doenças psiquiátricas? () não () sim

Quem e que doença?.....

História familiar de outras doenças físicas? () não () sim Quem?.....

Qual doença?.....

Leucemias/Mieloma Múltiplo/linfomas.....

Cardiopatia Isquêmica.....

Diagnóstico Conforme Critérios do DSM-IV APA 1994 (check-list):

Histórico da Doença (incluir medicações em uso-listar dose e tempo de uso):

MARCADORES DERMATOGLÍFICOS :

NÚMERO TOTAL DE LINHAS.....

DIFERENÇA DE LINHAS DTA-ESQ.....

DIFERENÇA DE LINHAS AB.....

SIMETRIA DE PADRÕES.....

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO PARA PACIENTES

Número do estudo:
Data de nascimento:
Médico supervisor:

Nome do sujeito:
Cód. de identidade do sujeito:

INFORMAÇÕES SOBRE O ESTUDO AO PACIENTE

Esta folha informativa tem o objetivo de fornecer a informação mínima para quem considerar participar neste estudo. Ela não elimina a necessidade do pesquisador de explicar, e se necessário, ampliar as informações nela contidas.

Antes de participar deste estudo, gostaríamos que você tomasse conhecimento do que ele envolve. Damos abaixo alguns esclarecimentos sobre dúvidas que você possa ter. Em caso de qualquer dúvida quanto ao estudo, o que ele envolve e sobre os seus direitos, você deverá contatar a Dra. Maria Inês Lobato pelo telefone (051) 3333-5541.

Qual é o objetivo da pesquisa?

Com este estudo buscamos identificar se há relação entre a quantidade de uma substância no sangue e a esquizofrenia. Caso haja esta relação, esta substância poderá ser útil para ajudar no entendimento e tratamento da doença.

Quais são os riscos em participar?

O único risco a que o paciente será submetido é o da punção venosa, que é um procedimento corriqueiro e de baixíssimo risco. Serão retirados 20 ml de sangue (equivalente a uma colher de sopa), o que não compromete a saúde do paciente. O procedimento será feito com material esterilizado e descartável por profissionais da área de saúde com competência técnica para tal. Não será feita nenhuma alteração na medicação em uso pelo paciente.

ÍTENS IMPORTANTES

Você tem a liberdade de desistir do estudo a qualquer momento, sem fornecer um motivo, assim como pedir maiores informações sobre o estudo e o procedimento a ser feito.

O que eu ganho com este estudo?

Sua colaboração neste estudo visa aumentar o conhecimento científico sobre a esquizofrenia. Em curto e médio prazos, não há ganho específico pelo paciente ao participar deste estudo.

Quais são os meus direitos?

Os pesquisadores do Serviço de Psiquiatria e os representantes da Comissão de Ética do HCPA podem necessitar examinar os seus registros a fim de verificar as informações para o

objetivo deste estudo. No entanto, os seus registros médicos serão sempre tratados confidencialmente.

Os resultados deste estudo poderão ser publicados em um jornal científico ou submetido à autoridade de medicamento competente, mas você não será identificado por nome.

Sua participação neste estudo é voluntária, de forma que caso você decida não participar, isso não afetará o tratamento normal ao qual você tem direito.

DECLARAÇÃO:

Eu, declaro que:

Concordo total e voluntariamente em fazer parte deste estudo.

Recebi uma explicação completa do objetivo do estudo, dos procedimentos envolvidos e o que se espera de mim. O médico me explicou os possíveis problemas que podem surgir em consequência da minha participação neste estudo.

Informe-me o médico sobre medicamentos que estou tomando.

Concordo em cooperar inteiramente com o médico supervisor.

Estou ciente de que tenho total liberdade de desistir do estudo a qualquer momento e que esta desistência não irá, de forma alguma, afetar meu tratamento ou administração médica futura.

Estou ciente de que a informação nos meus registros médicos é essencial para a avaliação dos resultados do estudo. Concordo em liberar esta informação sob o entendimento de que ela será tratada confidencialmente.

Estou ciente de que não serei referido por nome em qualquer relatório relacionado a este estudo. Da minha parte, não devo restringir, de forma alguma, os resultados que possam surgir neste estudo.

Assinatura do Paciente

Ass: _____

Assinatura do Pesquisador Responsável:

Ass: _____

Assinatura do Familiar Responsável pelo Paciente: _____

Data:

OPCRIT

BASES MOLECULARES DA ESQUIZOFRENIA EM POPULAÇÃO PORTUGUESA E BRASILEIRA
AA. INFORMAÇÃO DO OPCRIT VERSÃO 3.4

CHAVE DE CORRESPONDÊNCIA COM ITENS DO DIGS

Nome: _____ HCPA _____ Número Pesq _____

© 1992, 1993, 1994, 1998 P. McGuffin, A E Farmer & J Williams UWCM/ Tradução: Serviço de Psicologia Médica, Faculdade de Medicina, Coimbra/Adaptação DIGS/OPCRIT: Antonio Macedo & Paulo Belmonte de Abreu

| | | |
|----|--------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| 1 | Fonte de avaliação (1=r.hosp;2=e.estrut;3=sumário;4=inf;5=-2;6=+2) | Sumário Narrativo (SN) (GER.5) |
| 2 | Período de tempo (1=pres;2+=grave;3=toda vida; 4=outro período) | 3 |
| 3 | Código do sexo (homem=0; mulher=1) | A 1 |
| 4 | Idade de início (anos) (sint.psiq.graves: psicose, humor, álcool/droga) | E 2A |
| 5 | Modo de início (1=horas/dias;2=1 sem;3=1 m.;4=6m; 5>6 m)(+ alto) | SN |
| 6 | Solteiro (casado=0; solteiro=1) | A 7 |
| 7 | Desempregado (empregado=0; desempregado=1) | E 2B+SN |
| 8 | Duração da doença em semanas (máx.99)(inclui fase prodrômica/ ativa /residual) | E8+F(3A,4B,42),G(2a,3b,31a), K(2a,3b,65) |
| 9 | Mau ajustamento pré-mórbido ao trabalho (ausente=0, presente=1) | SN |
| 10 | Mau ajustamento social pre-mórbido (ausente=0-presente=1). | SN |
| 11 | Distúrbio pré-mórbido de personalidade (ausente=0, presente=1) | H 7-21, G15, M(toda),S(toda),+ SN |
| 12 | Abuso de álcool / drogas dentro de um ano de início (não=0, sim=1) | I (após E2a) com * +N1 (ver DSM) |
| 13 | História familiar de esquizofrenia (ausente=0, presente=1) | SN |
| 14 | História familiar de outra doença psiquiátrica (ausente=0, presente=1) | SN |
| 15 | Doença cerebral estrutural anterior ao início (ausente=0, presente=1) | B 1-6 (Fazer julgamento clínico) |
| 16 | Claro estressor psicossocial anterior ao início (ausente=0, presente=1) | E 8 + SN |

APARÊNCIA E COMPORTAMENTO

| | | |
|----|-------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| 17 | Comportamento bizarro (não=0, sem=1) | K (29,40 a, b) |
| 18 | Catatonía (não=0, 7= pelo menos 1 mês, 1=outra duração/desconhecida)* | K (45-51) |
| 19 | Atividade excessiva (0=não, 8=2 dias, 9=4 dias, 1=1 semana, 2=2 semanas)* | G 6 |
| 20 | Atividade perigosa (0=não, 8=2 dias, 9=4 dias, 1=1 semana, 2=2 semanas)* | G 12 |
| 21 | Distratibilidade (0=não, 8=2 dias, 9=4 dias, 1=1 semana, 2=2 semanas)* | G 11 |
| 22 | Necessidade de sono reduzida(0=não, 8=2dias, 9=4dias, 1=1semana, 2=2semanas)* | G 10 |
| 23 | Atividade agitada (0=não, 1=1semana, 2=2 semanas, 3=pelo menos 1 mês) | F 8 |
| 24 | Atividade lentificada (0=não, 1=1 semana, 2=2 semanas, 3=pelo menos 1 mês) | F 9 |
| 25 | Perda de energia / cansaço (0=não, 1=1 semana, 2= 2 semanas, 3=p/menos 1mês) | F 11 |

DISCURSO E FORMA DO PENSAMENTO

| | | |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| 26 | Discurso difícil de entender (não=0, sim=1) | U (9-13) |
| 27 | Incoerência (não=0, 7=tempo signif. em 1 mês, 1=outro período/não especificada)* | K 42 + V29 |
| 28 | Discurso formal do pensamento positivo (0=não, 7=p.sign.1 mês, 1=outra/não espec.)* | K(42,43),V (26-34) |
| 29 | Discurso formal do pensamento negativo (0=não; 1=sim) | K (43,55) |
| 30 | Pressão do discurso (0=não; 8=2dias, 9=4 dias; 1=1 semana; 2=2 semanas)* | G 7 |
| 31 | Pensamentos acelerados (0=não, 8=2 dias, 9=4 dias, 1=1 semana, 2=2 semanas)* | G 8 |

AFETO E ASPECTOS ASSOCIADOS : Em relação a duração maior: Depressão (F31 e F4b) Mania (G2a, G3b)

| | | |
|----|--------------------------------------------------------------------|--------------------|
| 32 | Restrição do afeto (0=não, 7=t. sign.1 mês, 1=outra dur./s/espec)* | K 57 |
| 33 | Embotamento afetivo(0=não;7=t.sign.1 mês, 1= outra dur/s/espec)* | U 1-8 (p corte>=3) |
| 34 | Afeto inapropriado (0=não, 7=t.sign.1mês, 1=outra dur/s/espec)* | K 58 |
| 35 | Elevação do humor (0=não, 8=2d, 9=4 d, 1= 1 sem/hosp, 2=2 sem)* | G 1a |
| 36 | Humor irritável (0=não, 8=2d, 9=4d, 1=1 sem/hosp, 2=2 sem)* | G 1b |
| 37 | Disforia (0=não, 1=1 sem, 2=2 sem, 3= 1 mês) | F (1,3,4c) |
| 38 | Varição diurna (humor pior de manhã) (0=não, 1=sim) | F 19 |
| 39 | Perda do prazer (0=não, 1=2 sem; 3=1 mês) | F (2,3, 4c,10) |
| 40 | Diminuição da libido (0=não, 9=4 dias, 1= 1 semana)* | F (3,10) |
| 41 | Dificuldade de concentração (0=não, 1=1 sem; 2=2 sem; 3= 1 mês) | F 14 |
| 42 | Excessiva auto-culpabilização (0=não, 1=1 sem, 2=2 sem, 3= 1 mês) | F (12,13) |
| 43 | Ideação suicida (0=não, 1=1 sem, 2= 2 sem, 3=1 mês) | F (15,16), O(1-10) |

| | | |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 44 | Insônia inicial (0=não, 1= 1 sem, 2=2 sem; 3=1 mês) | F 7 a-b |
| 45 | Insônia intermediária (sono fragmentado) (0=não; 1=sim) | F 7c |
| 46 | Acordar precoce (0=não, 1=1 sem; 2=2sem; 3= 1 mês) | F 7d,e |
| 47 | Sonolência excessiva (0=não, 1= 1 sem, 2= 2 sem, 3=1 mês) | F 7f |
| 48 | Diminuição do apetite (0=não, 1=1 sem, 2= 2 sem, 3= 1 mês) | F 6 |
| 49 | Perda de peso (0=não, 1=500g/sem/sem espec, 2=1kg/s, 3=5kg/ano) | F 6 |
| 50 | Aumento do apetite (0=não, 1=1 sem, 2= 2 sem, 3= 1 mês) | F 6 |
| 51 | Aumento de peso (0=não, 1=500g/s, 2= 1 kg/sem, 3=5 kg/1 ano) | F (6a-d) |
| 52 | Relação sintomas psicóticos/afetivos (0=sem; 1=(psicose>humor); 2=(psicose=humor); 3=(humor>psicose); 4=psicose=humor+2s.psicose) | F(20a,21a),G(16a,17a) K(63,63*-b,79-98)+SN |
| 53 | Aumento da sociabilidade (0=n, 9=4-7d.; 1=+fam, 2=+sociab 1sem)* | G 6 |

CRENÇAS E IDÉIAS ANORMAIS

| | | |
|----|--------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| 54 | Delírios persecutórios (não=0/sim=1) | K 5 |
| 55 | Delírios bem sistematizados (não=0, 7, sim=1)* | K 21 (>0 só s/dúvida) |
| 56 | Aumento da auto-estima (0=não, 8=2 d, 9=4d, 1=1 sem, 2=2 sem)* | G 9 |
| 57 | Delírio de grandeza (0=não, 8=2d; 9=4d; 1=1 sem, 2=2 sem)* | G 16+K (8+9) |
| 58 | Delírio de influência (0=não, 7=1 mês; 1=outra duração/s/espec)* | K 12 |
| 59 | Delírios bizarros (0, 7, não, 7=1 mês; 1=outra duração/s/espec 1)* | K 23+ N (21,25) |
| 60 | Delírios espalhados (0, 7 não, 7=1 mês; 1=outra duração/s/espec, 1)* | K 22 |
| 61 | Delírios de passividade (0, 7, não, 7=1 mês; 1=outra duração/s/espec 1)* | K 13 |
| 62 | Percepção delirante primária(0=não, 7=1 mês; 1=outra duração/s/espec)* | K 18+ SN |
| 63 | Outros delírios primários (0=não, 7=1 mês; 1=outra duração/s/espec) | K (6,10,11,14,18) |
| 64 | Delírios/alucinações que duram 1 sem(0=não,7=1m;1=outra d/s/espec)* | K (38,38 a) |
| 65 | Alucinações/delírios persecutórios/ciúme (0=não,7=1m;1=outra/s/espec) | K 38c |
| 66 | Inserção de pensamento (0 não, 7=1 mês; 1=outra duração/s/espec, 7, 1)* | K 16 |
| 67 | Roubo de pensamento (0, não, 7=1 mês; 1=outra duração/s/espec 7, 1)* | K 17 |
| 68 | Difusão de pensamento (0, 7, não, 7=1 mês; 1=outra duração/s/espec 1)* | K 15 |
| 69 | Delírios de culpa (0=não;1=sim) | K 7 |
| 70 | Delírios de pobreza (0=não;1=sim) | K 18 |
| 71 | Delírios nihilísticos (0=não;1=sim) | K 18 |

PERCEPÇÕES ANORMAIS

| | | |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| 72 | Eco do pensamento (0=não;1=sim) | K 27 |
| 73 | Alucinações auditivas na terceira pessoa (0=ñ, 7=1m, 1=qq outro/s/e)* | SN (s/eq. no DIGS) |
| 74 | Vozes comentadoras da atividade. (0=ñ, 7=1 m, 1=qq outro/s/espec)* | K 25 |
| 75 | Vozes insultuosas/acusatórias/persecutórias (0=ñ, 7=1m, 1=qq.ou/s/e)* | K 24 a |
| 76 | Outras alucinações auditivas (não-afetivas) (0=ñ, 7=1m, 1=qq.ou/s/e)* | K (24,28) |
| 77 | Alucinação não-afetiva de qualquer modalidade (ñ. eongruentes e/ humor (0=ñ, 7=1m, 1=qq.outro tempo/sem especificação)* | F 22+ G 18+ K (37,84,85,94,95) |

ABUSO DE SUBSTÂNCIAS OU DEPENDÊNCIA

| | | |
|----|---------------------------------------------------------------------|---------------------|
| 78 | Diagnóstico em toda vida de abuso/dep. de álcool (0=ñ,1=sim) | I (34,35) |
| 79 | Diagnóstico em toda vida de abuso/dep. de cannabis (0=ñ, 1=sim) | H 15 |
| 80 | Diagnóstico em toda vida abuso/dep. de outras substâncias (0=ñ,1=s) | H 15 |
| 81 | Abuso/dependência de álcool com psicopatologia (0=ñ,1=sim) | H15+K(Qualquer)+H32 |
| 82 | Abuso/dependência de cannabis com psicopatologia (0=ñ, 1=sim) | H 4 (a-e) |
| 83 | Abuso/dep. de outras substâncias com psicopatologia (0=ñ,1=sim) | H32 (a-e) + H15 |

APRECIÇÃO GERAL

| | | |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 84 | Informação não credível (ausente=0, presente=1) ... | W 28 |
| 85 | Ausência de insight (não=0, 1= ausência de insight) | SN |
| 86 | Contato difícil (não=0, sim=1) . | W (1-4) |
| 87 | Prejuízo/incapacidade durante o distúrbio (não=0, prejuízo subjetivo=1, pr. importante=2, não funciona nada no papel + imp;c/psicose/hosp=3) . | E 6 + F (28,29) + G 25+K(todos) |
| 88 | Deterioração do nível de funcionamento pré-mórbido (não=0, sim=1) | K 75(a-b) + K 102 |
| 89 | Os sintomas psicóticos respondem aos neurolépticos (não=0/sim=1) . | SN |
| 90 | Curso da doença (1=epis.único, boa recup.; 2=epis. mult. boa recup.; 3=epis.mult.recup.parcial; 4=d.crôn.continua; 5=d.crôn.c/deterioração) | SN + K 1 |

BASES MOLECULARES DA ESQUIZOFRENIA EM POPULAÇÃO PORTUGUESA E BRASILEIRA
AA. INFORMAÇÃO DO OPCRIT VERSÃO 3.4

© 1992, 1993, 1994, 1998 P. McGuffin, A E Farmer & J Williams UWCM/ Tradução: Serviço de Psicologia Médica, Faculdade de Medicina, Coimbra/Adaptação DIGS/OPCRIT: Antonio Macedo & Paulo Belmonte de Abreu

IDENTIFICAÇÃO

- 01 Fonte de avaliação
- 02 Período de tempo
- 03 Código do sexo
- 04 Idade de início (anos)
- 05 Modo de início
- 06 Solteiro
- 07 Desempregado
- 08 Duração da doença em semanas (máx.99)
- 09 Mau ajustamento pré-mórbido ao trabalho
- 10 Mau ajustamento social pré-mórbido
- 11 Distúrbio pré-mórbido de personalidade
- 12 Abuso de álcool / drogas dentro de um ano de início
- 13 História familiar de esquizofrenia
- 14 História familiar de outra doença psiquiátrica
- 15 Doença cerebral estrutural anterior ao início
- 16 Claro estressor psicossocial anterior ao início

APARÊNCIA E COMPORTAMENTO

- 17 Comportamento bizarro
- 18 Catatonia
- 19 Atividade excessiva
- 20 Atividade perigosa
- 21 Distratibilidade
- 22 Necessidade de sono reduzida
- 23 Atividade agitada
- 24 Atividade lentificada
- 25 Perda de energia / cansaço

DISCURSO E FORMA DO PENSAMENTO

- 26 Discurso difícil de entender
- 27 Incoerência
- 28 Discurso formal do pensamento positivo
- 29 Discurso formal do pensamento negativo
- 30 Pressão do discurso
- 31 Pensamentos acelerados

AFETO E ASPECTOS ASSOCIADOS :

- 32 Restrição do afeto
- 33 Embotamento afetivo
- 34 Afeto inapropriado
- 35 Elevação do humor
- 36 Humor irritável
- 37 Disforia
- 38 Variação diurna (humor pior de manhã)
- 39 Perda do prazer
- 40 Diminuição da libido
- 41 Dificuldade de concentração
- 42 Excessiva auto-culpabilização
- 43 Ideação suicida
- 44 Insônia inicial
- 45 Insônia intermediária (sono fragmentado)
- 46 Acordar precoce
- 47 Sonolência excessiva
- 48 Diminuição do apetite
- 49 Perda de peso
- 50 Aumento do apetite

- 51 Aumento de peso
- 52 Relação entre sintomas psicóticos e afetivos
- 53 Aumento da sociabilidade

CRENÇAS E IDÉIAS ANORMAIS

- 54 Delírios persecutórios
- 55 Delírios bem sistematizados
- 56 Aumento da auto-estima
- 57 Delírio de grandeza
- 58 Delírio de influência
- 59 Delírios bizarros
- 60 Delírios espalhados
- 61 Delírios de passividade
- 62 Percepção delirante primária
- 63 Outros delírios primários
- 64 Delírios/alucinações que duram 1 sem
- 65 Alucinações/delírios persecutórios/ciúme
- 66 Inserção de pensamento
- 67 Roubo de pensamento
- 68 Difusão de pensamento
- 69 Delírios de culpa
- 70 Delírios de pobreza
- 71 Delírios nihilísticos

PERCEPÇÕES ANORMAIS

- 72 Eco do pensamento
- 73 Alucinações auditivas na Terceira pessoa
- 74 Vozes comentadoras da atividade
- 75 Vozes insultuosas/acusatórias/persecutórias
- 76 Outras alucinações auditivas (não-afetivas)
- 77 Alucinação não-afetiva de qualquer modalidade (não-congruentes c/ humor)

ABUSO DE SUBSTÂNCIAS OU DEPENDÊNCIA

- 78 Diagnóstico em toda vida de abuso/dep. de álcool
- 79 Diagnóstico em toda vida de abuso/dep. de cannabis
- 80 Diagnóstico em toda vida abuso/dep. de outras substâncias
- 81 Abuso/dependência de álcool com psicopatologia
- 82 Abuso/dependência de cannabis com psicopatologia
- 83 Abuso/dep. de outras substâncias com psicopatologia

APRECIÇÃO GERAL

- 84 Informação não credível
- 85 Ausência de insight
- 86 Contato difícil
- 87 Prejuízo/incapacidade durante o distúrbio
- 88 Deterioração do nível de funcionamento pré-mórbido
- 89 Os sintomas psicóticos respondem aos neurolépticos
- 90 Curso da doença

Dermatoglifos

