

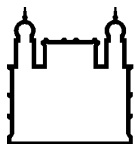
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Mestrado em Biologia Celular e Molecular

ESTUDO DAS BASES GENÉTICAS DO TRANSTORNO BIPOLAR

JULIANA CHAGAS DE MENEZES

Rio de Janeiro
2018



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular

JULIANA CHAGAS DE MENEZES

Estudo das Bases Genéticas do Transtorno Bipolar

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz
como parte dos requisitos para obtenção do título de
Mestre em Biologia Celular e Molecular

Orientador: Prof. Dr. Pedro Hernan Cabello Acero

RIO DE JANEIRO

2018

ii

Menezes, Juliana Chagas de.

Estudo das bases genéticas do transtorno bipolar / Juliana Chagas de Menezes. - Rio de Janeiro, 2018.
xvii, 80f f.; il.

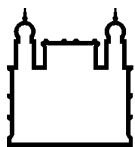
Dissertação (Mestrado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, 2018.

Orientador: Pedro Hernan Cabello Acero.

Bibliografia: f. 57-74

1. Transtorno Bipolar. 2. Genética. 3. Polimorfismo. I. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Biblioteca de Manguinhos/ICICT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular

JULIANA CHAGAS DE MENEZES

ESTUDO DAS BASES GENÉTICAS DO TRANSTORNO BIPOLAR

ORIENTADOR: Prof. Dr. Pedro Hernan Cabello Acero

Aprovada em: 13 de Abril de 2018

EXAMINADORES:

Prof. Dra. Flávia Martinez de Carvalho (Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ) - **Presidente**

Prof. Dr. Marco Alberto Medeiros (Bio-Manguinhos/FIOCRUZ)

Prof. Dr. Anderson Ribeiro Carvalho (Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ)

Prof. Dr. Fernando Regla Vargas (UNIRIO / FIOCRUZ)

Prof. Dra. Ana Carolina Ramos Guimarães (Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ)

DEDICATÓRIA

Aos meus avós por sempre me incentivarem,
e a todos que de alguma forma contribuíram
na minha caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela força, coragem e persistência, principalmente nos momentos de descrença.

Aos meus avós Chica, Raul, Glades, Midio (*in memoriam*) e Tina por todo amor, carinho e colo. Amo vocês!

Aos meus pais, Paulo e Andrea, e mãedrastra Flávia Atayde, pela força, apoio e carinho sempre.

À minha irmã Bibiu, e meus irmãos pequetuchinhos gordelícias Gustavinho, Mavi e Midinho, que foram essenciais nessa reta final, sendo meu momento de amor, carinho e distração.

Aos meus padrinhos e tios que sempre estiveram ao meu lado.

À toda a minha família que sempre esteve ao meu lado.

Ao meu noivo, Thiago, por ser um parceiro sem igual, por estar ao meu lado em todos os momentos de choros, gargalhadas, desabafos e descontrações. Te amo, vida!

Aos meus sogros Lu e Gilmar e minha cunhada Thayná, por me apoiarem e por todo carinho.

Ao Dr. Pedro Cabello, por todo o auxílio científico e por me aceitar como integrante do Laboratório de Genética Humana.

Ao Dr. Mário Campos, por todo acompanhamento desde minha iniciação científica e parceria nesses 5 anos de LGH.

Às Fiolindas, Diana, Gabi, Carol, Amanda e Taty, por todas as conversas científicas e não tão científicas assim. Obrigada por compartilharem essa estrada comigo.

À Dra. Giselda Kalil e Verônica Zembrzuski por todo suporte e conselhos que me deram para o desenvolvimento deste projeto.

Aos demais integrantes do LGH que contribuíram para o andamento do estudo.

À minha best Natassia, que desde sempre me mostrou que não importa o que aconteça, o show sempre precisa continuar. Obrigada por ter me apoiado e ajudado na seleção, você foi essencial pra que eu não desistisse de cara. Obrigada por estarmos juntas nas estradas da vida, uma apoiando a outra sempre! Te amo.

À minha querida amiga Rafa, obrigada por todas as conversas, por todo carinho e amizade desde a formatura!

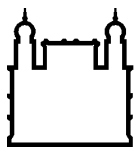
Ao Dr. Elie Cheniaux, integrantes do Instituto de Psiquiatria da Universidade Federal do Rio de Janeiro, e a todos os casos de TB, pois sem eles não seria possível a realização deste projeto. À vocês, o meu muito obrigada!

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular por todo o conhecimento passado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e à Instituto Oswaldo Cruz – Fundação Oswaldo Cruz pelo auxílio financeiro que possibilitou o desenvolvimento do estudo.

À todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização do projeto, o meu MUITO OBRIGADA!

“Para todo fim, um recomeço.” (Antoine de Saint-Exupéry)



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

ESTUDO DAS BASES GENÉTICAS DO TRANSTORNO BIPOLAR

RESUMO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

Juliana Chagas de Menezes

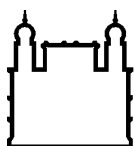
Introdução: O transtorno bipolar (TB) é uma doença psiquiátrica caracterizada por mudanças de humor crônicas, onde o paciente apresenta episódios de mania, hipomania e depressão, causando comprometimento funcional por lesão social e cognitiva. Os casos também apresentam maior risco de suicídio. O transtorno bipolar é uma doença comum que afeta de 1% a 4% da população mundial e representa um importante problema de saúde pública. Os mecanismos moleculares subjacentes à doença ainda não estão bem elucidados, representando um desafio importante na psiquiatria. As ações de múltiplos genes em interação com fatores ambientais, como consumo de álcool, toxic dependência e abuso físico, contribuem para a manifestação da doença. Alguns genes são considerados candidatos a fatores de risco para o desenvolvimento do transtorno bipolar como, por exemplo, os genes *CACNA1C*, *ODZ4*, *NCAN*, *FTO*, *TNF-A*, *IL-10*, *IL-6*, *BDNF* e *SERP1* que desempenham papéis importantes no desenvolvimento e na regulação neuronal, conectividade sináptica, mielinização, orientação axonal, mediação da resposta inflamatória, controle da resposta imune e na proteção contra a morte neuronal.

Objetivo: Neste estudo caso-controle, avaliamos se os polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs), localizados nos genes listados, podem ser considerados fatores de risco ou moduladores genéticos do quadro clínico de casos com TB em uma amostra de casos e voluntários saudáveis do Estado do Rio de Janeiro.

Métodos: Foi coletado material biológico (sangue ou saliva) de 104 casos e 202 controles, e em seguida foi feita a extração de DNA. A genotipagem dos SNPs foi realizada pelo método de polimorfismo de tamanho de fragmento de restrição (RFLP) para os genes *ODZ4* e *NCAN*. Foi realizado sequenciamento de Sanger para estudo do gene *NCAN*. E foi utilizado o método reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real para os genes, *FTO*, *TNF-A*, *IL-10*, *CACNA1C*, *IL-6*, *BDNF* e *SERP1*. As distribuições dos genótipos foram comparadas entre casos e controles e também entre casos com diferentes parâmetros clínicos para avaliar o possível papel desses polimorfismos no desenvolvimento de TB e/ou na modulação da doença.

Resultados e conclusão: Não foram encontradas diferenças significantes entre casos e controles nas distribuições genotípicas. No entanto, na comparação do polimorfismo presente no gene *FTO* com a presença de recorrência familiar da doença, tipo de TB e ausência de episódios psicóticos, *IL-6* com ocorrência de episódio psicótico, *IL-10* com ocorrência de episódio depressivo, *CACNA1C* e tipo de TB, e *SERP1* com tipo de TB, observamos resultados com significância estatística, o que pode sugerir uma possível associação destes SNPs em pacientes com TB.

Palavras-chave: transtorno bipolar, SNP, *FTO*, *IL-6* e *IL-10*



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

STUDY OF THE GENETIC BASIS OF BIPOLAR DISORDER

ABSTRACT

MASTER DISSERTATION IN CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY

Juliana Chagas de Menezes

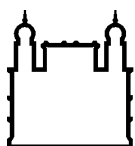
Introduction: Bipolar disorder (BD) is a psychiatric disease characterized by chronic mood swings, in which the patient suffers episodes of mania, hypomania and depression, causing functional impairment as a cause of social and cognitive damage. The cases also have a higher risk of suicide. Bipolar disorder is a common disease that affects 1% to 4% of the world's population and represents an important public health problem. The molecular mechanisms underlying the disease are still not well elucidated, representing a major challenge in psychiatry. The action of multiple genes in interaction with environmental factors, such as alcohol consumption, drug abuse and physical abuse, contribute to the manifestation of the disease. Some genes are considered candidates for risk factors for the development of bipolar disorder, for example, *CACNA1C*, *ODZ4*, *NCAN*, *FTO*, *TNF-A*, *IL-10*, *IL-6*, *BDNF* and *SERP1* genes which play important roles in development and in regulating synaptic connectivity, myelination, neuronal and axonal guidance, mediation of the inflammatory response, control of the immune response and protection against neuronal death.

Aim: In this case-control study, we assess whether the SNPs, located in the genes listed, can be considered risk factors or genetic modulators of the clinical presentation of BD cases in a sample of cases and healthy volunteers in the State of Rio de Janeiro.

Methods: Were collected biological material (blood or saliva) of 104 cases and 202 controls, followed by DNA extraction. The genotyping of SNPs was held by Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) for *ODZ4* and *NCAN* genes. Sanger sequencing was performed for SNP genotyping for *NCAN*. And we used the real time polymerase chain reaction method (real time PCR) for the genes, *FTO*, *TNF-A*, *IL-10*, *CACNA1C*, *IL-6*, *BDNF* and *SERP1*. The genotypes were compared between cases and controls, and also between cases with different clinical parameters to evaluate the possible role of these polymorphisms in the development and/or the modulation of disease.

Results and conclusions: No significant differences were found between cases and controls in the genotype distributions. However, the comparison of this *FTO* gene polymorphism with the presence of familiar recurrence of the disease, type of BD and absence of psychotic episodes, *IL-6* with occurrence of psychotic episode, *IL-10* with occurrence of depressive episode, *CACNA1C*, and type BD, and *SERP1* with type of BD, we observed results with statistical significance, which may suggest a possible Association of these SNPs on patients with BD.

Keywords: bipolar disorder, SNP, *FTO*, *IL-6* e *IL-10*



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Histórico.....	1
1.2 Aspectos Clínicos do transtorno bipolar	3
1.2.1 Classificação da doença.....	4
1.2.2 Comorbidades.....	5
1.2.3 Diagnóstico	5
1.3 Epidemiologia	8
1.4 Etiologia.....	9
1.4.1 SNPs (Polimorfismo de Único Nucleotídeo).....	12
1.4.2 Genes	12
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo Geral.....	18
2.2 Objetivos Específicos	18
3 METODOLOGIA	19
3.1 Indivíduos Participantes.....	19
3.1.1 Recrutamento.....	19
3.1.2 Coleta da amostra	19
3.1.3 Considerações éticas.....	20
3.2 Métodos	20
3.2.1 Extração de DNA a partir de sangue	20
3.2.2 Extração de DNA a partir de saliva.....	20

3.2.3	Quantificação e verificação da integridade do DNA.....	20
3.3	Genotipagem.....	21
3.3.1	Reação em Cadeia da Polimerase – Polimorfismos no comprimento do fragmento de restrição (PCR-RFLP).....	21
3.3.2	Sequenciamento.....	24
3.3.3	PCR em Tempo Real – Método TaqMan	25
3.4	Análises Estatísticas.....	26
4	RESULTADOS	27
4.1	Análise Caso X Controle	27
4.1.1	<i>ODZ4</i> rs12576775 (A>G).....	27
4.1.2	<i>NCAN</i> rs1064395 (G>A)	27
4.1.3	<i>FTO</i> rs9939609 (T>A)	28
4.1.4	<i>TNFA</i> rs1800629 (G>A).....	29
4.1.5	<i>IL-6</i> rs1800795 (C>G).....	30
4.1.6	<i>IL-6</i> rs1800797 (A>G).....	31
4.1.7	<i>IL-10</i> rs1800872 (T>G)	32
4.1.8	<i>CACNA1C</i> rs1006737 (A>G).....	33
4.1.9	<i>BDNF</i> rs4074134 (C>T).....	34
4.1.10	<i>SERPINA1</i> rs17580 (T>A)	35
4.1.11	<i>SERPINA1</i> rs28929474 (G>A).....	36
4.2	Análise das Características Clínicas dos Casos	40
5	DISCUSSÃO	50
5.1	<i>ODZ4</i> rs12576775 (A>G).....	50
5.2	<i>NCAN</i> rs1064395 (G>A)	51
5.3	<i>FTO</i> rs9939609 (T>A).....	51
5.4	<i>TNF-A</i> rs1800629 (G>A).....	52
5.5	<i>IL-6</i>	53

5.6	<i>IL-10</i> rs1800872 (T>G)	54
5.7	<i>CACNA1C</i> rs1006737 (A>G)	54
5.8	<i>BDNF</i> rs4074134 (C>T)	55
5.9	<i>SERPINA1</i>	55
6	CONCLUSÃO	56
7	REFERÊNCIAS	57
8	APÊNDICES	75
8.1	Questionário de Episódio Maníaco – Controles	75
8.2	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Casos	76
8.3	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Controles	78
8.4	Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	80

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.1: Areteu da Capadócia	2
Figura 1.2: Emil Kraepelin	2
Figura 1.3: Episódios de humor no Transtorno Bipolar. Oscilações de humor e características dos episódios.....	4
Figura 1.4: Risco de desenvolvimento do transtorno bipolar.....	10
Figura 1.5: Esquema do efeito pleiotrópico dos genes CACNA1C, NCAN, FTO e BDNF, entre as desordens de humor e as doenças cardio-metabólicas. Adaptado de Amare et al., 2017.....	11
Figura 3.1: Esquema da digestão enzimática por <i>Hae III</i>	23
Figura 3.2: Esquema da digestão enzimática por <i>HpyCH4V</i>	23
Figura 4.1: Eletroferograma do SNP rs1064395 (G>A) do gene <i>NCAN</i>	27
Figura 4.2: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene <i>FTO</i> rs9939609 (T>A)	28
Figura 4.3: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene <i>TNF-A</i> rs1800629 (G>A)	29
Figura 4.4: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene <i>IL-6</i> rs1800795 (C>G)	30
Figura 4.5: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene <i>IL-6</i> rs1800797 (A>G)	31
Figura 4.6: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene <i>IL-10</i> rs1800872 (T>G)	32
Figura 4.7: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene <i>CACNA1C</i> rs1006737 (A>G)	33
Figura 4.8: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene <i>BDNF</i> rs4074134 (C>T)	34
Figura 4.9: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene <i>SERPINA1</i> rs17580 (T>A)	35
Figura 4.10: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene <i>SERPINA1</i> rs28929474 (G>A)	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Sequências dos oligonucleotídeos utilizados na reação de PCR	21
Tabela 3.2: Ciclagem para o gene <i>ODZ4</i>	22
Tabela 3.3: Ciclagem para o gene <i>NCAN</i>	22
Tabela 3.4: Programa para preparação da reação de sequenciamento do gene <i>NCAN</i>	25
Tabela 4.1: Distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos, na comparação caso – controle	37
Tabela 4.2: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene <i>ODZ4</i> - rs12576775 (A>G)	40
Tabela 4.3: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene <i>NCAN</i> - rs1064395 (G>A)	41
Tabela 4.4: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene <i>FTO</i> – rs9939609 (T>A)	42
Tabela 4.5: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene <i>TNF-A</i> – rs1800629 (G>A)	43
Tabela 4.6: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene <i>IL-6</i> - rs1800795 e rs1800797	44
Tabela 4.7: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene <i>IL-10</i> – rs1800872 (T>G)	45
Tabela 4.8: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene <i>CACNA1C</i> rs1006737 (A>G)	46
Tabela 4.9: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene <i>BDNF</i> rs4074134 (C>T)	47
Tabela 4.10: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene <i>SERPINA1</i> - rs28929474 e rs17580	48

LISTA DE QUADROS

Quadro 3.1: Concentrações e reagentes utilizados na PCR para <i>ODZ4</i> e <i>NCAN</i>	21
Quadro 3.2: Concentrações e volumes da reação de digestão enzimática (RFLP) para os polimorfismos rs12576775 (A>G) do gene <i>ODZ4</i> e rs1064395(G>A) do gene <i>NCAN</i>	23
Quadro 3.3: Reagentes utilizados para a reação de sequenciamento	24
Quadro 3.4: Concentrações e volumes dos reagentes utilizados no PCR em Tempo Real	26

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A – Adenina

BDNF – *Brain-derived Neurotrophic Factor* - Fator neurotrófico derivado do cérebro

C – Citosina

CACNA1C - *Calcium Channel, Voltage-Dependent, L Type, Alpha 1C Subunit* - Canal de Cálcio, Dependente de Voltagem, Tipo L, Subunidade Alpha 1C

MgCl₂ - Cloreto de magnésio

DDM - desordem depressiva maior

ddNTP - Dideoxínucleotídeo

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

dNTP - Deoxínucleotídeo

DSM-V – *Diagnostical and Statistical Manual of Mental Disorders* - Manual de Diagnóstico e Estatística de Transtornos Mentais

EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético

F – Foward

Fem - Feminino

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

FTO - *Fat Mass and Obesity-associated* - Proteína da Massa de Gordura associada à Obesidade

G – Guanina

GWAS - *Genome-Wide Association Study* - Estudos de associação do genoma completo

IC – Intervalo de Confiança

IL-6 - *Interleukin 6* – Interleucina 6

IL-10 – *Interleukin 10* – Interleucina 10

IPUB - Instituto de Psiquiatria da Universidade do Brasil

Masc - Masculino

NCAN - *Neurocan*

NIMH - *National Institute of Mental Health* - Instituto Nacional de Saúde Mental

ODZ4 - Teneurin Transmembrane Protein 4 - Proteína Transmembrana Teneurina 4

OMS - Organização Mundial da Saúde

OR – *Odds Ratio*

p – Braço curto

pb – Pares de Base

PCR – Protein Chain Reaction – Reação em Cadeia da Polimerase

PMD - Psicose Maníaco-Depressiva

pmol – Picomolar

q – Braço longo

R - *Reverse*

RFLP - Restriction Fragment Length Polymorphism - Polimorfismo no Comprimento do Fragmento de Restrição

SERP1 – SERPINA 1

SNC - Sistema Nervoso Central

SNP – Single-nucleotide Polymorphism - Polimorfismo de Único Nucleotídeo

T – Timina

TAE - Tris-Acetato-EDTA

Taq - *Thermus aquaticus*

TB - Transtorno Bipolar

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TDAH - Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade

TNF- α – Tumor Necrosis Factor – Alpha - Fator de Necrose Tumoral - Alfa

UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro

V - Volts

LISTA DE SÍMBOLOS

% - Por Cento

~ - Aproximadamente

' - Apóstrofe

ng - Nanograma

nM – Nanomolar

°C – Graus Celsius

p – *p value* – Valor de *p*

X - Vezes

μL – Microlitro

μM – Micromolar

1. INTRODUÇÃO

O transtorno bipolar (TB) é uma desordem mental que leva ao comprometimento funcional progressivo do paciente devido ao seu início precoce, gravidade e cronicidade (1). É caracterizada por alterações de humor frequentes e recorrentes, variando entre episódios maníacos e episódios depressivos (2).

1.1 Histórico

A primeira descrição sobre alterações de humor é proveniente da Grécia Antiga, que se baseava na teoria dos quatro humores corporais que representavam as enfermidades, sendo eles, sangue (sanguínea), fleuma (fleumática), bile amarela (colérica) e bile negra (melancólica) (3). A melancolia foi descrita por Hipócrates, que a caracterizava como um estado prolongado de medo e tristeza, devido ao predomínio da bile negra (4). A mania também foi descrita na Grécia Antiga, sendo referente a estados psicóticos agitados, podendo ter sua causa justificada por fatores alheios ao balanço dos humores, como um tipo de inspiração originário da poesia, da divindade ou do amor (5). Para descrever os episódios mais brandos de euforia, Mendel passou a utilizar o termo hipomania, que se tratavam de quadros clínicos com características de mania, mas que não evoluíam para a mania propriamente dita (6).

As primeiras informações da doença maníaco-depressiva datam do Século I depois de Cristo, quando Areteu da Capadócia (**Figura 1.1**), descreveu e estabeleceu a mania e a melancolia como características distintas da mesma doença (7, 8).



Figura 1. 1: Areteu da Capadócia, conhecido como clínico da mania, por ser o primeiro a descrever de maneira clara o transtorno bipolar. Fonte: Psiquiatria Online - <https://psiquiatriaonlinebr.wordpress.com/2015/06/25/parte-5-areteu-da-capadocia-o-clinico-da-mania/> - acessado em 05 de dezembro de 2017.

Emil Kraepelin (1899) (**Figura 1.2**) estabeleceu o modelo médico da doença baseado em observações clínicas que vão desde os sintomas até a sua evolução ao longo do tempo, atendo-se aos fatores psíquicos e sociais. Neste momento, a doença passou a ser conhecida por “psicose maníaco-depressiva (PMD)” (9).

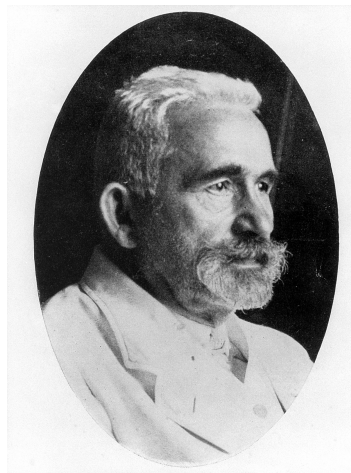


Figura 1. 2: Emil Kraepelin. Fonte: Psychology Today <https://www.psychologytoday.com/blog/mood-swings/200805/relax-youre-not-bipolar> - Acessado em 05 de dezembro de 2017.

Kraepelin e Weingandt dividiram a atividade psíquica em três domínios: Afeto, pensamento e atividade motora e, separaram os quadros clínicos em puros e mistos. Os quadros puros são referentes aos estados maníacos ou depressivos. Os quadros mistos referem-se à ocorrência de sintomas relacionados a mania e a depressão de forma

concomitante (4). Kraepelin descreveu que a PMD possuía evoluções distintas, uma com a melancolia recorrente e a outra chamada de bipolar, que possui tanto as formas melancólicas como as formas depressivas. Portanto, Kraepelin considerava que essas evoluções variadas eram referentes a um único processo clínico (10, 11). Estudiosos da época, como Philippe Chaslin (1899) se opunham à concepção de Kraepelin, por julgar que PMD e melancolia tratavam-se de condições independentes. Carl Wernicke (1899) considerava que mania e melancolia eram diferentes da PMD. Essas ideias eram apoiadas por outros dois estudiosos, Karl Kleist (1949) e seu discípulo Karl Leonhard (1957) (3). Em 1949, Edda Neele iniciou um estudo para investigar as depressões monopolares ou psicoses monopolares, que consistiam na manifestação de mania ou depressão e, as depressões bipolares ou psicoses bipolares, quando há a associação da mania e da depressão (8). Na década de 60, outros autores partilhavam do mesmo pensamento de Wernicke, Kleist e Leonhard, a PMD deveria ser dividida em unipolar e bipolar (3, 6).

Em 1976, Dunner, além de descrever a importância clínica da hipomania, também foi o responsável por cunhar o termo transtorno bipolar, que é utilizado atualmente pelo Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM) (12, 13).

1.2 Aspectos Clínicos do transtorno bipolar

No estado maníaco o paciente entra em estado de euforia excessiva, fuga de ideias, aumento da atividade motora, irritabilidade, podendo surgir episódios psicóticos e ocasionar a internação do paciente. A duração da mania é de no mínimo uma semana, estando o humor elevado ou a irritabilidade presente na maior parte do dia e em quase todos os dias (4, 14). Já o quadro de hipomania é caracterizado por elevações de humor e distúrbios comportamentais e funcionais mais brandos e mais rápidos do que na mania. A hipomania possui um menor impacto negativo e funcional no paciente, no entanto é capaz de desencadear a mania (14).

No quadro depressivo o paciente entra em estado de tristeza profunda, lentidão psicomotora, inibição do pensamento e exclui-se do convívio social, podendo apresentar ideias suicidas ou cometendo o suicídio. Desta forma, o TB apresenta uma alta taxa de mortalidade decorrente dos episódios depressivos. A taxa de suicídios entre casos com TB é 20 vezes maior quando comparada com a população em geral (4).

No estado misto os sintomas maníacos e depressivos ocorrem concomitantemente com os domínios afeto, pensamento e atividade motora atuando em direções opostas. Os episódios mistos são caracterizados por um período de tempo de, no mínimo, uma semana, no qual o paciente apresenta rápida alternância de humor, e sintomas como hiperatividade, desregulação do apetite, distúrbios do sono, aspectos psicóticos e comportamento suicida (13) (**Figura 1.3**).

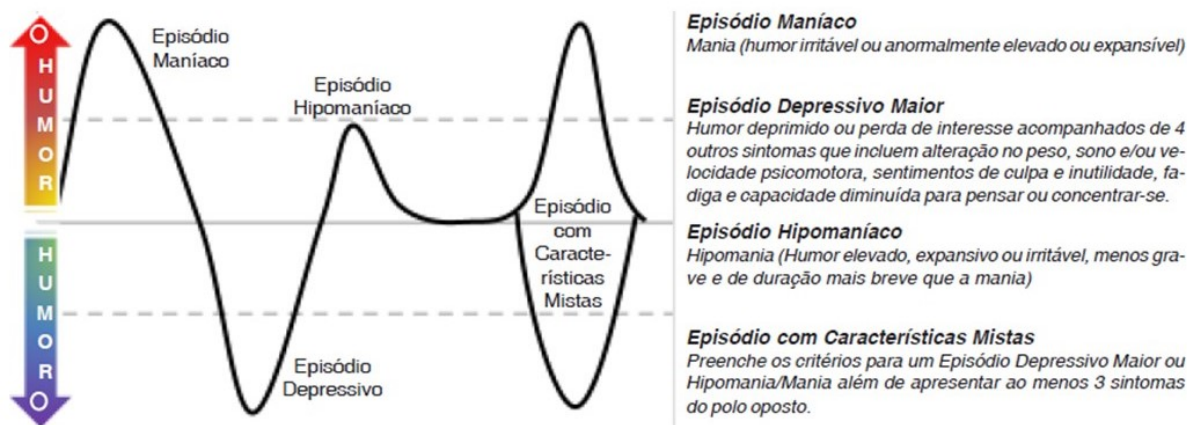


Figura 1. 3: Episódios de humor no Transtorno Bipolar. Oscilações de humor e características dos episódios. (Adaptado de Stahl, 2013 (15)).

Os pacientes com TB também podem apresentar um quadro de transtorno chamado de ciclotímico que é caracterizado por períodos hipomaniacos e depressivos de maneira alternada por pelo menos dois anos, porém, sem atender aos critérios de mania, hipomania ou depressão (2, 4, 13, 16-18). Durante o estado denominado como eutímia, o paciente encontra-se em quadro estável, e apresenta remissão dos sintomas (19).

As mudanças de humor em casos com TB levam a uma diminuição nas funções executivas e verbais, no aprendizado, no processamento da informação e na sustentação da atenção (20, 21). Tais características estão presentes em todas as fases da doença (22, 23). Estudos sugerem que episódios maníacos causam déficits mais severos quando comparados com déficits causados em episódios depressivos e eutímicos (24). Estudos anteriores demonstraram que esses déficits podem ser compartilhados por familiares de primeiro grau que não possuem a doença (25, 26).

1.2.1 Classificação da doença

De acordo com o DSM-V, o TB pode ser classificado em tipo 1 e tipo 2 (13). O TB tipo 1 é caracterizado pela ocorrência de episódio maníaco (independentemente da ocorrência

de um episódio depressivo). O TB tipo 2 é caracterizado por episódios depressivos alternados com episódios hipomaniacos mais brandos. Neste caso, o paciente apresenta bom humor e melhora transitória do funcionamento ocupacional devido ao aumento da produtividade (13).

A doença pode ter seu início em várias idades, geralmente ocorrendo durante a adolescência ou no início da vida adulta. O seu diagnóstico pode demorar anos devido à complexidade clínica e à frequente sutileza dos sintomas no momento da sua manifestação inicial (27). A idade média para o primeiro episódio do TB-1 é de 18 anos, enquanto que no TB-2, é de 25 (13).

1.2.2 Comorbidades

Pacientes bipolares apresentam determinadas doenças em uma proporção maior que a população em geral, como por exemplo, a síndrome metabólica que está presente em 30% dos portadores de TB, além de doenças cardiovasculares, problemas na tireoide e câncer (28-31). A alta taxa de mortalidade deve-se também, aos efeitos colaterais dos medicamentos utilizados para o tratamento (32).

1.2.3 Diagnóstico

O diagnóstico do TB baseia-se na história clínica, bem como na avaliação do estado mental do paciente (33). Diversos aspectos devem ser avaliados e considerados para o diagnóstico de um episódio maníaco (**Quadro 1.1**) ou hipomaniaco (**Quadro 1.2**) (13).

Quadro 1. 1: Critérios para diagnóstico de episódio maníaco.

Critérios Diagnósticos para Episódio Maníaco	
A	Um período distinto de humor anormal e persistentemente elevado, expansivo ou irritável e aumento anormal e persistente da atividade dirigida a objetivos ou da energia, com duração mínima de uma semana e presente na maior parte do dia, quase todos os dias (ou qualquer duração, se a hospitalização se fizer necessária).
B	Durante o período de perturbação do humor e aumento da energia ou atividade, três (ou mais) dos seguintes sintomas (quatro se o humor é apenas irritável) estão presentes em grau significativo e representam uma mudança notável do comportamento habitual:
	1. Autoestima inflada ou grandiosidade.
	2. Redução da necessidade de sono (exemplo: sente-se descansado com apenas três horas de sono);
	3. Mais loquaz que o habitual ou pressão para continuar falando.
	4. Fuga de ideias ou experiência subjetiva de que os pensamentos estão acelerados.
	5. Distrabilidade (exemplo: a atenção é desviada muito facilmente por estímulos externos insignificantes ou irrelevantes), conforme relatado ou observado.
	6. Aumento da atividade dirigida a objetivos (seja socialmente, como no trabalho ou na escola, ou sexualmente) ou agitação psicomotora (exemplo: atividade sem propósito não dirigida a objetivos).
7. Envolvimento excessivo em atividades com elevado potencial para consequências dolorosas (exemplo: envolvimento em surtos desenfreados de compras, indiscrições sexuais ou investimentos financeiros insensatos).	
C	A perturbação do humor é suficientemente grave a ponto de causar prejuízo acentuado no funcionamento social ou profissional ou necessidade de hospitalização a fim de prevenir dano a si mesmo ou a outras pessoas, ou existem características psicóticas.
D	O episódio não é atribuível aos efeitos fisiológicos de uma substância (exemplo: droga de abuso, medicamento, outro tratamento) ou a outra condição médica.

Quadro 1. 2: Critérios para diagnóstico de episódio hipomaníaco.

Critérios Diagnósticos para Episódio Hipomaníaco	
A	Um período distinto de humor anormal e persistentemente elevado, expansivo ou irritável e aumento anormal e persistente da atividade ou energia com duração mínima de quatro dias consecutivos e presente na maior parte do dia, quase todos os dias.
B	Durante o período de perturbação do humor e aumento de energia e atividade, três (ou mais) dos sintomas do critério B para episódio Maníaco (quatro se o humor é apenas irritável) persistem, representam uma mudança notável em relação ao comportamento habitual e estão presentes em grau significativo.
C	O episódio está associado a uma mudança clara no funcionamento que não é característica do indivíduo quando assintomático.
D	A perturbação do humor e a mudança no funcionamento são observáveis por outras pessoas.
E	O episódio não é suficientemente grave a ponto de causar prejuízo acentuado no funcionamento social ou profissional ou para necessitar de hospitalização. Entretanto, existindo características psicóticas, por definição, o episódio é maníaco.
F	O episódio não é atribuível aos efeitos fisiológicos de uma substância (exemplo: droga de abuso, medicamento ou outro tratamento).

A depressão é o quadro mais comum entre os casos e a maior causa de incapacitação, embora a caracterização da doença seja baseada na presença de sintomas maníacos ou hipomaníacos (34).

Embora o TB possua seus parâmetros específicos de diagnóstico, observa-se uma significativa variação de características clínicas particulares como intensidade, evolução e outras peculiaridades em indivíduos afetados. Por exemplo, alguns casos podem apresentar prevalência de sintomas de depressão, enquanto outros apresentam dominância do humor agressivo e hiperativo (35). Aproximadamente metade dos indivíduos diagnosticados com TB sofrem experiências de distorção da realidade como alucinações ou delírios (36).

Devido ao conjunto de sintomas ser compartilhado com várias outras desordens psiquiátricas, parâmetros precisos de diagnóstico não são claramente definidos. Não é incomum a revisão de um diagnóstico ao longo da vida de um paciente. Devido a esta

heterogeneidade a doença tem sido considerada um grupo de transtornos mentais relacionados, denominados de transtornos do espectro bipolar (37-39). Além disso, a ansiedade, o abuso de substâncias ilegais, a dependência de álcool e o transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) são características que frequentemente coexistem com o TB. A causa desta complexidade clínica ainda não é conhecida. Entretanto, acredita-se que estas condições possam compartilhar moduladores genéticos comuns.

1.3 Epidemiologia

As desordens mentais afetam aproximadamente de 5 a 25% da população adulta mundial e são as principais causas de incapacidade, segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) (40, 41). O TB é responsável pelo acometimento de 1 a 4% da população mundial, aproximadamente 30 milhões de indivíduos, independente de etnia, nacionalidade e/ou status socioeconômico (9, 42, 43).

Estima-se que o TB seja a 17ª causa de incapacitação na Europa, representando 1,6% do total quando comparado com outras doenças que levam a incapacitação do indivíduo, e esse quadro permanece ainda que o paciente entre em eutímia (41). Isto ocorre devido ao fato da idade de manifestação ser aos 20 anos, que é a fase de maior produtividade do indivíduo (44-46). Segundo o Instituto Nacional de Saúde Mental (NIMH), 2,6% dos adultos são afetados pelo TB nos Estados Unidos. No Brasil, estima-se que ~ 1% da população tenha sido diagnosticada com TB (47, 48).

Na década de 1990, o TB foi responsável por causar a incapacitação de ~ 6,6 milhões de pessoas ao redor do mundo. E em 2013, esse número subiu para cerca de 9 milhões. Passou de 76ª para 19ª principal causa de doenças incapacitantes e, de 54ª para 16ª principal causa de mortalidade e morbidade prematura durante os anos em que o paciente se encontra incapacitado. Entre 1990 e 2013, o número de casos subiu de 32,7 milhões para 48,8 milhões de pessoas afetadas, o que equivale a um aumento de 49,1% na prevalência da doença (1, 49-51).

Dados mundiais demonstraram que o TB acomete homens e mulheres de maneira diferente. Foi observado que a prevalência o TB-1 é maior em homens, enquanto que no TB-2, esta taxa é maior em mulheres. Estes estudos também demonstraram que 76,5% dos

indivíduos diagnosticados apresentaram outros transtornos ao longo da vida, como transtornos de ansiedade, comportamentais e relacionados ao abuso de substâncias (52).

1.4 Etiologia

O TB é uma doença complexa e multifatorial, desencadeada através da interação entre fatores ambientais e genéticos. Esta desordem representa um grande problema de saúde pública e um dos maiores desafios e interesses da neurociência moderna, pois seu mecanismo de manifestação ainda não é bem elucidado (16). Dentre o conjunto de fatores ambientais, o desencadeamento e a evolução do TB são influenciados por eventos como, o consumo de álcool, a dependência de drogas, a ocorrência de algum trauma precoce e por eventos aversivos de grande significância na vida do paciente (53). Situações de estresse ao final da adolescência também podem levar ao surgimento da doença, mas o primeiro episódio maníaco pode ocorrer em qualquer momento da vida (54).

Diversos estudos já demonstraram uma possível associação de algumas citocinas com o TB. Células da imunidade inata presentes no sistema nervoso central (SNC) como a microglia, participam do processo de neuroinflamação. Quando ocorre a ativação deste processo, aumenta a produção de citocinas que afetam a plasticidade sináptica e regiões importantes para a regulação do humor (55-57).

Sabe-se que o cérebro é protegido por uma barreira hemato-encefálica, que não permite que haja contato entre o cérebro e mediadores imunes (58, 59). Porém, há estudos que observaram que o tecido cerebral é capaz de gerar processo imune (58, 60). Uma desregulação crônica do sistema imune que seja capaz de ativar células como macrófagos e células T também podem contribuir possivelmente para a patogênese de desordens mentais como a esquizofrenia e o TB (61, 62).

Os estudos acerca da herdabilidade desta desordem iniciaram-se nas décadas de 70 e 80, quando identificaram que um possível fator genético poderia estar associado ao seu desenvolvimento (63). Anos mais tarde, foi possível observar que a chance de recorrência de TB em gêmeos monozigóticos varia de 40 a 70% de desenvolver o TB. Enquanto que em parentes de primeiro grau, esta taxa varia entre 5-10%. Um indivíduo normal, que não possua grau de parentesco com casos, apresenta um risco entre 0,5-1,5%, sugerindo que esta

desordem apresenta alta herdabilidade (**Figura 1.4**) (54, 64). Dentre os tipos de TB, o tipo 2 apresenta a maior taxa de recorrência familiar (15).

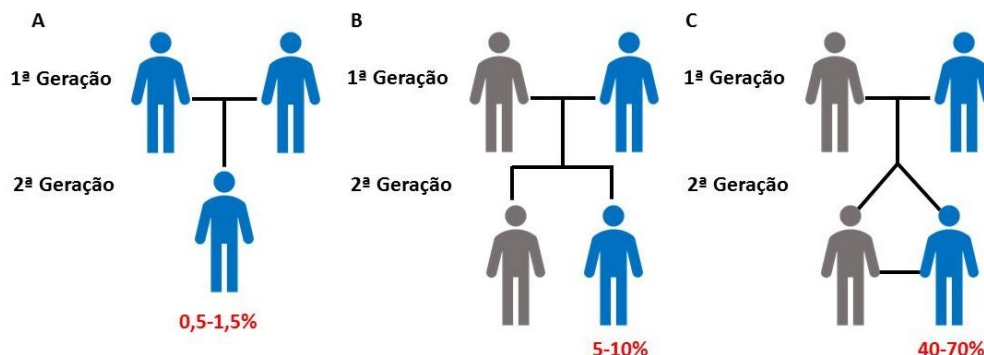


Figura 1. 4: Risco de desenvolvimento do transtorno bipolar. **Indivíduo de cor azul** – Sinaliza o risco daquele indivíduo de desenvolver a doença considerando a recorrência da doença em sua estrutura familiar; **Indivíduo de cor preta** – Casos com a doença. **A** – Risco em indivíduos sem recorrência familiar; **B** – Risco em familiares de primeiro grau e irmãos; **C** - Risco em familiares de primeiro grau e gêmeos monozigóticos (O autor, 2018).

A susceptibilidade ao TB é provavelmente influenciada por múltiplos fatores genéticos de efeito pequeno a moderado e os resultados de experimentos de rastreamento de polimorfismos em todo o genoma sustentam este modelo poligênico (65). Estudos de associação por varredura do genoma (“Genome-Wide Association Study” - GWAS) demonstraram uma possível associação poligênica ao TB, sugerindo diversos genes candidatos como o *ODZ4*, *CACNA1C* e *NCAN* (66-68). Além destes estudos, outros genes já foram associados com o TB e com outras desordens mentais como *FTO*, *TNF-A*, *IL-6*, *IL-10*, *BDNF* e *SERPINA 1*.

É importante destacar que genes como, *CACNA1C*, *NCAN*, *FTO* e *BDNF*, possuem efeitos pleiotrópicos, que provavelmente são compartilhados entre as desordens de humor e as doenças cardio-metabólicas (69) (**Figura 1.5**).

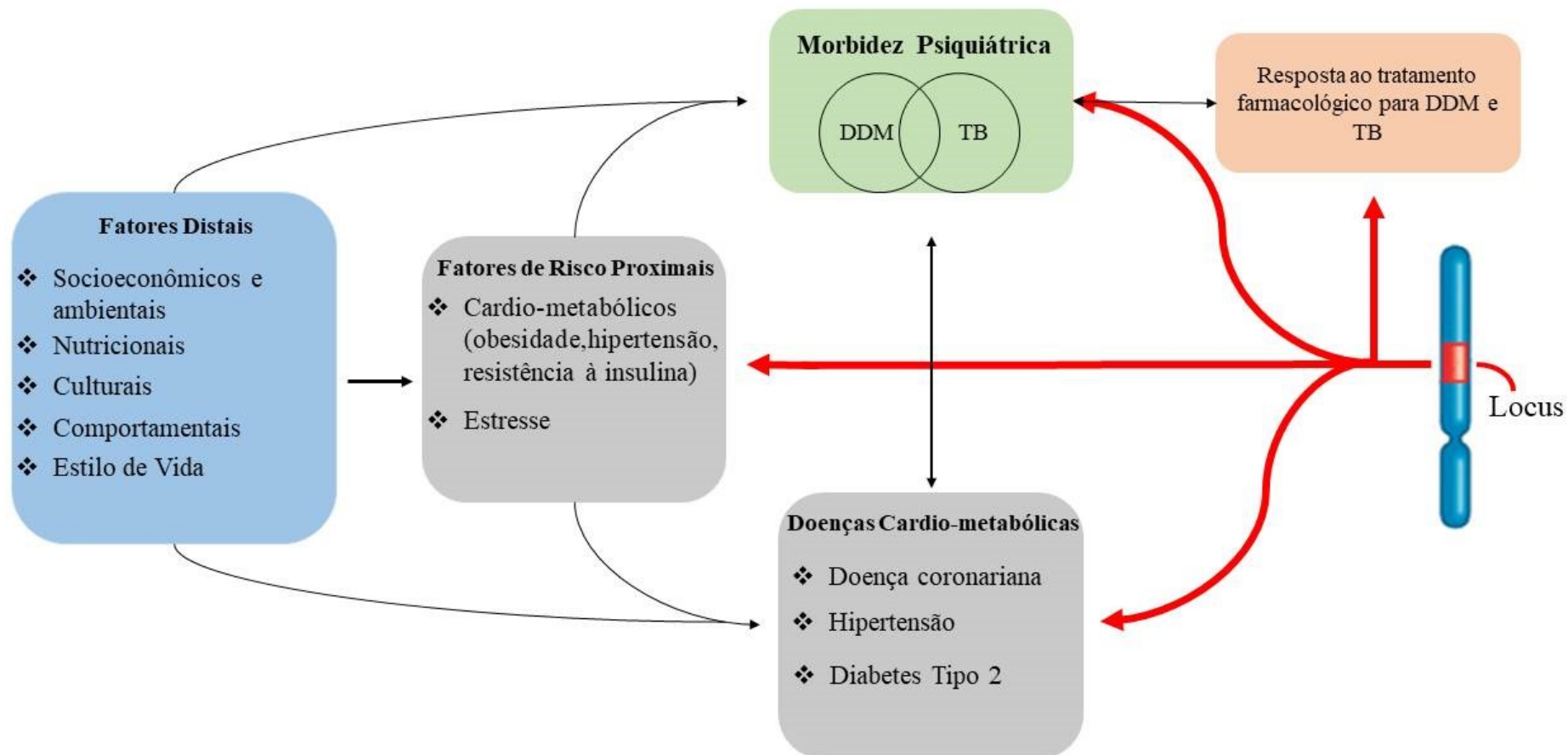


Figura 1. 5: Esquema do efeito pleiotrópico dos genes *CACNA1C*, *NCAN*, *FTO* e *BDNF*, entre as desordens de humor (TB – Transtorno Bipolar; DDM – Desordem Depressiva Maior) e as doenças cardio-metabólicas. (Adaptado de Amare *et al.*, 2017 (69)).

1.4.1 SNPs (Polimorfismo de Único Nucleotídeo)

Polimorfismos genéticos são variações que podem ocorrer a nível gênico, cromossômico ou proteico, e que estão presentes em mais de 1% de uma determinada população. Os SNPs são polimorfismos de único nucleotídeo, que se baseiam em uma troca na sequência de DNA, onde um único nucleotídeo é afetado (70).

1.4.2 Genes

1.4.2.1 ODZ4 (Proteína Transmembrana Teneurina 4)

O gene *ODZ4* está localizado no braço longo do cromossomo 11, na região 14.1, e é responsável por codificar uma proteína transmembranar conhecida como Teneurina, expressa predominantemente nos neurônios, e que tem como função regular a conectividade sináptica durante o desenvolvimento cerebral. Esta proteína também participa do desenvolvimento e diferenciação de oligodendrócitos e atua na mielinização dos axônios (71-73). Em um recente estudo, foi feita a confirmação da susceptibilidade do gene com o risco de desenvolvimento do TB (74). Este gene está relacionado não só com o TB, mas também com outras doenças como as desordens do espectro autista, a desordem de hiperatividade e déficit de atenção, a depressão severa e a esquizofrenia (65).

O gene possui mais de 14.000 variantes, dentre elas, uma variante que causa a substituição de uma treonina por uma asparagina na posição 1367 da proteína codificada (p.T1367N). Esta mutação é responsável por desencadear o tremor hereditário, que é caracterizado pelo acúmulo da proteína mutada na membrana da célula (73). A variante responsável pela associação com o TB é a rs12576775, que é uma troca de A>G, localizada na região intrônica. Esta variante também foi relacionada a outras desordens mentais, dentre elas, a desordem do espectro autista e a esquizofrenia (65, 67, 75).

1.4.2.2 NCAN (Neurocan)

NCAN é um gene situado no braço curto do cromossomo 19 em 19p13.11, responsável por codificar a proteína Neurocan, que é secretada para o meio extracelular, para o lúmen do aparelho de golgi e para as cavidades lisossomais. Esta proteína está envolvida na modulação da adesão e da migração celular e na orientação axonal, sendo altamente expressa no cérebro (76). Em murinos, este gene é expresso nas regiões do hipocampo e do córtex, e isto pode

sugerir que o *NCAN* também possua alta taxa de transcrição no hipocampo humano, região envolvida em funções relacionadas a cognição e regulação da emoção (68, 77). A variante localizada na região 3', rs1064395 (G>A) foi associada como possível fator de risco ao TB (68, 78). Além disso, pacientes que possuem este polimorfismo apresentam alterações nas regiões occipital e córtex pré-frontal, sugerindo que este esteja envolvido no desequilíbrio do processamento visual e do funcionamento cognitivo, sendo estes processos frequentemente desestabilizados nas desordens mentais (78)

1.4.2.3 FTO (Proteína da Massa de Gordura associada à Obesidade)

O gene *FTO* está localizado no cromossomo 16, está associado com o ganho de peso. Este gene é responsável por codificar uma enzima desmetilase que pode agir como modulador da regulação da transcrição durante a adipogênese (79). Além disso, os níveis de expressão de *FTO* encontram-se aumentados durante o desenvolvimento cerebral (79-81).

Estudos tem avaliado uma possível associação entre este gene com desordens de humor, como a depressão e o TB (82-84). E isso pode ser justificado por três pontos importantes acerca do gene *FTO*. Primeiramente, por ser altamente expresso no cérebro, mais especificamente na região do hipotálamo, sugerindo que este gene possa desempenhar um papel importante no SNC (85). O segundo ponto é o fato da variante intrônica rs9939609 (T>A), deste gene estar associada a atrofia estrutural cerebral e a redução da fluência verbal (86, 87). Por fim, o terceiro ponto é o fato que a deficiência neste gene leva à diminuição do parênquima cerebral, mielinização retardada e um corpo caloso pequeno. Indivíduos com essa deficiência apresentam retardo de crescimento, atraso severo no desenvolvimento global e ausência de fala. Além disso, são observadas características dismórficas como, plenitude periorbital, ponte nasal ampla, narinas antevertidas, boca larga e queixo pequeno. Outras características clínicas também são observadas nesses como, por exemplo, a perda auditiva (88, 89). Desta forma, esses fatos sugerem que o *FTO* desempenhe um papel importante no controle emocional e comportamental.

1.4.2.4 TNF-A (Fator de Necrose Tumoral-Alfa)

TNF-A é uma citocina pró-inflamatória que além de ser expressa por macrófagos e linfócitos B e T ativados, também é produzida pelos neurônios, onde desempenha um papel pleiotrópico na citotoxicidade, transmissão neural e desenvolvimento do SNC (90, 91). Este

gene em condições normais, atua regulando a transmissão sináptica e a homeostase sináptica (92-94).

O gene *TNF- A* está localizado no braço curto do cromossomo 6 (6p21.3), uma região já associada com a susceptibilidade genética ao desenvolvimento da esquizofrenia, doença que possui similaridades genéticas com o TB (95). Um estudo com tecido *postmortem* de casos com esquizofrenia e TB, encontrou níveis elevados do receptor de TNF-A no córtex frontal e um aumento de TNF transmembrana. Isso sugere que a via do TNF no SNC dos casos de ambas as desordens apresenta alteração. Esta citocina também já foi identificada em níveis elevados no plasma de casos com essas desordens mentais (96, 97).

Casos bipolares durante um episódio maníaco ou depressivo apresentam um aumento significativo nos níveis séricos da citocina TNF-A quando comparados com controles saudáveis e, estes níveis permanecem elevados, mesmo que haja o controle do quadro psiquiátrico (98, 99).

O *TNF-A* foi sugerido como um gene potencial para o aumento da susceptibilidade ao TB, devido a associação do genótipo GG do polimorfismo rs1800629(G>A) com o risco de desenvolvimento da desordem quando existe história familiar de TB. Foi observado que a frequência do alelo G é 91,4% maior em casos que possuem recorrência familiar, quando comparados com casos que não possuem história familiar desta desordem (100).

1.4.2.5 IL-6 (Interleucina-6)

O gene *IL-6* está localizado no locus 7p15–7p21, e codifica a proteína IL-6 que é uma citocina pró-inflamatória liberada por macrófagos e tem sua resposta imune envolvida no estímulo da secreção de imunoglobulinas e ativação de células T, além de ser uma das citocinas mais estudadas na esquizofrenia (101-103). A IL-6 desempenha um importante papel na atividade da microglia e em respostas inflamatórias. Esta proteína também pode exercer um efeito protetor ou neurotóxico, de acordo com o microambiente do SNC (104). Quando a expressão de IL-6 está aumentada, pode ocorrer a inibição da neurogênese do hipocampo, região comprometida na esquizofrenia (105, 106). Em um estudo realizado na Coreia, foi observado que pacientes com TB durante um episódio maníaco apresentam um aumento na produção de IL-6 sérica, mas o nível volta ao normal após tratamento com estabilizadores de humor (98).

O SNP presente na região promotora do gene *IL-6*, rs1800795 (C>G) tem sido associado com altos níveis séricos de IL-6 em pacientes esquizofrênicos. Estes altos níveis séricos também estão correlacionados com a severidade da doença (102). Estudos observaram que este aumento de IL-6 é causado pela presença do alelo G (107, 108). O genótipo GG do polimorfismo rs1800797 A>G, também localizado na região promotora do *IL-6*, aparenta estar associado com o desenvolvimento da depressão na população Chinesa Han (109).

1.4.2.6 *IL-10 (Interleucina-10)*

A IL-10 é uma citocina regulatória, que tem sua produção codificada pelo gene *IL-10*, que está localizado no locus 1q31-32. Esta proteína já foi detectada no cérebro e em células da glia e possui um papel importante nos aspectos imunológicos de transtornos psiquiátricos (110, 111). Estudos com pacientes esquizofrênicos já demonstraram um descontrole dos níveis séricos de IL-10 (112, 113). Foi observada a presença de níveis elevados desta citocina no líquido cefalorraquidiano de pacientes com esquizofrenia. Desta forma, cogita-se que este gene possa desempenhar um papel fundamental na resposta imune que é gerada no cérebro (114). O SNP rs1800872 T>G, situado na região promotora do gene tem a capacidade de alterar a taxa de transcrição de *IL-10*, afetando diretamente nível de produção da citocina (115, 116).

1.4.2.7 *CACNA1C (Canal de Cálcio Dependente de Voltagem - subunidade Alfa1 C)*

O *CACNA1C* codifica a subunidade alfa-1 do canal de cálcio dependente de voltagem. Esta subunidade forma um canal transmembranar através do qual, íons de cálcio entram na célula. Os canais de cálcio são reguladores neuronais importantes do músculo esquelético cardíaco. No cérebro, *CACNA1C* pode estar envolvido na orientação axonal e na transmissão sináptica (117-119).

Este gene possui mais de 11.000 variantes conhecidas, situadas principalmente em suas regiões intrônicas e 3' não traduzida. Entretanto, variantes patogênicas no *CACNA1C* causam uma desregulação da entrada deste cálcio na célula, gerando a hiperexcitabilidade da mesma. Como consequência, pacientes com variantes patogênicas neste gene desenvolvem a Síndrome de Timothy, uma doença que afeta diversos órgãos, causando arritmias letais, doenças congênitas cardíacas, anormalidades no desenvolvimento dos dedos (sindactilia), imunodeficiência, hipoglicemia intermitente e características comportamentais similares ao autismo (120).

O SNP rs1006737 (A>G) presente neste gene é o mais replicado em estudos de associação. Esta variante está localizada no íntron 3 e ocorre com frequência alélica variável, dependendo da população ou etnia estudada. O alelo A é considerado um fator de risco para o TB e ocorre em 56% dos descendentes de africanos, 31% da população europeia e 6% da população asiática. Acredita-se que este SNP modele o risco do TB através da alteração dos níveis de expressão da proteína CACNA1C.

A relação do gene *CACNA1C* ao TB foi observada recentemente com associação do SNP rs1006737(A>G) em pacientes portadores de desordens afetivas graves, como TB, desordens do espectro autista e esquizofrenia, indicando uma baixa especificidade clínica (121).

1.4.1.8 *BDNF (Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro)*

O BDNF é um dos mais abundantes fatores neurotróficos, expresso em todo o cérebro, particularmente no hipocampo e no córtex pré-frontal, áreas significativamente importantes para o TB, por serem responsáveis pela memória e modulação do comportamento social, respectivamente (122, 123). Este fator é o principal mediador da plasticidade sináptica, conectividade neuronal e arborização dendrítica e atua modulando a migração, o crescimento e a sobrevivência neuronal (124, 125).

A diminuição dos níveis de BDNF no soro de casos com TB já foi correlacionada com a ocorrência de episódios maníacos e depressivos, quando comparados com casos em eutímia e controles saudáveis. Os níveis séricos deste fator neurotrófico são negativamente correlacionados com a gravidade dos sintomas tanto maníacos como depressivos, suportando a hipótese de seu envolvimento na fisiopatologia do TB (126).

Alterações no gene já foram correlacionadas com a diminuição do desempenho da memória em casos com TB-1, com a redução do tamanho do hipocampo e a neurocognição (127).

1.4.1.9 *SERP1 (Serpina 1)*

O gene *SERPINA1* está situado no locus 14q32.13, que codifica uma proteína chamada alfa-1 antitripsina, expressa em diversos órgãos, como por exemplo, o fígado. Este gene é capaz de inibir enzimas que participam do processo inflamatório, e participa da resposta ao

estresse. Mutações neste gene podem ocasionar diversos distúrbios, como a deficiência de alfa-1 antitripsina, que leva a Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (128, 129).

Um estudo avaliou e identificou uma possível associação do gene *SERPINA1* com desordens mentais, dentre elas, o TB (130). Neste estudo também foi sugerida uma possível associação deste gene com as funções da microglia, células com um potencial papel para a diferenciação do TB de outras desordens mentais.

Mesmo com sintomas severos, o TB pode ser tratado quando diagnosticado com precisão e celeridade (131). Desta forma, esforços devem ser destinados a identificação de fatores genéticos que podem atuar como marcadores de indivíduos sob risco de manifestação do TB, para guiar as estratégias terapêuticas mais adequadas às possíveis peculiaridades sintomáticas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo principal deste estudo é determinar as distribuições alélica e genotípica de SNPs localizados nos genes *ODZA*, *NCAN*, *FTO*, *TNF-A*, *IL-6*, *IL-10*, *CACNA1C*, *BDNF* e *SERPINA 1*, em nossa amostra de pacientes de TB e indivíduos saudáveis através de um estudo do tipo caso-controle. Compararemos nossos resultados com os dados de outros estudos com o objetivo de identificar potenciais fatores de risco para o TB ou moduladores da doença em nossa população.

2.2 Objetivos Específicos

- Investigar os possíveis efeitos de risco genético dos polimorfismos acima mencionados através de comparações entre as amostras de casos e controles.
- Determinar a possível atuação destes fatores genéticos como moduladores da doença, através da análise das características clínicas de cada paciente.
- Comparar as frequências alélicas dos polimorfismos deste estudo com a de outros estudos disponíveis na literatura.

3 METODOLOGIA

3.1 Indivíduos Participantes

3.1.1 *Recrutamento*

Para a realização do estudo foi feito o recrutamento de indivíduos portadores de TB (grupo caso) e voluntários saudáveis (grupo controle). O recrutamento foi feito em colaboração com o grupo de pesquisa liderado pelo médico e pesquisador Doutor Elie Cheniaux, integrante do IPUB-UFRJ, onde foram diagnosticados com TB por médicos psiquiatras, seguindo os critérios do DSM-V (13), utilizado para diagnóstico de doenças mentais. Os indivíduos possuíam idade superior a 18 anos no momento da coleta. Também foi realizada a coleta dos dados clínicos e demográficos dos pacientes, como: sexo, idade durante a entrada neste estudo, naturalidade, profissão, histórico familiar, tipo de TB, polaridade predominante, idade de início da doença, tempo para diagnóstico, número de: internações, episódios maníacos, disfóricos, depressivos e psicóticos; tipo de manifestação do primeiro episódio, evento vitais, perda materna, eventos antes do episódio, evento antes do primeiro episódio, presença de sintomas comórbidos, mudanças de humor por mês, ciclagem em um dia. Utilização de: estabilizadores de humor, antipsicóticos e benzodiazepínicos. Tratamento com eletroconvulsoterapia e tentativa de suicídio.

O recrutamento do grupo controle foi realizado na cidade do Rio de Janeiro, durante a realização deste trabalho, mediante aplicação da versão em português do Questionário de Transtorno do Humor (**Apêndice 8.1**) (132). Todos os controles possuíam idade superior a 18 anos e foram questionados quanto a presença de parentes com algum tipo de doença mental.

3.1.2 *Coleta da amostra*

O estudo teve início com a coleta de 5 ml de sangue periférico de casos e controles, em tubos Vacutainer® contendo anticoagulante EDTA. Entretanto, o método de coleta do material biológico foi substituído pela coleta de saliva, por ter maior aceitação pelos participantes e por ser menos invasivo. Para este tipo de coleta, os participantes foram orientados a bochechar 5 ml de água ultrapura (Milli-Q) por um minuto e transferir o material para um tubo Falcon de 15 ml. As amostras foram identificadas e encaminhadas para o LGH-FIOCRUZ, onde foram armazenadas.

3.1.3 Considerações éticas

Todos os participantes concordaram com a pesquisa mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (**Apêndices 8.2 – 8.3**). As normas para a coleta, armazenamento e utilização destas amostras seguiram as previstas na resolução 466 de 2012 do Conselho Nacional de Saúde. Este projeto tem autorização do Comitê de Ética em Pesquisa para a sua realização, número dos pareceres 922.614 (FIOCRUZ) (**Apêndice 8.4**) e 940.729 (IPUB).

3.2 Métodos

3.2.1 Extração de DNA a partir de sangue

A extração do DNA a partir de sangue fresco foi realizada através da utilização do kit comercial Purelink Genomic DNA Mini Kit (INVITROGEN), seguindo o protocolo definido pelo fabricante. As amostras de DNA extraídas foram armazenadas à -20°C até serem utilizadas nas reações moleculares de genotipagem.

3.2.2 Extração de DNA a partir de saliva

A extração do DNA a partir da (saliva) foi realizada através do método de “salting out” e precipitação com acetato de amônia como descrito por Aidar e Line, 2007 (133). As amostras de DNA extraídas foram armazenadas à -20°C até serem utilizadas nas reações moleculares.

3.2.3 Quantificação e verificação da integridade do DNA

Todas as amostras de DNA foram submetidas a quantificação por espectrofotometria em aparelho NanoDrop 2000 (THERMO FISHER SCIENTIFIC), onde foi possível observar a concentração e o grau de pureza das amostras de DNA a serem utilizadas na genotipagem. As amostras que possuíam concentração superior a 50ng foram diluídas para ajustar a concentração.

Além disso, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose 1%, para confirmar que as mesmas encontravam-se íntegras e aptas para a reação de PCR em Tempo Real.

3.3 Genotipagem

3.3.1 Reação em Cadeia da Polimerase – Polimorfismos no comprimento do fragmento de restrição (PCR-RFLP)

A genotipagem dos polimorfismos rs12576775 (A>G) (*ODZ4*) e rs1064395 (G>A) (*NCAN*), foi realizada através da técnica PCR seguida de RFLP.

Primeiramente, foi realizada para ambos os genes, uma PCR. A reação de cada gene foi preparada com uma mistura reacional contendo oligonucleotídeos “forward” e “reverse” específicos para cada polimorfismo (**Tabela 3.1**), dNTPs, Tampão 10X, Cloreto de Magnésio (MgCl₂), DNA Polimerase, Água Ultrapura e amostra do indivíduo (**Quadro 3.1**).

Tabela 3. 1: Sequências dos oligonucleotídeos utilizados na reação de PCR.

Gene – SNP	Sequência (completa)	Tamanho do Fragmento
<i>ODZ4</i> – rs12576775	F - TGG AGA AGG ACT GGA AGG CT R - AAA ATG GCC ACA GAG TGC CT	149 pb
<i>NCAN</i> – rs1064395	F – GAG GTG CTG CCA AGT TTT CT R - GGA GGA AGG CAA GGT GAG TT	286 pb

Quadro 3. 1: Concentrações e reagentes utilizados na PCR para *ODZ4* e *NCAN*

Reagentes	Volume
Tampão de Reação (10X)	2,5 µL
dNTP (2mM)	2,5 µL
Oligonucleotídeo F (10 µM)	1,0 µL
Oligonucleotídeo R (10 µM)	1,0 µL
<i>Taq</i> DNA polimerase (1,0 U/ µL)	1,0 µL
Água MilliQ	16 µL
DNA (~50ng/µl)	2,0 µL
Volume Final	25 µL

A reação foi submetida à amplificação em um termociclador Veriti (APPLIED BIOSYSTEMS), onde ocorreram as etapas de desnaturação, hibridação dos oligonucleotídeos à fita de DNA e extensão das novas fitas (**Tabelas 3.2 e 3.3**).

Tabela 3. 2: Ciclagem para o gene *ODZ4*

	<i>ODZ4</i>				
	Estágio 1	Estágio 2			Estágio 3
Ciclagem	x1	x35			x1
Temperatura	95°C	95°C	62°C	72°C	72°C
Tempo	00:05:00	00:01:00	00:00:45	00:01:00	00:09:00

Tabela 3. 3: Ciclagem para o gene *NCAN*

	<i>NCAN</i>				
	Estágio 1	Estágio 2			Estágio 3
Ciclagem	x1	x35			x1
Temperatura	95°C	95°C	58°C	72°C	72°C
Tempo	00:09:00	00:00:30	00:00:30	00:01:00	00:09:00

O resultado da amplificação dos oligonucleotídeos foi observado por eletroforese em gel de agarose a 1,5%, preparado com 5 µL da alíquota do material amplificado, adicionado a 2 µL de corante de corrida (azul de bromofenol 250mg (SIGMA); xileno cianol 250mg (MERCK); glicerol 30ml (MERCK) e 100 µL de água MilliQ), e corado com Brometo de Etídio (KASVI). A eletroforese foi realizada a 90V, por 1 hora em cuba horizontal (LCH – 12x14 / LOCCUS BIOTECNOLOGIA) usando-se como tampão de corrida TAE 1X (THERMO FISHER SCIENTIFIC). O gel foi visualizado em transiluminador de luz ultravioleta (L.PIX – LOCCUS BIOTECNOLOGIA). A amplificação do DNA foi observada através de inspeção visual e comparação de sua migração com a de um marcador de peso molecular de 100pb (INVITROGEN).

Após o resultado da PCR, o material amplificado foi submetido à técnica RFLP, que consiste no uso de enzimas de restrição que clivam o DNA em pontos específicos, gerando fragmentos de tamanhos diferentes, que são visualizados através da aplicação do material em um gel de agarose ou poliacrilamida. A separação dos fragmentos é feita por eletroforese, onde as bandas migram de acordo com seu tamanho e carga elétrica (134).

Os produtos da reação do gene *ODZ4* foram digeridos com a enzima de restrição *Hae III* por 16 horas à 37°C e 20 minutos à 80°C, e posteriormente visualizadas em gel de poliacrilamida 10% corado com brometo de etídio. A enzima corta na região 5'GG'CC3', sendo gerados fragmentos nos tamanhos de 136 e 13pb para o selvagem (AA), 136, 105, 31 e 13pb para o heterozigoto (AG) e 105, 31 e 13pb para o mutado (GG) (**Figura 3.1**).

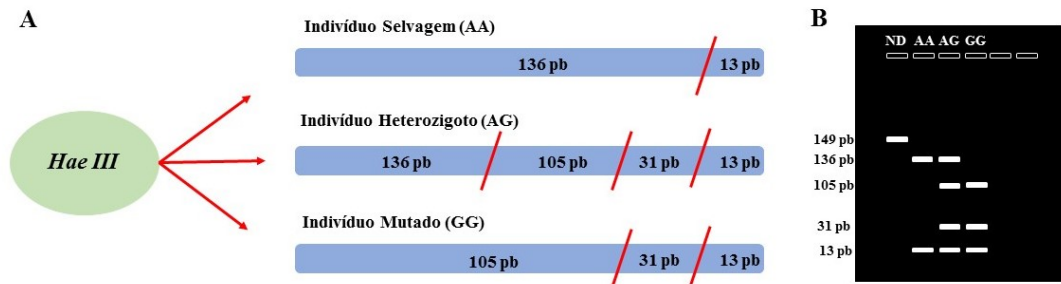


Figura 3. 1: Esquema da digestão enzimática por *Hae III*. **A** – Sítio de restrição e tamanho dos fragmentos gerados. **B** - Esquema ilustrativo dos fragmentos gerados, em gel de agarose (O autor, 2018).

Os produtos da reação do gene *NCAN* foram submetidos à digestão enzimática pela enzima de restrição *Hpych4V* por 3 horas à 37°C e 20 minutos à 80°C (**Quadro 3.2**). Após a reação, as amostras foram corridas em gel de agarose 2,5%, corado com brometo de etídio. A enzima cliva na região 5'TG'CA3', gerando fragmentos nos tamanhos de 257 e 29pb para o selvagem (GG), 257, 135, 122 e 29pb para o heterozigoto (GA), e 135, 122 e 29pb para o genótipo homozigoto mutado (AA) (**Figura 3.2**).

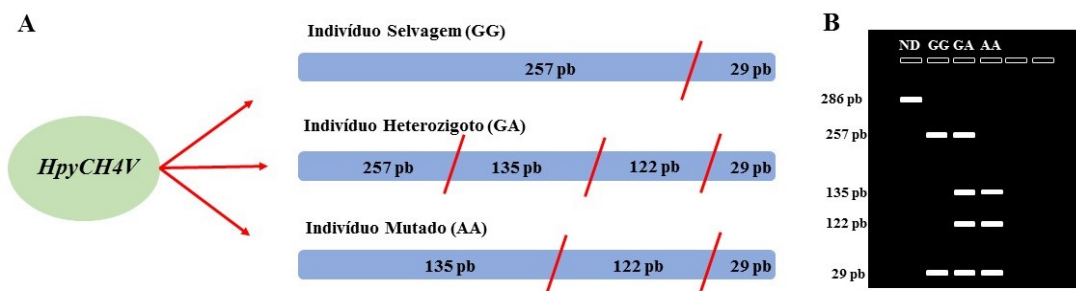


Figura 3. 2: Esquema da digestão enzimática por *HpyCH4V*. **A** – Sítio de restrição e tamanho dos fragmentos gerados. **B** - Esquema ilustrativo dos fragmentos gerados, em gel de agarose (O autor, 2018).

Quadro 3. 2: Concentrações e volumes da reação de digestão enzimática (RFLP) para os polimorfismos rs12576775 (A>G) do gene *ODZ4* e rs1064395(G>A) do gene *NCAN*.

Reagentes	<i>ODZA</i>	<i>NCAN</i>
Enzima de Restrição <i>Hae</i> <i>III</i> 10,000U/mL / <i>HpyCH4V</i> 5,000U/mL*	0.5 µL	0.1µL
Tampão NEBCutter 4 (10x)	2.5µL	2.5µL
Água MilliQ	12.0µL	12.4µL
Produto da PCR	10.0µL	10.0µL
Volume Final	25.0µL	25.0µL

3.3.2 Sequenciamento

O início da genotipagem do polimorfismo rs1064395 (G>A) presente no gene *NCAN*, foi realizado por PCR-RFLP, entretanto, a genotipagem de alguns indivíduos foi indefinida. Optamos então por dar continuidade utilizando o método de sequenciamento para os indivíduos que não tiveram a genotipagem definida.

3.3.2.1 Purificação dos Produtos da PCR

Após a amplificação por PCR das amostras. As mesmas foram visualizadas em gel de agarose. O restante do produto da PCR foi purificada pelo PureLink Quick PCR Purification kit (INVITROGEN), seguindo as recomendações do fabricante, para remoção de resíduos de reagentes utilizados na PCR.

3.3.2.2 Reação de Sequenciamento

As reações de sequenciamento dos produtos purificados da PCR foram preparadas em um volume final de 10.0µL, utilizando o kit BigDye Terminator v3.1 (THERMO FISHER SCIENTIFIC) (**Quadro 3.3**). As reações foram realizadas em uma placa de 96 poços [MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate (THERMO FISHER SCIENTIFIC) e conduzidas no termociclador Veriti modelo 9902 (APPLIED BIOSYSTEMS) no LGH (**Tabela 3.4**).

Quadro 3. 3: Reagentes utilizados para a reação de sequenciamento

Reagentes (Concentração)	Volume
Big Dye Terminator v3.1	0.5µL
DNA Purificado 50ng	2.0µ L
Primer senso 3,2pmol	1.0µ L
Tampão	1.0µL
Água MilliQ	5.5µL
Volume Final	10.0µL

Tabela 3. 4: Programa para preparação da reação de sequenciamento do gene *NCAN*

Sequenciamento <i>NCAN</i>			
	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3
Ciclagem	x1	x35	x1
Temperatura	95°C	95°C	60°C
Tempo	00:00:15	00:00:10	00:04:00

Após a ciclagem, as amostras foram encaminhadas à Plataforma de Sequenciamento do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), onde foi feita a reação de precipitação, que consiste na remoção do excesso de reagentes não incorporados. O material precipitado foi ressuspensionado em 10 µL de formamida Hi Di (THERMO FISHER SCIENTIFIC) e levado ao termociclador para desnaturação. A placa com as amostras foi centrifugada e levada ao sequenciador automático ABI Prism 3730 (THERMO FISHER SCIENTIFIC) para o processamento das amostras.

A análise das sequências foi realizada através do programa computacional Chromas Lite versão 2.1.1 (TECHNELYSIUM PTY LTD.).

3.3.3 PCR em Tempo Real – Método TaqMan

Os polimorfismos *FTO* rs9939609 (T>A), *TNF-A* rs1800629 (G>A), *IL-6* rs1800795 (C>G) e rs1800797 (A>G), *IL-10* rs1800872 (T>G), *CACNA1C* rs1006737 (A>G), *BDNF* rs4074134 (C>T) e *SERPINA* rs17580 (T>A) e 28929474 (G>A), foram genotipados através de PCR em Tempo Real, utilizando sondas comerciais para o método TaqMan (THERMO FISHER SCIENTIFIC).

Foi preparada uma solução composta pela sonda referente ao polimorfismo estudado, Master Mix (APPLIED BIOSYSTEMS), Água Milli Q e DNA (**Quadro 3.4**). As amostras foram genotipadas no sistema StepOne Plus™ (APPLIED BIOSYSTEMS) com sondas para os polimorfismos, *FTO* rs9939609 (T>A), *IL-6* rs1800795 (C>G) e rs1800797 (A>G), *IL-10* rs1800872 (T>G), *TNFA* rs1800629 (G>A), *CACNA1C* rs1006737 (A>G), *BDNF* rs4074134 (C>T), *SERPINA1* rs17580 (T>A) e rs28929474 (G>A) (THERMO FISHER SCIENTIFIC).

Quadro 3. 4: Concentrações e volumes dos reagentes utilizados no PCR em Tempo Real

Reagentes (Concentração)	Volume
Sonda	0.125 µL
Master Mix 2X	2.5µL
Água MilliQ	1.375µL
DNA 50ng	1.0µL
Volume Final	5.0µL

3.4 Análises Estatísticas

Os dados clínicos e moleculares foram organizados e armazenados em planilhas eletrônicas. Todas as inferências estatísticas foram feitas ao nível de significância de 0,05. Foram realizados testes de Equilíbrio de Hardy-Weinberg para nos certificarmos de que as amostras se encontravam em equilíbrio, teste do Qui-Quadrado e cálculo de OR (135-137).

4 RESULTADOS

Foram coletadas, extraídas e analisadas amostras de DNA de 104 casos provenientes da cidade do Rio de Janeiro, sendo 26 homens e 78 mulheres, com idades entre 20 e 83 anos, sendo a idade média igual a 49,8 anos, e desvio padrão de 12,5. A idade média de manifestação da doença nestes casos é de 24,9 anos e desvio padrão de 9,8. Para fins de comparação, coletamos e extraímos amostras de DNA de 202 controles também provenientes da cidade do Rio de Janeiro, que não possuíam desordens mentais, nem parentesco com indivíduos que apresentavam qualquer tipo de desordem mental, sendo 56 homens e 146 mulheres, com idades entre 18 e 69 anos, com média de idade de 30,2 anos, e desvio padrão de 10,5.

4.1 Análise Caso X Controle

4.1.1 *ODZ4 rs12576775 A>G*

A genotipagem foi realizada através de PCR-RFLP. Como resultado, observamos que o alelo G é mais frequente em casos quando comparado aos controles, porém não foram observadas diferenças significantes entre as frequências alélicas ou genotípicas (**Tabela 4.1**). As frequências genotípicas se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p=0,642$).

4.1.2 *NCAN rs1064395 G>A*

Pelo método de digestão enzimática, foram genotipados 100 casos e 97 controles. Por sequenciamento automático foram genotipados 4 casos e 9 controles (**Figura 4.1**).

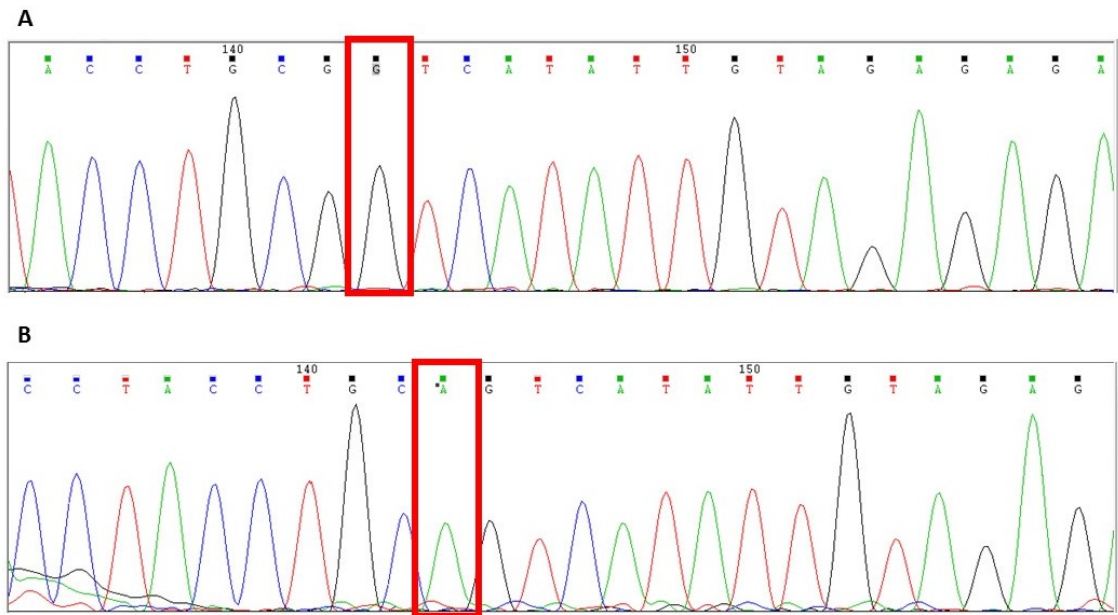


Figura 4. 1: Eletroferograma do SNP rs1064395 (G>A) do gene *NCAN*. **A** - indivíduo homocigoto selvagem (GG). **B** - indivíduo homocigoto mutado (AA).

Como resultado, observamos as seguintes frequências genóticas: GG 54,8% em casos e 59,4 % em controles. O genótipo GA foi encontrado em 39,4 % dos casos e 37,7 % dos controles, e AA 5,8 % dos casos e 2,8 % em controles (**Tabela 4.1**). O número de controles avaliados neste gene foi inferior aos demais polimorfismos. Após duas metodologias de genotipagem diferentes, 96 amostras de DNA do grupo controle falharam na amplificação. As frequências genóticas se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p=0,523$).

4.1.3 *FTO rs9939609 T>A*

Analisamos o polimorfismo rs9939609 (T>A) através de PCR em Tempo Real por sonda TaqMan (**Figura 4.2**).

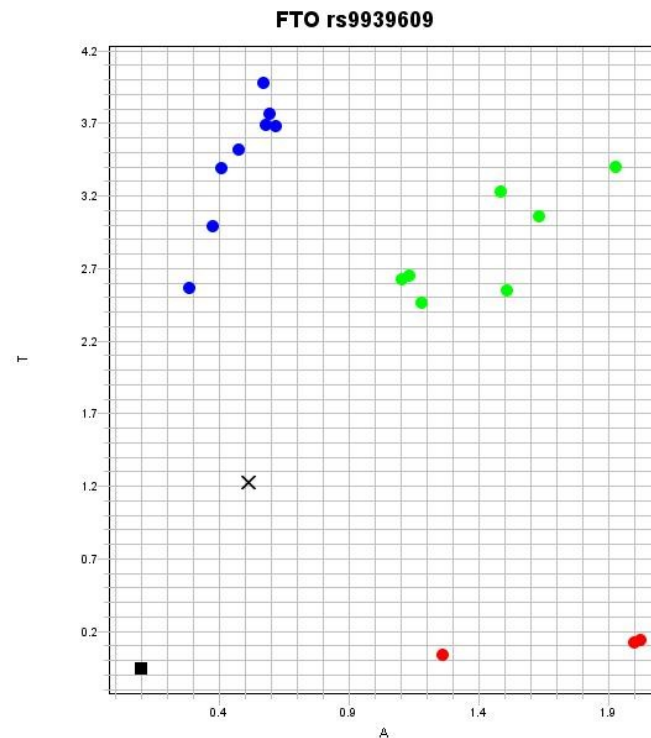


Figura 4. 2: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene *FTO* rs9939609 (T>A). Azul – Homozigoto selvagem (TT), Verde – Heterozigoto (TA), Vermelho - Homozigoto mutado (AA), Preto – Controle Negativo, Cruz Preta – Não houve discriminação alélica.

Observamos que o genótipo TT é mais frequente no grupo de casos do que no de controles. Entretanto, este polimorfismo não apresentou diferenças estatisticamente significantes na comparação caso x controle ($p= 1,000$) (**Tabela 4.1**).

4.1.4 *TNFA* rs1800629 G>A

Observamos que o genótipo GG é mais frequente no grupo de casos do que no de controles (**Figura 4.3**), entretanto não foram obtidas diferenças estatisticamente significantes ($p=0,900$) (**Tabela 4.1**).

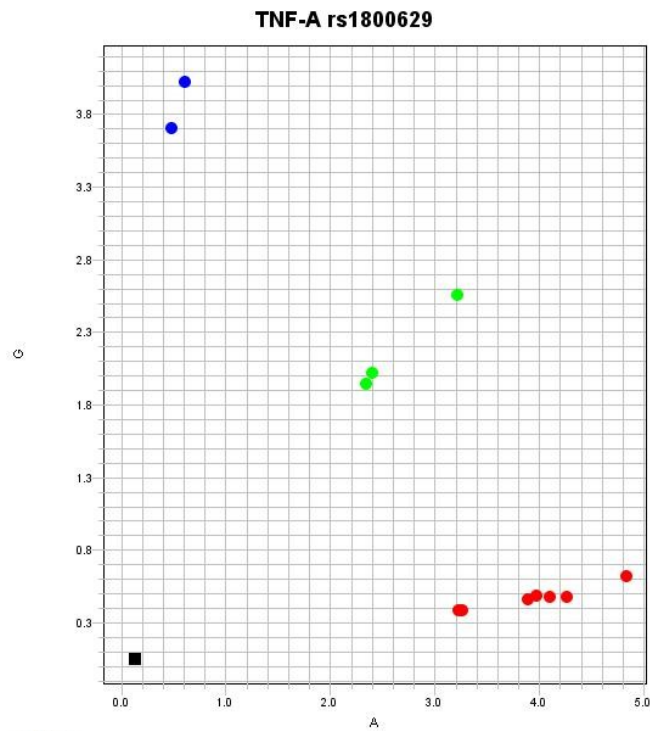


Figura 4. 3: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene *TNF-A* rs1800629 (G>A). Azul – Homozigoto selvagem (GG), Verde – Heterozigoto (GA), Vermelho - Homozigoto mutado (AA), Preto – Controle Negativo.

4.1.5 *IL-6* rs1800795 C>G

Foi observado que a frequência do genótipo GG é maior em casos quando comparada aos controles (**Figura 4.4**). Porém, não foram encontradas diferenças estatisticamente significante entre os grupos ($p=0,703$) (**Tabela 4.1**).

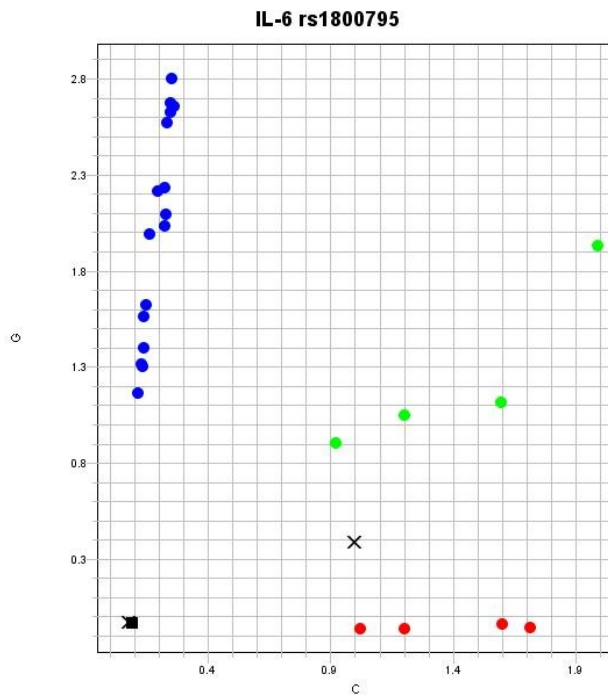


Figura 4. 4: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene *IL-6* rs1800795 (C>G). Vermelho – Homozigoto selvagem (CC), Verde – Heterozigoto (CG), Azul - Homozigoto mutado (GG), Quadrado Preto – Controle Negativo, Cruz Preta – Não houve discriminação alélica.

4.1.6 *IL-6* rs1800797 A>G

Foi observado que a frequência do genótipo GG é maior em casos quando comparada com controles (**Figura 4.5**). Porém, não foram encontradas diferenças estatisticamente significante entre os grupos ($p=1,000$) (**Tabela 4.1**).

Este polimorfismo foi o único que, por limitação de reagentes, não foi possível concluir a genotipagem de todos os controles (86/202 controles).

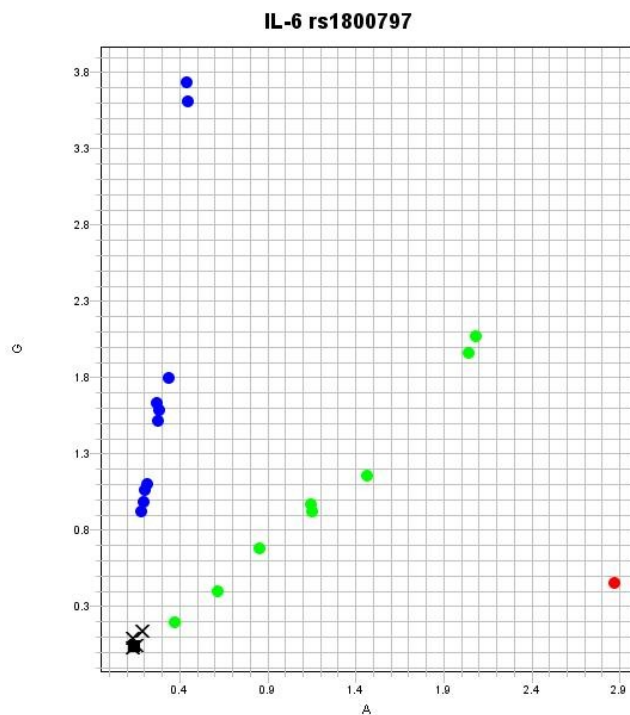


Figura 4. 5: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene *IL-6* rs1800797 (A>G). Vermelho – Homozigoto selvagem (AA), Verde – Heterozigoto (AG), Azul - Homozigoto mutado (GG), Quadrado Preto – Controle Negativo, Cruz Preta – Não houve discriminação alélica.

4.1.7 *IL-10* rs1800872 T>G

Após análise estatística foi observado que o genótipo TT é mais frequente em casos do que em controles. Entretanto, esta diferença de frequência não foi estatisticamente significante ($p=0,331$) (Tabela 4.1) (Figura 4.6).

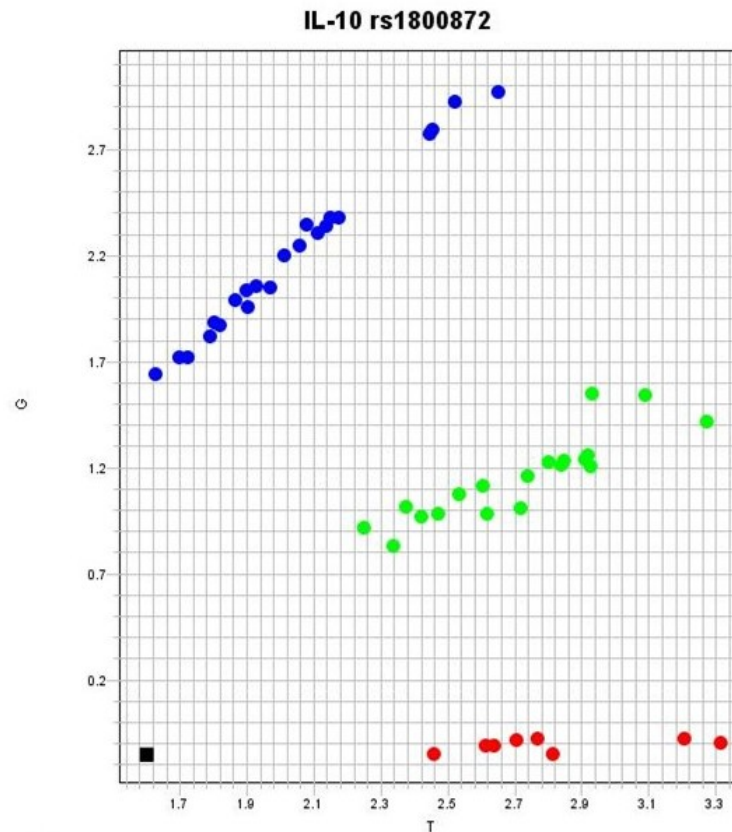


Figura 4. 6: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene *IL-10* rs1800872 (T>G). Vermelho – Homozigoto selvagem (TT), Verde – Heterozigoto (TG), Azul - Homozigoto mutado (GG), Preto – Controle Negativo.

4.1.8 *CACNA1C* rs1006737 A>G

Foi observado que genótipo AA é mais frequente nos casos do que nos controles (**Figura 4.7**). Embora sejam frequências diferentes, estatisticamente, esta diferença não foi significativa ($p=0,840$) (**Tabela 4.1**).

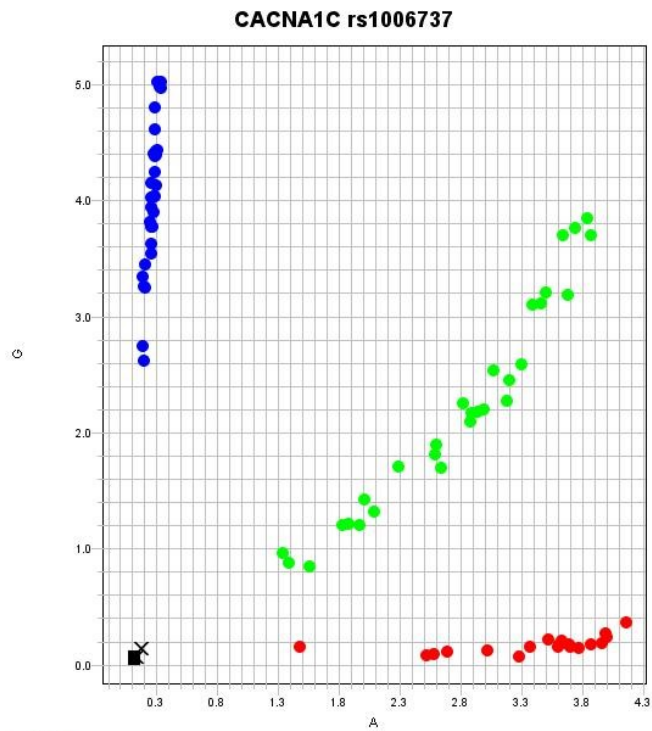


Figura 4. 7: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene *CACNA1C* rs1006737 (A>G). Vermelho – Homozigoto selvagem (AA), Verde – Heterozigoto (AG), Azul - Homozigoto mutado (GG), Preto – Controle Negativo, Cruz Preta – Não houve discriminação alélica.

4.1.9 *BDNF* rs4074134 C>T

Após análises estatísticas, foi observado que o genótipo CC é mais frequente no grupo de casos, mas esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,510$) (**Figura 4.8**) (**Tabela 4.1**).

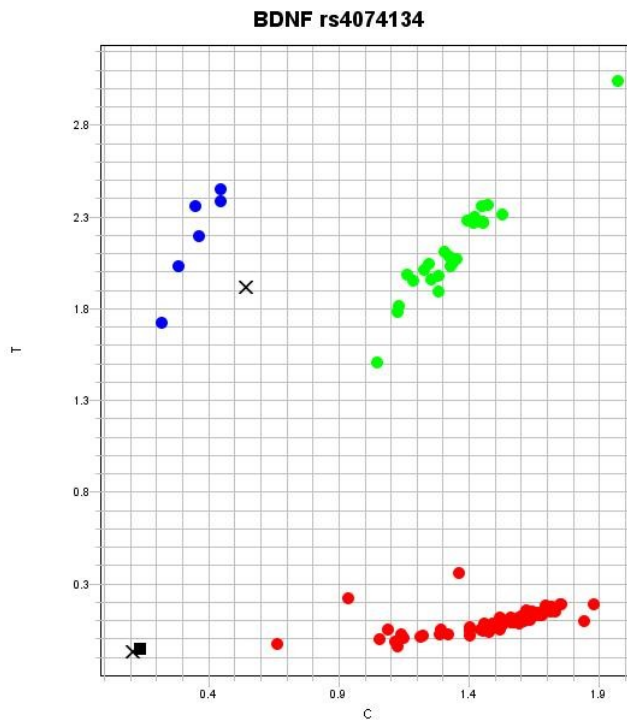


Figura 4. 8: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene *BDNF* rs4074134 (C>T). Vermelho – Homozigoto selvagem (CC), Verde – Heterozigoto (CT), Azul - Homozigoto mutado (TT), Preto – Controle Negativo, Cruz Preta – Cruz Preta – Não houve discriminação alélica.

4.1.10 *SERPINA1* rs17580 T>A

Após análises estatísticas, foi observado que o genótipo TT é mais frequente no grupo controle do que no caso, mas esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,900$) (Tabela 4.1). Observamos também que não foram identificados indivíduos de ambos os grupos para o genótipo AA (Figura 4.9).

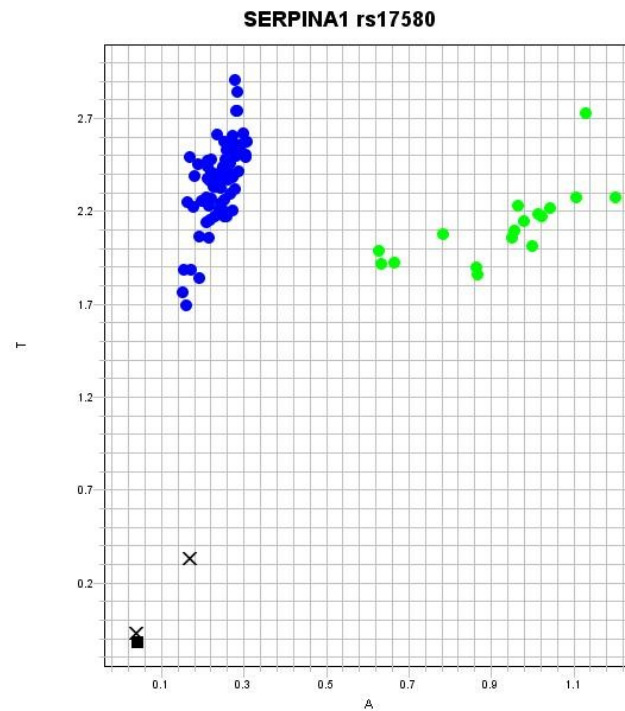


Figura 4. 9: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene *SERPINA1* rs17580 (T>A). Azul – Homozigoto selvagem (TT), Verde – Heterozigoto (TA), Preto – Controle Negativo, Cruz Preta – Não houve discriminação alélica.

4.1.11 *SERPINA1* rs28929474 G>A

Após análises estatísticas, foi observado que o genótipo GG é mais frequente no grupo de controles do que no grupo de casos, mas esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p=1,000$) (**Tabela 4.1**). Observamos também que não foram identificados indivíduos de ambos os grupos para o genótipo AA (**Figura 4.10**).

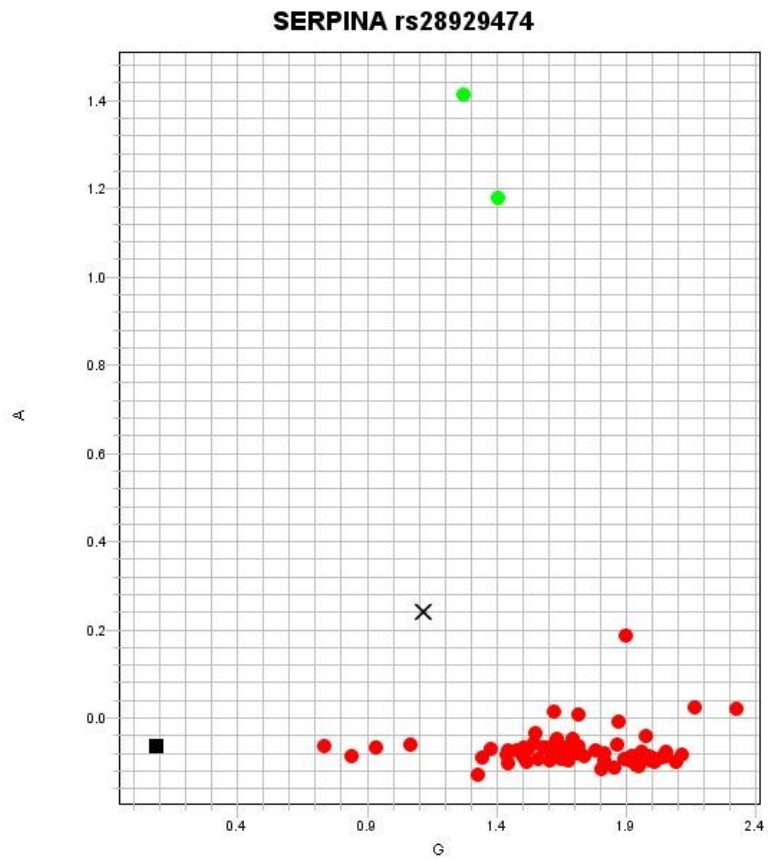


Figura 4. 10: Resultado da discriminação alélica dos indivíduos genotipados para o gene *SERPINA1* rs28929474 (G>A). Vermelho – Homozigoto selvagem (GG), Verde - Heterozigoto (GA), Preto – Controle Negativo, Cruz Preta – Não houve discriminação alélica.

Tabela 4. 1: Distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos, na comparação caso - controle

Gene	SNP	Grupo	Genótipo n (%)			p valor	Alelo n (%)		p valor
			AA	AG	GG		A	G	
<i>ODZA</i>	rs12576775		AA	AG	GG	0,800	A	G	0,780
		Caso (104)	73 (70,2)	27 (25,9)	4 (3,8)		173 (83,2)	35 (16,8)	
		Controle (202)	149 (73,8)	47 (23,2)	6 (3,0)		345 (85,4)	59 (14,6)	
<i>NCAN</i>	rs1064395		GG	GA	AA	0,524	G	A	0,360
		Caso (104)	57 (54,8)	41 (39,4)	6 (5,8)		155 (74,5)	53 (25,5)	
		Controle*	63 (59,4)	40 (37,7)	3 (2,8)		166 (78,3)	46 (21,7)	
<i>FTO</i>	rs9939609		TT	TA	AA	0,623	T	A	0,854
		Caso (104)	39 (37,5)	45 (43,3)	20 (19,2)		123 (59,1)	85 (40,9)	
		Controle (202)	72 (35,6)	98 (48,5)	32 (15,8)		242 (59,9)	162 (40,1)	
<i>TNFA</i>	rs1800629		GG	GA	AA	0,434	G	A	0,210
		Caso (104)	86 (82,7)	18 (17,3)	0 (0,0)		190 (91,3)	18 (8,7)	
		Controle (202)	154 (76,2)	46 (22,8)	2 (1,0)		354 (87,3)	50 (12,4)	
<i>IL-6</i>	rs1800795		CC	CG	GG	0,740	C	G	0,433
		Caso (104)	8 (7,7)	39 (37,5)	57 (54,8)		55 (26,4)	153 (73,6)	
		Controle (202)	20 (9,9)	79 (39,1)	103 (51,0)		119 (29,5)	285 (70,5)	
	rs1800797		AA	AG	GG	0,620	A	G	0,350
		Caso (104)	8 (7,7)	39 (37,5)	57 (54,8)		55 (26,4)	153 (73,6)	
		Controle**	8 (9,3)	37 (43,0)	41 (47,7)		53 (30,8)	119 (69,2)	

Continua

Gene	SNP	Grupo	Genótipo n (%)			p valor	Alelo n (%)		p valor
			TT	TG	GG		T	G	
<i>IL-10</i>	rs1800872		TT	TG	GG	0,360	T	G	0,252
		Caso (104)	9 (8,7)	58 (55,8)	37 (35,6)		76 (36,5)	132 (63,5)	
		Controle (202)	16 (7,9)	97 (48,0)	89 (44,1)		129 (31,9)	275 (68,1)	
<i>CACNA1C</i>	rs1006737		AA	AG	GG	0,373	A	G	0,221
		Caso (104)	17 (16,3)	48 (46,2)	39 (37,5)		82 (39,4)	126 (60,6)	
		Controle (202)	22 (10,9)	95 (47,0)	85 (42,1)		139 (34,4)	265 (65,6)	
<i>BDNF</i>	rs4074134		CC	CT	TT	0,760	C	T	0,460
		Caso (104)	71 (68,3)	29 (27,9)	4 (3,8)		171 (82,2)	37 (17,8)	
		Controle (202)	131 (64,9)	60 (29,7)	11 (5,4)		322 (79,7)	82 (20,3)	
<i>SERPINA1</i>	rs28929474		GG	GA	AA	0,460	G	A	0,210
		Caso (104)	102 (98,1)	2 (1,9)	0 (0,0)		206 (99,0)	2 (1,0)	
		Controle (202)	201 (99,5)	1 (0,5)	0 (0,0)		403 (99,8)	1 (0,2)	
	rs17580		TT	TA	AA	0,722	T	A	0,432
		Caso (104)	87 (83,7)	17 (16,3)	0 (0,0)		191 (91,8)	17 (8,2)	
		Controle (202)	175 (86,6)	27 (13,4)	0 (0,0)		377 (93,3)	27 (6,7)	

*Foram genotipados 106 controles saudáveis.

** Foram genotipados 86 controles saudáveis.

4.2 Análise das Características Clínicas dos Casos

De todas as informações clínicas coletadas a respeito dos casos, oito foram selecionadas para as análises estatísticas, sendo elas, sexo, histórico familiar, tipo de tb, presença/ausência de episódios depressivos, presença/ausência de episódios psicóticos, manifestação do primeiro episódio, presença/ausência de delírios e alucinações, e tentativa de suicídio. Estas características foram comparadas com os genótipos dos casos para os polimorfismos *ODZ4* rs12576775 (A>G), *NCAN* rs1064395 (G>A), *FTO* rs9939609 (T>A), *IL-6* rs1800795 (C>G) e rs1800797 (A>G), *IL-10* rs1800872 (T>G), *TNFA* rs1800629 (G>A), *CACNA1C* rs1006737 (A>G), *BDNF* rs4074134 (C>T), *SERPINA1* rs17580 (T>A) e rs28929474 (G>A) (**Tabelas 4.2-4.10**).

Os resultados obtidos que demonstraram valor estatístico significativo foram: *FTO* rs9939609 (T>A) x Histórico Familiar ($p=0,010$), *FTO* rs9939609 (T>A) x Tipo de TB, *IL-6* rs1800795 (C>G) e rs1800797 (A>G) x Presença/Ausência de Episódios Psicóticos ($p=0,034$ para ambos os SNPs), *IL-10* rs1800872 (T>G) x Presença/Ausência de Episódios Depressivos ($p=0,026$), *IL-10* rs1800872 (T>G) x Manifestação do Primeiro Episódio (Depressão) ($p=0,025$), *CACNA1C* rs1006737 (A>G) x Tipo de TB ($p=0,032$) e *SERPINA1* rs28929474 (G>A) x Tipo de TB ($p=0,020$).

Tabela 4.2: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene *ODZ4* - rs12576775 (A>G)

Variáveis Clínicas		Casos	<i>ODZ4</i> - rs12576775			
			AA	AG	GG	p
		104	n (%)			
SEXO	Masc	27	18 (66,7)	8 (29,6)	1 (3,7)	0,880
	Fem	77	55 (71,4)	19 (24,7)	3 (3,9)	
Histórico Familiar	Não	36	23 (63,9)	12 (33,3)	1 (2,8)	0,535
	Sim	57	42 (73,7)	13 (22,8)	2 (3,5)	
	N/I	11				
Tipo	Tipo 1	87	60 (69,0)	24 (27,6)	3 (3,4)	0,350
	Tipo 2	8	6 (75,0)	1 (12,5)	1 (12,5)	
	N/I	9				
Episódios Depressivos	Não	29	17 (58,6)	11 (37,9)	1 (3,4)	0,320
	Sim	65	48 (73,8)	15 (23,1)	2 (3,1)	
	N/I	10				
Episódios Psicóticos	Não	89	63 (70,8)	23 (25,8)	3 (3,4)	0,739
	Sim	5	3 (60,0)	2 (40,0)	0 (0,0)	
	N/I	10				
Primeiro Episódio	Mania	46	31 (67,4)	14 (30,4)	1 (2,2)	0,470
	Depressão	49	35 (71,4)	11 (22,4)	3 (6,1)	
	N/I	9				
Delírios e Alucinações	Não	66	47 (71,2)	17 (25,8)	2 (3,0)	0,975
	Sim	29	20 (69,0)	8 (27,6)	1 (3,4)	
	N/I	9				
Tentativa de Suicídio	Não	60	42 (70,0)	17 (28,3)	1 (1,7)	0,495
	Sim	33	23 (69,7)	8 (24,2)	2 (6,1)	
	N/I	11				

Tabela 4.3: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene *NCAN* - rs1064395 (G>A)

Variáveis Clínicas		Casos 104	<i>NCAN</i> - rs1064395			
			GG	GA	AA	p
SEXO	Masc	27	14 (51,9)	12 (44,4)	1 (3,7)	0,755
	Fem	77	43 (55,8)	29 (37,7)	5 (6,5)	
Histórico Familiar	Não	36	23 (63,9)	10 (27,8)	3 (8,3)	0,227
	Sim	57	30 (52,6)	25 (43,9)	2 (3,5)	
	N/I		11			
Tipo	Tipo 1	87	53 (60,9)	29 (33,3)	5 (5,7)	0,237
	Tipo 2	8	3 (37,5)	5 (62,5)	0 (0,0)	
	N/I		8			
Episódios Depressivos	Não	29	22 (75,9)	5 (17,2)	2 (6,9)	0,071
	Sim	65	35 (53,8)	27 (41,5)	3 (4,6)	
	N/I		10			
Episódios Psicótico	Não	89	53 (59,6)	31 (34,8)	5 (5,6)	0,853
	Sim	5	3 (60,0)	2 (40,0)	0 (0,0)	
	N/I		10			
Primeiro Episódio	Mania	46	30 (66,7)	12 (26,7)	3 (6,7)	0,250
	Depressão	49	23 (53,1)	21 (42,9)	2 (4,1)	
	N/I		10			
Delírios e Alucinações	Não	66	39 (59,1)	24 (36,4)	3 (4,5)	0,890
	Sim	29	17 (58,6)	10 (34,5)	2 (6,9)	
	N/I		9			
Tentativa de Suicídio	Não	60	38 (63,3)	19 (31,7)	3 (5,0)	0,537
	Sim	33	17 (51,5)	14 (42,4)	2 (6,1)	
	N/I		11			

Tabela 4.4: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene *FTO* – rs9939609 (T>A)

Variáveis Clínicas		Casos	<i>FTO</i> - rs9939609			
			TT	TA	AA	p
		104	n (%)			
SEXO	Masc	27	11 (40,7)	11 (40,7)	5 (18,5)	0,920
	Fem	77	28 (36,4)	34 (44,2)	15 (19,5)	
Histórico Familiar	Não	36	6 (16,7)	20 (55,6)	10 (27,8)	0,010
	Sim	57	27 (47,4)	21 (36,8)	9 (15,8)	
	N/I		11			
Tipo	Tipo 1	87	28 (32,2)	41 (47,1)	18 (20,7)	0,006
	Tipo 2	8	7 (87,5)	0 (0,0)	1 (12,5)	
	N/I		9			
Episódios Depressivos	Não	29	9 (31,0)	13 (44,8)	7 (24,1)	0,772
	Sim	65	24 (36,9)	29 (44,6)	12 (18,5)	
	N/I		10			
Episódios Psicóticos	Não	89	32 (36)	41 (46,1)	16 (18,0)	0,040
	Sim	5	2 (40,0)	0 (0,0)	3 (60,0)	
	N/I		10			
Primeiro Episódio	Mania	45	15 (33,3)	21 (46,7)	9 (20,0)	0,770
	Depressão	50	20 (40,0)	20 (40,0)	10 (20,0)	
	N/I		9			
Delírios e Alucinações	Não	66	25 (37,9)	30 (45,5)	11(16,7)	0,463
	Sim	29	9 (31,0)	12 (41,4)	8,0 (27,6)	
	N/I		9			
Tentativa de Suicídio	Não	60	21 (35,0)	27 (45,0)	12 (20,0)	0,870
	Sim	33	13 (39,4)	13 (39,4)	7,0 (21,2)	
	N/I		11			

Tabela 4.5: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene *TNF- α* – rs1800629 (G>A)

Variáveis Clínicas		Casos	<i>TNF-α</i> - rs1800629			
			GG	GA	AA	p
		104	n (%)			
SEXO	Masc	27	24 (88,9)	3 (11,1)	0 (0,0)	0,600
	Fem	77	62 (80,5)	15 (19,5)	0 (0,0)	
Histórico Familiar	Não	36	32 (88,9)	4 (11,1)	0 (0,0)	0,500
	Sim	57	45 (78,9)	12 (21,1)	0 (0,0)	
	N/I	11				
Tipo	Tipo 1	87	71 (81,6)	16 (18,4)	0 (0,0)	0,400
	Tipo 2	8	7 (87,5)	1 (12,5)	0 (0,0)	
	N/I	9				
Episódios Depressivos	Não	29	26 (89,7)	3 (10,3)	0 (0,0)	0,451
	Sim	65	51 (78,5)	14 (21,5)	0 (0,0)	
	N/I	10				
Episódios Psicóticos	Não	89	72 (80,9)	17 (19,1)	0 (0,0)	0,180
	Sim	5	5 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
	N/I	10				
Primeiro Episódio	Mania	45	34 (75,6)	11 (24,4)	0 (0,0)	0,300
	Depressão	50	44 (88,0)	6 (12,0)	0 (0,0)	
	N/I	9				
Delírios e Alucinações	Não	67	53 (79,1)	14 (20,9)	0 (0,0)	0,703
	Sim	29	25 (86,2)	4 (13,8)	0 (0,0)	
	N/I	8				
Tentativa de Suicídio	Não	60	48 (80,0)	12 (20,0)	0 (0,0)	0,840
	Sim	33	28 (84,8)	5 (15,2)	0 (0,0)	
	N/I	11				

Tabela 4.5: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene *IL-6* – rs1800795 e rs1800797

Variáveis Clínicas		Casos	<i>IL-6</i> - rs1800795				Casos	<i>IL-6</i> - rs1800797			
			CC	CG	GG	p		AA	AG	GG	p
		104	n (%)				104	n (%)			
SEXO	Masc	27	2 (7,4)	14 (51,9)	11 (40,7)	0,190	27	2 (7,4)	13 (48,1)	12 (44,4)	0,402
	Fem	77	6 (7,8)	25 (32,5)	46 (59,7)		77	6 (7,8)	26 (33,8)	45 (58,4)	
Histórico Familiar	Não	36	3 (8,3)	15 (41,7)	18 (50,0)	0,552	36	3 (8,3)	15 (41,7)	18 (50,0)	0,552
	Sim	57	4 (7,0)	18 (31,6)	35 (61,4)		57	4 (7,0)	18 (31,6)	35 (61,4)	
	N/I	11					11				
Tipo	Tipo 1	87	8 (9,2)	31 (35,6)	48 (55,2)	0,745	87	8 (9,2)	30 (34,5)	49 (56,3)	0,361
	Tipo 2	8	0 (0,0)	4 (50,0)	4 (50,0)		8	0 (0,0)	5 (62,5)	3 (37,5)	
	N/I	9					9				
Episódios Depressivos	Não	29	4 (13,8)	13 (44,8)	12 (41,4)	0,230	29	4 (13,8)	13 (44,8)	12 (41,4)	0,230
	Sim	65	4 (6,2)	23 (35,4)	38 (58,5)		65	4 (6,2)	23 (35,4)	38 (58,5)	
	N/I	10					10				
Episódios Psicóticos	Não	89	6 (6,7)	34 (38,2)	49 (55,1)	0,034	89	6 (6,7)	34 (38,2)	49 (55,1)	0,034
	Sim	5	2 (40,0)	1 (20,0)	2 (40,0)		5	2 (40,0)	1 (20,0)	2 (40,0)	
	N/I	10					10				
Primeiro Episódio	Mania	45	4 (8,9)	21 (46,7)	20 (44,4)	0,141	46	4 (8,7)	20 (43,5)	22 (47,8)	0,400
	Depressão	50	4 (8,0)	14 (28,0)	32 (64,0)		49	4 (8,2)	15 (30,6)	30 (61,2)	
	N/I	9					9				
Delírios e Alucinações	Não	66	6 (9,1)	24 (36,4)	36 (54,5)	0,940	66	6 (9,1)	26 (39,4)	34 (51,5)	0,635
	Sim	29	2 (6,9)	11 (37,9)	16 (55,2)		29	2 (6,9)	9 (31,0)	18 (62,1)	
	N/I	9					9				
Tentativa de Suicídio	Não	60	5 (8,3)	25 (41,7)	30 (50,0)	0,551	60	5 (8,3)	25 (41,7)	30 (50,0)	0,551
	Sim	33	3 (9,1)	10 (30,3)	20 (60,6)		33	3 (9,1)	10 (30,3)	20 (60,6)	
	N/I	11					11				

Tabela 4.7: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene *IL-10* rs1800872 (T>G)

Variáveis Clínicas		Casos	<i>IL-10</i> - rs1800872			
			TT	TG	GG	p
		104	n (%)			
SEXO	Masc	27	2 (7,4)	15 (55,6)	10 (37,0)	0,960
	Fem	77	7 (9,1)	43 (55,8)	27 (35,1)	
Histórico Familiar	Não	36	4 (11,1)	18 (50,0)	14 (38,9)	0,740
	Sim	57	4 (7,0)	32 (56,1)	21 (36,8)	
	N/I	11				
Tipo	Tipo 1	87	8 (9,2)	50 (57,5)	29 (33,3)	0,200
	Tipo 2	8	1 (12,5)	2 (25,0)	5 (62,5)	
	N/I	9				
Episódios Depressivos	Não	29	1 (3,4)	22 (75,9)	6 (20,7)	0,026
	Sim	65	8 (12,3)	30 (46,2)	27 (41,5)	
	N/I	10				
Episódios Psicóticos	Não	89	9,5 (10,5)	47,5 (52,5)	33,5 (37,0)	0,710
	Sim	5	0,5 (7,1)	4,5 (69,2)	1,5 (23,1)	
	N/I	10				
Primeiro Episódio	Mania	45	2 (4,4)	31 (68,9)	12 (26,7)	0,067
	Depressão	50	7 (14,0)	21 (42,0)	22 (44,0)	
	N/I	9				
Delírios e Alucinações	Não	66	6 (9,1)	36 (54,5)	24 (36,4)	0,962
	Sim	29	3 (10,3)	15 (51,7)	11 (37,9)	
	N/I	9				
Tentativa de Suicídio	Não	60	7 (11,7)	32 (53,3)	21 (35,0)	0,667
	Sim	33	2 (6,1)	18 (54,5)	13 (39,4)	
	N/I	11				

Tabela 4.8: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene *CACNA1C* rs1006737 (A>G)

Variáveis Clínicas		Casos	<i>CACNA1C</i> - rs1006737			
			AA	AG	GG	p
		104	n (%)			
SEXO	Masc	27	5 (18,5)	14 (51,9)	8 (29,6)	0,620
	Fem	77	12 (15,6)	34 (44,2)	31 (40,3)	
Histórico Familiar	Não	36	3 (8,3)	17 (47,2)	16 (44,4)	0,400
	Sim	57	10 (17,5)	27 (47,4)	20 (35,1)	
	N/I	11				
Tipo	Tipo 1	87	9 (10,3)	45 (51,7)	33 (37,9)	0,032
	Tipo 2	8	3 (37,5)	1 (12,5)	4 (50,0)	
	N/I	9				
Episódios Depressivos	Não	29	2 (6,9)	12 (41,4)	15 (51,7)	0,230
	Sim	65	9 (13,8)	34 (52,3)	22 (33,8)	
	N/I	10				
Episódios Psicóticos	Não	89	11 (12,4)	42 (47,2)	36 (40,4)	0,643
	Sim	5	1 (20,0)	3 (60,0)	1 (20,0)	
	N/I	10				
Primeiro Episódio	Mania	45	7 (15,6)	22 (48,9)	16 (35,6)	0,660
	Depressão	50	5 (10,0)	24 (48,0)	21 (42,02)	
	N/I	9				
Delírios e Alucinações	Não	66	7 (10,6)	30 (45,5)	29 (43,9)	0,430
	Sim	29	5 (17,2)	15 (51,7)	9 (31,0)	
	N/I	9				
Tentativa de Suicídio	Não	60	7 (11,7)	26 (43,3)	27 (45,0)	0,382
	Sim	33	5 (15,2)	18 (54,5)	10 (30,3)	
	N/I	11				

Tabela 4.9: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene *BDNF* rs4074134 (C>T)

Variáveis Clínicas		Casos	<i>BDNF</i> - rs4074134			
			CC	CT	TT	p
		104	n (%)			
SEXO	Masc	27	20 (74,1)	7 (25,9)	0 (0,0)	0,646
	Fem	77	51 (66,2)	22 (28,6)	4 (5,2)	
Histórico Familiar	Não	36	25 (69,4)	10 (27,8)	1 (2,8)	0,844
	Sim	57	39 (68,4)	15 (26,3)	3 (5,3)	
	N/I	11				
Tipo	Tipo 1	87	61 (70,1)	22 (25,3)	4 (4,6)	0,744
	Tipo 2	8	5 (62,5)	3 (37,5)	0 (0,0)	
	N/I	9				
Episódios Depressivos	Não	29	23 (79,3)	5 (17,2)	1 (3,4)	0,430
	Sim	65	43 (66,2)	19 (29,2)	3 (4,6)	
	N/I	10				
Episódios Psicóticos	Não	89	62 (69,7)	23 (25,8)	4 (4,5)	0,724
	Sim	5	3 (60,0)	2 (40,0)	0 (0,0)	
	N/I	10				
Primeiro Episódio	Mania	45	31 (68,9)	12 (26,7)	2 (4,4)	1,000
	Depressão	50	35 (70,0)	13 (26,0)	2 (4,0)	
	N/I	9				
Delírios e Alucinações	Não	66	46 (69,7)	17 (25,8)	3 (4,5)	1,000
	Sim	29	20 (69,0)	8 (27,6)	1 (3,4)	
	N/I	9				
Tentativa de Suicídio	Não	60	41 (68,3)	16 (26,7)	3 (5,0)	0,904
	Sim	33	23 (69,7)	9 (27,3)	1 (3,0)	
	N/I	11				

Tabela 4.10: Análise das características clínicas manifestadas pelos casos, em comparação com os genótipos para o gene *SERP1* rs28929474 e rs17580

Variáveis Clínicas		Casos	<i>SERP1</i> - rs28929474				Casos	<i>SERP1</i> - rs17580			
			GG	GA	AA	p		TT	TA	AA	p
		104	n (%)				104	n (%)			
SEXO	Masc	27	27 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,800	27	22 (81,5)	5 (18,5)	0 (0,0)	0,800
	Fem	77	75 (97,4)	2 (2,6)	0 (0,0)		77	65 (84,4)	12 (15,6)	0 (0,0)	
Histórico Familiar	Não	36	35 (97,2)	1 (2,8)	0 (0,0)	0,900	36	32 (88,9)	4 (11,1)	0 (0,0)	0,393
	Sim	57	56 (98,2)	1 (1,8)	0 (0,0)		57	44 (77,2)	13 (22,8)	0 (0,0)	
	N/I	11					11				
Tipo	Tipo 1	87	86 (98,9)	1 (1,1)	0 (0,0)	0,001	87	71 (81,6)	16 (18,4)	0 (0,0)	0,240
	Tipo 2	8	7 (87,5)	1 (12,5)	0 (0,0)		8	8 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
	N/I	9					9				
Episódios Depressivos	Não	29	28 (96,6)	1 (3,4)	0 (0,0)	0,720	29	26 (89,7)	3 (10,3)	0 (0,0)	0,535
	Sim	65	64 (98,5)	1 (1,5)	0 (0,0)		65	52 (80,0)	13 (20,0)	0 (0,0)	
	N/I	10					10				
Episódios Psicóticos	Não	89	87 (97,8)	2 (2,2)	0 (0,0)	0,170	89	75 (84,3)	14 (15,7)	0 (0,0)	0,067
	Sim	5	5 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)		5	3 (60,0)	2 (40,0)	0 (0,0)	
	N/I	10					10				
Primeiro Episódio	Mania	45	44 (97,8)	1 (2,2)	0 (0,0)	0,990	45	36 (80,0)	9 (20,0)	0 (0,0)	0,743
	Depressão	50	49 (98,0)	1 (2,0)	0 (0,0)		50	43 (86,0)	7 (14,0)	0 (0,0)	
	N/I	9					9				
Delírios e Alucinações	Não	66	65 (98,5)	1 (1,5)	0 (0,0)	0,710	66	57 (86,4)	9 (13,6)	0 (0,0)	0,398
	Sim	29	28 (96,6)	1 (3,4)	0 (0,0)		29	22 (75,9)	7 (24,1)	0 (0,0)	
	N/I	9					9				
Tentativa de Suicídio	Não	60	58 (96,7)	2 (3,3)	0 (0,0)	0,750	60	52 (86,7)	8 (13,3)	0 (0,0)	0,386
	Sim	33	33 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)		33	25 (75,8)	8 (24,2)	0 (0,0)	
	N/I	11					11				

5 DISCUSSÃO

5.1 *ODZ4* rs12576775 (A>G)

A variante intrônica presente neste gene foi identificada e associada pela primeira vez com o TB em um estudo “GWAS” realizado em 2011 (138). Entretanto, estão disponíveis na literatura diversos estudos com diferentes populações que corroboram a associação entre esta variante e o TB (74, 75, 139, 140). Um estudo realizado na Alemanha avaliou o impacto do alelo de risco (G) em exames de imagem na região da amígdala cerebral, que participa do controle das atividades emocionais (humor). Os autores observaram que o alelo G neste SNP influencia o processamento de recompensas na amígdala cerebral, aumentando a oxigenação desta região em casos com transtornos de humor (139). Este achado é importante devido ao fato de casos bipolares demonstrarem um déficit no processamento de recompensas e no controle da emoção (140). Outro estudo que corrobora este resultado foi realizado por Green *et al.* (2013) com casos e controles do Reino Unido. Os autores observaram a associação do alelo de risco com o aumento de risco de desenvolvimento do TB (75). Recentemente, mais um estudo também encontrou a associação do alelo de risco com o TB em uma população japonesa (74).

Entretanto, alguns estudos apresentam resultados divergentes daqueles descritos anteriormente, como é o caso de um estudo realizado com casos e controles com populações provenientes da Europa, Canadá e Austrália. Os autores sugeriram uma associação do alelo A (alelo selvagem) com o TB, não sendo este o alelo de risco (141). Além deste, um estudo norueguês não encontrou nenhuma associação que suporte a relação entre o SNP e o TB (142).

Em nosso estudo, não encontramos diferenças significantes nas distribuições genóticas entre casos e controles. Porém, observamos uma frequência maior do alelo de risco no grupo caso quando comparado com o grupo controle. Talvez o tamanho amostral limitado não tenha permitido alcançar um resultado estatisticamente significativo.

5.2 *NCAN* rs1064395 (G>A)

O SNP rs1064395 (G>A) está localizado na região 3' e foi associado ao TB em um estudo realizado na população europeia, onde foi observada uma frequência maior do alelo de risco (A) nos casos comparados com controles (68). Foi observado em um estudo realizado com casos de origem alemã, que os portadores do genótipo AA ou GA apresentavam uma alteração cortical, enquanto que os indivíduos GG não demonstraram nenhuma alteração (78).

Em nosso estudo foi observada uma frequência maior do alelo A em casos comparados aos controles. Esta diferença não possui valor estatístico significativo.

5.3 *FTO* rs9939609 (T>A)

Diaz-Anzaldúa *et al.* (2015) observaram a presença do alelo de risco (A), em um estudo realizado no México com uma frequência significativamente maior nos casos bipolares quando comparados aos controles (84). Entretanto, os autores consideraram a obesidade como um fator confundidor potencial que poderia estar influenciando os resultados observados. A prevalência da obesidade em casos com TB também tem influência farmacológica, visto que os medicamentos utilizados no tratamento podem elevar o risco de desenvolvimento da obesidade. Foi observado que entre 10% e 50% dos casos que utilizam antipsicóticos obtiveram um aumento de peso significativo ao longo dos anos (143, 144).

Entretanto, outros estudos possuem resultados em discordância com o apresentado acima, como é o caso de um estudo canadense realizado em 2012. Os autores identificaram que o alelo de risco para o TB está associado a um risco menor de desenvolver depressão, independente do IMC (83). Um estudo asiático com casos que possuíam depressão unipolar, não observou associação do alelo A do SNP rs9939609 (T>A) com a doença, indicando diferenças genéticas populacionais ou uma influência específica do *FTO* em casos de TB (145).

Nosso estudo não obteve resultado estatisticamente significativo quando comparamos as frequências genóticas entre casos e controles. Entretanto, ao analisar os genótipos com as características clínicas manifestadas pelos pacientes participantes deste estudo, observamos que a presença do alelo T aumenta 2,38 vezes o risco de recorrência familiar em casos com TB. Além disso, a presença do genótipo TT aumenta o risco em 4,23 vezes, quando

comparado aos casos que não apresentam recorrência familiar ($p=0,010$). Este resultado pode indicar que este SNP presente no gene *FTO* possua um efeito moderado na causa do TB quando há história familiar da doença. Este resultado difere dos observados na literatura e novos testes são necessários para avaliar a contribuição precisa deste gene na doença.

Também foi observado que ao comparar o SNP com o TB-2, obtivemos um resultado significativo ($p=0,006$), o que pode indicar que o mesmo pode estar influenciando na manifestação do tipo 2 da doença. Entretanto, devemos ter em mente que este resultado pode ter sido provocado pela pequena amostra da categoria TB do tipo 2. Novas análises precisam ser feitas no sentido de neutralizar o possível efeito que a presença de casos obesos pode ter em nossas observações. Foi observado resultado estatístico significativo na comparação do SNP com a ausência de episódios psicóticos ($p=0,040$)

5.4 *TNF-A* rs1800629 G>A

Um estudo realizado em 2001 associou uma alteração na resposta inflamatória com a esquizofrenia, através da detecção de níveis anormais de citocinas pró-inflamatórias no sangue periférico e líquido cefalorraquidiano de indivíduos afetados (95). Em 2016 foi identificada a associação das concentrações séricas de *TNF-A* com a conectividade estrutural na região límbica, que é associada ao TB (146). Estudos realizados em 2007 e em 2014 encontraram uma possível associação entre a expressão de genes com a função pró-inflamatória e sintomas de fase maníaca (98, 147).

O SNP rs1800629 G>A do gene *TNF-A* foi avaliado em estudos anteriores em doenças psiquiátricas como a Esquizofrenia e o TB, onde foi observado que na população polonesa, o alelo G e o genótipo GG foram mais frequentes em casos do que em controles (100). Porém, na Itália, um estudo com esquizofrênicos mostrou uma relação do alelo A com o risco de desenvolver a doença (95). Na população alemã não foi encontrada nenhuma possível associação deste SNP com desordens psiquiátricas (148).

Nosso estudo está em concordância com o resultado obtido na população polonesa, onde observamos que o alelo G é mais frequente em casos do que em controles, sugerindo que este polimorfismo possa influenciar no desenvolvimento do TB. Porém, a diferença nas frequências foi pequena, não tendo sido alcançado um resultado estatisticamente significativo.

5.5 *IL-6*

Em 2012, foi realizado um estudo de associação do SNP rs1800795 (C>G) em casos com esquizofrenia e controles, e observaram que o alelo C era mais frequente em casos do que em controles. Os níveis plasmáticos de IL-6 nos casos chegavam a ser 50% maior do que em controles. Entretanto, casos e controles com genótipo GG apresentavam níveis maiores de IL-6 quando comparados com portadores do alelo C (149). Em 2014 foi avaliada a associação entre o SNP rs1800795 (C>G) e o volume do hipocampo de casos esquizofrênicos. Observaram que casos com o genótipo GG apresentavam redução do tamanho do hipocampo, fato que corrobora a hipótese de que o rs1800795 (C>G) pode influenciar na patogênese da esquizofrenia (150).

Em concordância com o estudo de 2014, nosso estudo também demonstrou uma frequência maior do genótipo GG em casos do que em controles, porém este resultado não foi estatisticamente significativo. Além disso, ao compararmos casos com a presença ou ausência de episódios psicóticos observamos uma associação estatisticamente significativa entre o genótipo GG e a ausência de episódios psicóticos ($p = 0,034$). Desta forma, é possível que o genótipo GG confira um fator de proteção contra a ocorrência de episódios psicóticos em casos com TB (OR: 0,131; IC 95% 0,022-0,783).

O SNP rs1800797 (A>G) contido no gene *IL-6* foi avaliado na população chinesa portadora de TB e comparada com grupo controle. Os autores observaram uma possível relação do genótipo GG com o risco de desenvolvimento da depressão, tendo resultado estatisticamente significativo ($p=0,01$) (109). Entretanto, outros estudos apresentam resultados divergentes, como é o caso do estudo realizado em 2010 em Taiwan com casos esquizofrênicos, onde não foi encontrada associação entre o rs1800797 (A>G) e a doença (151). Além deste, um estudo feito na população polonesa com casos de esquizofrenia e seus parentes também não encontrou associação entre a doença e este SNP (152).

Em nosso estudo, encontramos resultado em concordância com o estudo da população chinesa, visto que observamos uma maior frequência do genótipo GG em casos quando comparada com a frequência do genótipo GG nos controles. No entanto, nosso resultado não demonstrou valor estatisticamente significativo na comparação entre caso e controle. Mas, ao compararmos o genótipo GG com a presença ou ausência de episódios psicóticos, obtivemos um resultado estatisticamente significativo ($p= 0,034$; OR: 0,131; IC 95% 0,022-0,783).

5.6 *IL-10* rs1800872 (T>G)

Um estudo europeu identificou que concentrações séricas de IL-10, assim como as de TNF-A, estão associadas com a conectividade estrutural na região límbica (146). Um estudo mais recente, realizado na Polônia, não encontrou associação entre o polimorfismo rs1800872 (T>G) com a doença (153).

Em nosso estudo observamos que o genótipo TG é predominante no grupo controle. Porém, esta frequência não apresenta valor estatisticamente significativo. Entretanto, ao compararmos os genótipos com a presença/ausência de episódios depressivos, obtivemos resultado significativo ($p=0,026$), o que sugere que este SNP possua influência na predominância do estado depressivo.

5.7 *CACNA1C* rs1006737 A>G

Além da modulação do risco, o SNP rs1006737 (A>G) pode estar relacionado com particularidades clínicas da manifestação do TB. Indivíduos com o alelo A aparentam ter uma tendência a um comprometimento funcional nos domínios da função executiva e no processamento emocional de rostos (154). Alguns estudos apontam também para um comprometimento cognitivo em indivíduos homocigotos para o alelo A em relação a indivíduos heterocigotos (155). É interessante notar que estes efeitos alelo- específicos foram observados apenas em indivíduos afetados.

Esta hipótese ganha suporte da observação que, em tecidos *post mortem* provenientes do cérebro, observa-se a redução da expressão deste gene nos indivíduos com o alelo A. Entretanto, a redução é observada apenas na região do cerebelo, não sendo observada nas outras regiões do cérebro (156).

Em nosso estudo, observamos uma maior presença do alelo A em casos do que em controles, apresentando concordância com a literatura. Entretanto, não foram encontradas diferenças com valor estatístico significativo. Porém, ao compararmos o SNP com a manifestação do tipo 2 da doença, observamos que o resultado obtido apresentou valor estatístico significativo ($p=0,032$), sugerindo que a presença do genótipo AA pode influenciar na manifestação do TB tipo 2. Entretanto, devemos considerar que este resultado pode ter sido causado pelo pequeno tamanho amostral da categoria dos casos com TB do tipo 2.

5.8 *BDNF* rs4074134 (C>T)

Já foi descrita anteriormente a relação entre a diminuição dos níveis plasmáticos de *BDNF* e o TB durante episódios maníacos e depressivos (126, 157, 158). A diminuição do nível plasmático deste fator neurotrófico é um potencial biomarcador para o TB (159).

Estudos que sugerem uma possível associação do polimorfismo rs6265 (G>A) com o TB, onde foi observada em um estudo realizado com casos e controles norte-americanos uma possível associação do alelo A com o risco de TB e um papel mais significativo no início precoce desta desordem (160). Outro estudo norte-americano também encontrou uma forte evidência de que o alelo A está associado com disfunções cognitivas comumente encontradas em casos bipolares (127).

Nosso estudo é o primeiro a avaliar a correlação do SNP rs4074134 (C>T) presente no gene *BDNF* com o TB. Observamos uma frequência maior do alelo C em casos do que em controles. Entretanto, esta diferença não foi estatisticamente significativa.

5.9 *SERPINA1*

Este gene é frequentemente associado com doenças pulmonares (128). Entretanto, um estudo brasileiro sugeriu uma possível correlação deste gene com TB, visto que este gene está relacionado às funções da microglia (130).

Os SNPs rs28929474 (G>A) e rs17580 (T>A) do gene da *SERPINA1* são conhecidos por modular a função deste gene. Ambos possuem o alelo A como alelo de risco. Nosso estudo é o primeiro a investigar a correlação destes SNPs com o TB. Em nossos resultados, observamos que ambos os SNPs demonstraram uma frequência maior do alelo A no grupo caso quando comparado com o grupo controle, porém, estes resultados não apresentam diferença estatisticamente significativa. Entretanto, ao compararmos o rs28929474 (G>A) com o tipo de TB, observamos associação do genótipo GG com o tipo I da doença ($p=0,001$), sugerindo a influência deste SNP na manifestação deste tipo de TB. Entretanto, este resultado pode ter sido gerado pelo tamanho amostral.

6 CONCLUSÃO

Após a análise dos resultados obtidos ao longo deste estudo, podemos concluir que não foram encontradas diferenças significantes na distribuição das frequências genotípicas observadas entre o grupo caso e o grupo controle. Entretanto, as correlações entre *FTO* com histórico familiar, tipo de TB e ausência de episódios psicóticos, *IL-6* e episódios psicóticos (ambos os SNPs), *IL-10* e episódios depressivos, *CACNA1C* e tipo de TB, e *SERPINA 1* (rs28929474) e tipo de TB, demonstraram valores estatisticamente significantes. Com exceção do gene *FTO* e sua distribuição diferenciada entre indivíduos com recorrência familiar e casos esporádicos, acreditamos que os resultados observados possam ter sido gerados pelo tamanho amostral utilizado em algumas comparações entre as diferentes categorias. Além disso, acreditamos que o baixo número de comparações estatisticamente significantes entre casos e controles pode ser explicado pelo baixo efeito destas variantes no TB. O TB é uma desordem altamente complexa, modulada por múltiplas variantes de baixo efeito molecular e, por isso, é necessário um número substancialmente maior de casos e controles para a efetiva comparação dos diferentes grupos e categorias.

7 REFERÊNCIAS

1. Ferrari AJ, Stockings E, Khoo JP, Erskine HE, Degenhardt L, Vos T, et al. The prevalence and burden of bipolar disorder: findings from the Global Burden of Disease Study 2013. *Bipolar disorders*. 2016 Aug;18(5):440-50. PubMed PMID: 27566286.
2. Goodwin GM. Quetiapine more effective than placebo for depression in bipolar I and II disorder. *Evidence-based mental health*. 2007 Aug;10(3):82. PubMed PMID: 17652564.
3. Fountoulakis KN. The emerging modern face of mood disorders: a didactic editorial with a detailed presentation of data and definitions. *Annals of general psychiatry*. 2010;9(1):14.
4. Porto JAD, Del-Porto KO. História da caracterização nosológica do transtorno bipolar. *Archives of Clinical Psychiatry*. 2005.
5. Martin E. *Bipolar expeditions: Mania and depression in American culture*: Princeton University Press; 2009.
6. Angst J. Historical aspects of the dichotomy between manic-depressive disorders and schizophrenia. *Schizophrenia research*. 2002;57(1):5-13.
7. Marneros A. Origin and development of concepts of bipolar mixed states. *Journal of affective disorders*. 2001 Dec;67(1-3):229-40. PubMed PMID: 11869773.
8. Angst J. The course of affective disorders. *Psychopathology*. 1986;19(Suppl. 2):47-52.
9. Goodwin FK, Jamison KR. *Manic-depressive illness: bipolar disorders and recurrent depression*: Oxford University Press; 2007.
10. Baldessarini RJ. A plea for integrity of the bipolar disorder concept. *Bipolar disorders*. 2000 Mar;2(1):3-7. PubMed PMID: 11254017.
11. Akiskal HS, Pinto O. The evolving bipolar spectrum. Prototypes I, II, III, and IV. *The Psychiatric clinics of North America*. 1999 Sep;22(3):517-34, vii. PubMed PMID: 10550853.
12. Dunner DL, Fleiss JL, Fieve RR. The course of development of mania in patients with recurrent depression. *The American journal of psychiatry*. 1976.

13. APA APA-. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®): American Psychiatric Pub; 2013.
14. Anderson IM, Haddad PM, Scott J. Bipolar disorder. *Bmj*. 2012;345:e8508.
15. Stahl SM. Stahl's essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical applications: Cambridge university press; 2013.
16. Kerner B. Genetics of bipolar disorder. *The application of clinical genetics*. 2014;7:33-42. PubMed PMID: 24683306. Pubmed Central PMCID: 3966627.
17. Kember RL, Bucan M. Promising 2-Pronged Approach to Genetic Basis of Bipolar Disorder. *JAMA psychiatry*. 2016 Jun 01;73(6):553-4. PubMed PMID: 27119721.
18. Pompili M, Gonda X, Serafini G, Innamorati M, Sher L, Amore M, et al. Epidemiology of suicide in bipolar disorders: a systematic review of the literature. *Bipolar disorders*. 2013 Aug;15(5):457-90. PubMed PMID: 23755739.
19. Souza FGdM. Tratamento do transtorno bipolar: eutimia. *Rev psiquiatr clín(São Paulo)*. 2005;32(SUPL. 1):63-70.
20. Loschiavo-Alvares FQ, Sediyaama CYN, Vasconcelos AG, Neves F, Correa H, Malloy-Diniz LF, et al. Clinical application of DEX-R for patients with bipolar disorder type I and II. *Clinical Neuropsychiatry*. 2013;10(2):86-95.
21. Lee RS, Hermens DF, Scott J, Redoblado-Hodge MA, Naismith SL, Lagopoulos J, et al. A meta-analysis of neuropsychological functioning in first-episode bipolar disorders. *Journal of psychiatric research*. 2014 Oct;57:1-11. PubMed PMID: 25016347.
22. Glahn DC, Almasy L, Barguil M, Hare E, Peralta JM, Kent JW, Jr., et al. Neurocognitive endophenotypes for bipolar disorder identified in multiplex multigenerational families. *Archives of general psychiatry*. 2010 Feb;67(2):168-77. PubMed PMID: 20124116. Pubmed Central PMCID: 3401550.
23. Gottesman, II, Gould TD. The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *The American journal of psychiatry*. 2003 Apr;160(4):636-45. PubMed PMID: 12668349.

24. Sweeney JA, Kmiec JA, Kupfer DJ. Neuropsychologic impairments in bipolar and unipolar mood disorders on the CANTAB neurocognitive battery. *Biological psychiatry*. 2000 Oct 1;48(7):674-84. PubMed PMID: 11032979.
25. Kieseppa T, Tuulio-Henriksson A, Haukka J, Van Erp T, Glahn D, Cannon TD, et al. Memory and verbal learning functions in twins with bipolar-I disorder, and the role of information-processing speed. *Psychological medicine*. 2005 Feb;35(2):205-15. PubMed PMID: 15841678.
26. Keri S, Kelemen O, Benedek G, Janka Z. Different trait markers for schizophrenia and bipolar disorder: a neurocognitive approach. *Psychological medicine*. 2001 Jul;31(5):915-22. PubMed PMID: 11459389.
27. Leboyer M, Kupfer DJ. Bipolar disorder: new perspectives in health care and prevention. *The Journal of clinical psychiatry*. 2010 Dec;71(12):1689-95. PubMed PMID: 21190640. Pubmed Central PMCID: 3317891.
28. Centorrino F, Mark TL, Talamo A, Oh K, Chang J. Health and economic burden of metabolic comorbidity among individuals with bipolar disorder. *Journal of clinical psychopharmacology*. 2009 Dec;29(6):595-600. PubMed PMID: 19910727.
29. Perron BE, Howard MO, Nienhuis JK, Bauer MS, Woodward AT, Kilbourne AM. Prevalence and burden of general medical conditions among adults with bipolar I disorder: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *The Journal of clinical psychiatry*. 2009 Oct;70(10):1407-15. PubMed PMID: 19906344.
30. Chang HH, Chou CH, Chen PS, Gean PW, Huang HC, Lin CY, et al. High prevalence of metabolic disturbances in patients with bipolar disorder in Taiwan. *Journal of affective disorders*. 2009 Sep;117(1-2):124-9. PubMed PMID: 19193445.
31. Fagiolini A, Frank E, Scott JA, Turkin S, Kupfer DJ. Metabolic syndrome in bipolar disorder: findings from the Bipolar Disorder Center for Pennsylvanians. *Bipolar disorders*. 2005 Oct;7(5):424-30. PubMed PMID: 16176435.

32. McIntyre RS. Understanding needs, interactions, treatment, and expectations among individuals affected by bipolar disorder or schizophrenia: the UNITE global survey. *The Journal of clinical psychiatry*. 2009;70 Suppl 3:5-11. PubMed PMID: 19570496.
33. Bonsall MB, Wallace-Hadrill SM, Geddes JR, Goodwin GM, Holmes EA. Nonlinear time-series approaches in characterizing mood stability and mood instability in bipolar disorder. *Proceedings Biological sciences*. 2012 Mar 07;279(1730):916-24. PubMed PMID: 21849316. Pubmed Central PMCID: 3259919.
34. Judd LL, Akiskal HS, Schettler PJ, Endicott J, Leon AC, Solomon DA, et al. Psychosocial disability in the course of bipolar I and II disorders: a prospective, comparative, longitudinal study. *Archives of general psychiatry*. 2005;62(12):1322-30.
35. Merikangas KR, Cui L, Heaton L, Nakamura E, Roca C, Ding J, et al. Independence of familial transmission of mania and depression: results of the NIMH family study of affective spectrum disorders. *Molecular psychiatry*. 2014 Feb;19(2):214-9. PubMed PMID: 24126930.
36. Vandeleur CL, Merikangas KR, Strippoli MP, Castelao E, Preisig M. Specificity of psychosis, mania and major depression in a contemporary family study. *Molecular psychiatry*. 2014 Feb;19(2):209-13. PubMed PMID: 24126925.
37. Corry J, Green M, Roberts G, Frankland A, Wright A, Lau P, et al. Anxiety, stress and perfectionism in bipolar disorder. *Journal of affective disorders*. 2013 Dec;151(3):1016-24. PubMed PMID: 24064398.
38. Di Florio A, Craddock N, van den Bree M. Alcohol misuse in bipolar disorder. A systematic review and meta-analysis of comorbidity rates. *European psychiatry : the journal of the Association of European Psychiatrists*. 2014 Mar;29(3):117-24. PubMed PMID: 24075633.
39. Emmerik-van Oortmerssen K, Glind G, Koeter MW, Allsop S, Auriacombe M, Barta C, et al. Psychiatric comorbidity in treatment-seeking substance use disorder patients with and without attention deficit hyperactivity disorder: results of the IASP study. *Addiction*. 2014;109(2):262-72.
40. Demyttenaere K, Bruffaerts R, Posada-Villa J, Gasquet I, Kovess V, Lepine JP, et al. Prevalence, severity, and unmet need for treatment of mental disorders in the World Health

- Organization World Mental Health Surveys. *Jama*. 2004 Jun 2;291(21):2581-90. PubMed PMID: 15173149.
41. Organization WH. WHO Health Topics 2014 [acessado em 2017 01 de Dezembro]. Disponível em: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/noncommunicable-diseases/mental-health/data-and-statistics>.
42. Mathers C. The global burden of disease: 2004 update: World Health Organization; 2008.
43. Alonso J, Petukhova M, Vilagut G, Chatterji S, Heeringa S, Ustun TB, et al. Days out of role due to common physical and mental conditions: results from the WHO World Mental Health surveys. *Molecular psychiatry*. 2011 Dec;16(12):1234-46. PubMed PMID: 20938433. Pubmed Central PMCID: 3223313.
44. Larsson S, Lorentzen S, Mork E, Barrett EA, Steen NE, Lagerberg TV, et al. Age at onset of bipolar disorder in a Norwegian catchment area sample. *Journal of affective disorders*. 2010;124(1):174-7.
45. Baldessarini RJ, Bolzani L, Cruz N, Jones PB, Lai M, Lepri B, et al. Onset-age of bipolar disorders at six international sites. *Journal of affective disorders*. 2010 Feb;121(1-2):143-6. PubMed PMID: 19560827.
46. Lopez AD, Murray CC. The global burden of disease, 1990-2020. *Nature medicine*. 1998 Nov;4(11):1241-3. PubMed PMID: 9809543.
47. Health NIoM. Bipolar Disorder Among Adults 2011 [acessado em 2017 01 de Dezembro]. Disponível em: <https://www.nimh.nih.gov/health/statistics/prevalence/bipolar-disorder-among-adults.shtml>.
48. Lima MSd, Tassi J, Novo IP, Mari JdJ. Epidemiologia do transtorno bipolar. *Archives of Clinical Psychiatry*. 2005.
49. Murray CJ, Barber RM, Foreman KJ, Ozgoren AA, Abd-Allah F, Abera SF, et al. Global, regional, and national disability-adjusted life years (DALYs) for 306 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 188 countries, 1990–2013: quantifying the epidemiological transition. *The Lancet*. 2015;386(10009):2145-91.

50. Abubakar I, Tillmann T, Banerjee A. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2015;385(9963):117-71.
51. Vos T, Barber RM, Bell B, Bertozzi-Villa A, Biryukov S, Bolliger I, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*. 2015;386(9995):743-800.
52. Merikangas KR, Jin R, He J-P, Kessler RC, Lee S, Sampson NA, et al. Prevalence and correlates of bipolar spectrum disorder in the world mental health survey initiative. *Archives of general psychiatry*. 2011;68(3):241-51.
53. Aas M, Etain B, Bellivier F, Henry C, Lagerberg T, Ringen A, et al. Additive effects of childhood abuse and cannabis abuse on clinical expressions of bipolar disorders. *Psychological medicine*. 2014 Jun;44(8):1653-62. PubMed PMID: 24028906.
54. Goodwin GM. Bipolar disorder. *Medicine*. 2012;40(11):596-8.
55. Rosenblat JD, Cha DS, Mansur RB, McIntyre RS. Inflamed moods: a review of the interactions between inflammation and mood disorders. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. 2014 Aug 04;53:23-34. PubMed PMID: 24468642.
56. McAfoose J, Baune BT. Evidence for a cytokine model of cognitive function. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 2009 Mar;33(3):355-66. PubMed PMID: 18996146.
57. Kraneveld AD, de Theije CG, van Heesch F, Borre Y, de Kivit S, Olivier B, et al. The neuro-immune axis: prospect for novel treatments for mental disorders. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2014 Jan;114(1):128-36. PubMed PMID: 24118847.
58. Schiepers OJ, Wichers MC, Maes M. Cytokines and major depression. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. 2005 Feb;29(2):201-17. PubMed PMID: 15694227.
59. Gosselin D, Rivest S. Role of IL-1 and TNF in the brain: twenty years of progress on a Dr. Jekyll/Mr. Hyde duality of the innate immune system. *Brain, behavior, and immunity*. 2007 Mar;21(3):281-9. PubMed PMID: 17275255.

60. Kronfol Z, Remick DG. Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *The American journal of psychiatry*. 2000 May;157(5):683-94. PubMed PMID: 10784457.
61. Munkholm K, Brauner JV, Kessing LV, Vinberg M. Cytokines in bipolar disorder vs. healthy control subjects: a systematic review and meta-analysis. *Journal of psychiatric research*. 2013 Sep;47(9):1119-33. PubMed PMID: 23768870.
62. Smith RS. A comprehensive macrophage-T-lymphocyte theory of schizophrenia. *Medical hypotheses*. 1992 Nov;39(3):248-57. PubMed PMID: 1361959.
63. Potash JB, DePaulo JR, Jr. Searching high and low: a review of the genetics of bipolar disorder. *Bipolar disorders*. 2000 Mar;2(1):8-26. PubMed PMID: 11254025.
64. Smoller JW, Finn CT. Family, twin, and adoption studies of bipolar disorder. *American journal of medical genetics Part C, Seminars in medical genetics*. 2003 Nov 15;123C(1):48-58. PubMed PMID: 14601036.
65. Craddock N, Sklar P. Genetics of bipolar disorder. *Lancet*. 2013 May 11;381(9878):1654-62. PubMed PMID: 23663951.
66. Shinozaki G, Potash JB. New developments in the genetics of bipolar disorder. *Current psychiatry reports*. 2014 Nov;16(11):493. PubMed PMID: 25194313.
67. Psychiatric GCBDWG. Large-scale genome-wide association analysis of bipolar disorder identifies a new susceptibility locus near ODZ4. *Nature genetics*. 2011 Sep 18;43(10):977-83. PubMed PMID: 21926972. Pubmed Central PMCID: 3637176.
68. Cichon S, Muhleisen TW, Degenhardt FA, Mattheisen M, Miro X, Strohmaier J, et al. Genome-wide association study identifies genetic variation in neurocan as a susceptibility factor for bipolar disorder. *American journal of human genetics*. 2011 Mar 11;88(3):372-81. PubMed PMID: 21353194. Pubmed Central PMCID: 3059436.
69. Amare AT, Schubert KO, Klingler-Hoffmann M, Cohen-Woods S, Baune BT. The genetic overlap between mood disorders and cardiometabolic diseases: a systematic review of genome wide and candidate gene studies. *Translational psychiatry*. 2017 Jan 24;7(1):e1007. PubMed PMID: 28117839. Pubmed Central PMCID: 5545727.

70. Young ID. Genes e Populações. In: S.A. EGK, editor. Genética Médica. Rio de Janeiro 2007. p. 120-1.
71. Ben-Zur T, Feige E, Motro B, Wides R. The mammalian Odz gene family: homologs of a *Drosophila* pair-rule gene with expression implying distinct yet overlapping developmental roles. *Developmental biology*. 2000 Jan 01;217(1):107-20. PubMed PMID: 10625539.
72. Suzuki N, Fukushi M, Kosaki K, Doyle AD, de Vega S, Yoshizaki K, et al. Teneurin-4 is a novel regulator of oligodendrocyte differentiation and myelination of small-diameter axons in the CNS. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2012 Aug 22;32(34):11586-99. PubMed PMID: 22915103. Pubmed Central PMCID: 3442259.
73. Hor H, Francescato L, Bartesaghi L, Ortega-Cubero S, Kousi M, Lorenzo-Betancor O, et al. Missense mutations in TENM4, a regulator of axon guidance and central myelination, cause essential tremor. *Human molecular genetics*. 2015 Oct 15;24(20):5677-86. PubMed PMID: 26188006. Pubmed Central PMCID: 4692992.
74. Ikeda M, Takahashi A, Kamatani Y, Okahisa Y, Kunugi H, Mori N, et al. A genome-wide association study identifies two novel susceptibility loci and trans population polygenicity associated with bipolar disorder. *Molecular psychiatry*. 2017 Jan 24. PubMed PMID: 28115744.
75. Green EK, Hamshere M, Forty L, Gordon-Smith K, Fraser C, Russell E, et al. Replication of bipolar disorder susceptibility alleles and identification of two novel genome-wide significant associations in a new bipolar disorder case-control sample. *Molecular psychiatry*. 2013 Dec;18(12):1302-7. PubMed PMID: 23070075. Pubmed Central PMCID: 3971368.
76. Zhou XH, Brakebusch C, Matthies H, Oohashi T, Hirsch E, Moser M, et al. Neurocan is dispensable for brain development. *Molecular and cellular biology*. 2001 Sep;21(17):5970-8. PubMed PMID: 11486035. Pubmed Central PMCID: 87315.
77. Frey BN, Andreatza AC, Nery FG, Martins MR, Quevedo J, Soares JC, et al. The role of hippocampus in the pathophysiology of bipolar disorder. *Behavioural pharmacology*. 2007 Sep;18(5-6):419-30. PubMed PMID: 17762510.

78. Schultz CC, Muhleisen TW, Nenadic I, Koch K, Wagner G, Schachtzabel C, et al. Common variation in NCAN, a risk factor for bipolar disorder and schizophrenia, influences local cortical folding in schizophrenia. *Psychological medicine*. 2014 Mar;44(4):811-20. PubMed PMID: 23795679.
79. Dina C, Meyre D, Gallina S, Durand E, Korner A, Jacobson P, et al. Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nature genetics*. 2007 Jun;39(6):724-6. PubMed PMID: 17496892.
80. Berulava T, Ziehe M, Klein-Hitpass L, Mladenov E, Thomale J, Ruther U, et al. FTO levels affect RNA modification and the transcriptome. *European journal of human genetics : EJHG*. 2013 Mar;21(3):317-23. PubMed PMID: 22872099. Pubmed Central PMCID: 3573201.
81. Hess ME, Hess S, Meyer KD, Verhagen LA, Koch L, Bronneke HS, et al. The fat mass and obesity associated gene (Fto) regulates activity of the dopaminergic midbrain circuitry. *Nature neuroscience*. 2013 Aug;16(8):1042-8. PubMed PMID: 23817550.
82. Rivera M, Cohen-Woods S, Kapur K, Breen G, Ng MY, Butler AW, et al. Depressive disorder moderates the effect of the FTO gene on body mass index. *Molecular psychiatry*. 2012 Jun;17(6):604-11. PubMed PMID: 21502950.
83. Samaan Z, Anand SS, Zhang X, Desai D, Rivera M, Pare G, et al. The protective effect of the obesity-associated rs9939609 A variant in fat mass- and obesity-associated gene on depression. *Molecular psychiatry*. 2013 Dec;18(12):1281-6. PubMed PMID: 23164817.
84. Diaz-Anzaldúa A, Ocampo-Mendoza Y, Hernandez-Lagunas JO, Diaz-Madrid FA, Romo-Nava F, Juarez-Garcia F, et al. Differences in body mass index according to fat mass- and obesity-associated (FTO) genotype in Mexican patients with bipolar disorder. *Bipolar disorders*. 2015 Sep;17(6):662-9. PubMed PMID: 26529281.
85. Zhou D, Liu H, Zhou M, Wang S, Zhang J, Liao L, et al. Common variant (rs9939609) in the FTO gene is associated with metabolic syndrome. *Molecular biology reports*. 2012 Jun;39(6):6555-61. PubMed PMID: 22311015.

86. Benedict C, Jacobsson JA, Ronnema E, Sallman-Almen M, Brooks S, Schultes B, et al. The fat mass and obesity gene is linked to reduced verbal fluency in overweight and obese elderly men. *Neurobiology of aging*. 2011 Jun;32(6):1159 e1-5. PubMed PMID: 21458110.
87. Ho AJ, Stein JL, Hua X, Lee S, Hibar DP, Leow AD, et al. A commonly carried allele of the obesity-related FTO gene is associated with reduced brain volume in the healthy elderly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010 May 4;107(18):8404-9. PubMed PMID: 20404173. Pubmed Central PMCID: 2889537.
88. Boissel S, Reish O, Proulx K, Kawagoe-Takaki H, Sedgwick B, Yeo GS, et al. Loss-of-function mutation in the dioxygenase-encoding FTO gene causes severe growth retardation and multiple malformations. *American journal of human genetics*. 2009 Jul;85(1):106-11. PubMed PMID: 19559399. Pubmed Central PMCID: 2706958.
89. Daoud H, Zhang D, McMurray F, Yu A, Luco SM, Vanstone J, et al. Identification of a pathogenic FTO mutation by next-generation sequencing in a newborn with growth retardation and developmental delay. *Journal of medical genetics*. 2015:jmedgenet-2015-103399.
90. Munoz-Fernandez MA, Fresno M. The role of tumour necrosis factor, interleukin 6, interferon-gamma and inducible nitric oxide synthase in the development and pathology of the nervous system. *Progress in neurobiology*. 1998 Oct;56(3):307-40. PubMed PMID: 9770242.
91. Tecchio C, Micheletti A, Cassatella MA. Neutrophil-derived cytokines: facts beyond expression. *Frontiers in immunology*. 2014;5:508. PubMed PMID: 25374568. Pubmed Central PMCID: 4204637.
92. Bernardino L, Agasse F, Silva B, Ferreira R, Grade S, Malva JO. Tumor necrosis factor-alpha modulates survival, proliferation, and neuronal differentiation in neonatal subventricular zone cell cultures. *Stem cells*. 2008 Sep;26(9):2361-71. PubMed PMID: 18583543.
93. McCoy MK, Tansey MG. TNF signaling inhibition in the CNS: implications for normal brain function and neurodegenerative disease. *Journal of neuroinflammation*. 2008 Oct 17;5:45. PubMed PMID: 18925972. Pubmed Central PMCID: 2577641.

94. Clark IA, Vissel B. A Neurologist's Guide to TNF Biology and to the Principles behind the Therapeutic Removal of Excess TNF in Disease. *Neural plasticity*. 2015;2015:358263. PubMed PMID: 26221543. Pubmed Central PMCID: 4510439.
95. Boin F, Zanardini R, Pioli R, Altamura CA, Maes M, Gennarelli M. Association between -G308A tumor necrosis factor alpha gene polymorphism and schizophrenia. *Molecular psychiatry*. 2001 Jan;6(1):79-82. PubMed PMID: 11244489.
96. Hoseth EZ, Ueland T, Dieset I, Birnbaum R, Shin JH, Kleinman JE, et al. A Study of TNF Pathway Activation in Schizophrenia and Bipolar Disorder in Plasma and Brain Tissue. *Schizophrenia bulletin*. 2017 Jul 1;43(4):881-90. PubMed PMID: 28049760. Pubmed Central PMCID: 5515106.
97. Dean B, Gibbons AS, Tawadros N, Brooks L, Everall IP, Scarr E. Different changes in cortical tumor necrosis factor-alpha-related pathways in schizophrenia and mood disorders. *Molecular psychiatry*. 2013 Jul;18(7):767-73. PubMed PMID: 22801413.
98. Kim YK, Jung HG, Myint AM, Kim H, Park SH. Imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in bipolar disorder. *Journal of affective disorders*. 2007 Dec;104(1-3):91-5. PubMed PMID: 17434599.
99. O'Brien SM, Scully P, Scott LV, Dinan TG. Cytokine profiles in bipolar affective disorder: focus on acutely ill patients. *Journal of affective disorders*. 2006 Feb;90(2-3):263-7. PubMed PMID: 16410025.
100. Czerski PM, Rybakowski F, Kapelski P, Rybakowski JK, Dmitrzak-Weglarz M, Leszczynska-Rodziewicz A, et al. Association of tumor necrosis factor -308G/A promoter polymorphism with schizophrenia and bipolar affective disorder in a Polish population. *Neuropsychobiology*. 2008;57(1-2):88-94. PubMed PMID: 18515978.
101. Akira S, Taga T, Kishimoto T. Interleukin-6 in biology and medicine. *Advances in immunology*. 1993;54:1-78. PubMed PMID: 8379461.
102. Potvin S, Stip E, Sepehry AA, Gendron A, Bah R, Kouassi E. Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biological psychiatry*. 2008 Apr 15;63(8):801-8. PubMed PMID: 18005941.

103. Rothermundt M, Arolt V, Bayer TA. Review of immunological and immunopathological findings in schizophrenia. *Brain, behavior, and immunity*. 2001 Dec;15(4):319-39. PubMed PMID: 11782102.
104. Eskes C, Honegger P, Juillerat-Jeanneret L, Monnet-Tschudi F. Microglial reaction induced by noncytotoxic methylmercury treatment leads to neuroprotection via interactions with astrocytes and IL-6 release. *Glia*. 2002 Jan;37(1):43-52. PubMed PMID: 11746782.
105. Ibanez A, Riveros R, Aravena P, Vergara V, Cardona JF, Garcia L, et al. When context is difficult to integrate: cortical measures of congruency in schizophrenics and healthy relatives from multiplex families. *Schizophrenia research*. 2011 Mar;126(1-3):303-5. PubMed PMID: 20472401.
106. Marsland AL, Gianaros PJ, Abramowitch SM, Manuck SB, Hariri AR. Interleukin-6 covaries inversely with hippocampal grey matter volume in middle-aged adults. *Biological psychiatry*. 2008 Sep 15;64(6):484-90. PubMed PMID: 18514163. Pubmed Central PMCID: 2562462.
107. Pereira D, Garcia D, Narciso F, Santos M, Dias J, Queiroz B, et al. Effects of 174 G/C polymorphism in the promoter region of the interleukin-6 gene on plasma IL-6 levels and muscle strength in elderly women. *Brazilian journal of medical and biological research*. 2011;44(2):123-9.
108. Olivieri F, Bonafè M, Cavallone L, Giovagnetti S, Marchegiani F, Cardelli M, et al. The 174 C/G locus affects in vitro/in vivo IL-6 production during aging. *Experimental gerontology*. 2002;37(2):309-14.
109. Zhang C, Wu Z, Zhao G, Wang F, Fang Y. Identification of IL6 as a susceptibility gene for major depressive disorder. *Scientific reports*. 2016 Aug 09;6:31264. PubMed PMID: 27502736. Pubmed Central PMCID: 4977523.
110. Chabot S, Williams G, Hamilton M, Sutherland G, Yong VW. Mechanisms of IL-10 production in human microglia-T cell interaction. *Journal of immunology*. 1999 Jun 01;162(11):6819-28. PubMed PMID: 10352303.
111. Jun TY, Pae CU, Kim KS, Han H, Serretti A. Interleukin-10 gene promoter polymorphism is not associated with schizophrenia in the Korean population. *Psychiatry and clinical neurosciences*. 2003 Apr;57(2):153-9. PubMed PMID: 12667161.

112. de Witte L, Tomasik J, Schwarz E, Guest PC, Rahmoune H, Kahn RS, et al. Cytokine alterations in first-episode schizophrenia patients before and after antipsychotic treatment. *Schizophrenia research*. 2014 Apr;154(1-3):23-9. PubMed PMID: 24582037.
113. Xiu MH, Yang GG, Tan YL, Chen DC, Tan SP, Wang ZR, et al. Decreased interleukin-10 serum levels in first-episode drug-naive schizophrenia: relationship to psychopathology. *Schizophrenia research*. 2014 Jun;156(1):9-14. PubMed PMID: 24766914.
114. Kaminska T, Wysocka A, Marmurowska-Michalowska H, Dubas-Slemp H, Kandefer-Szerszen M. Investigation of serum cytokine levels and cytokine production in whole blood cultures of paranoid schizophrenic patients. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*. 2001;49(6):439-45. PubMed PMID: 11814238.
115. Mörmann M, Rieth H, Hua T, Assouh C, Roupelieva M, Hu S, et al. Mosaics of gene variations in the Interleukin-10 gene promoter affect interleukin-10 production depending on the stimulation used. *Genes and immunity*. 2004;5(4):246-55.
116. Eskdale J, Gallagher G, Verweij CL, Keijsers V, Westendorp RG, Huizinga TW. Interleukin 10 secretion in relation to human IL-10 locus haplotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95(16):9465-70.
117. Sklar P, Smoller JW, Fan J, Ferreira MA, Perlis RH, Chambert K, et al. Whole-genome association study of bipolar disorder. *Molecular psychiatry*. 2008 Jun;13(6):558-69. PubMed PMID: 18317468. Pubmed Central PMCID: 3777816.
118. Ferreira MA, O'Donovan MC, Meng YA, Jones IR, Ruderfer DM, Jones L, et al. Collaborative genome-wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder. *Nature genetics*. 2008 Sep;40(9):1056-8. PubMed PMID: 18711365. Pubmed Central PMCID: 2703780.
119. Moskvina V, Craddock N, Holmans P, Nikolov I, Pahwa JS, Green E, et al. Gene-wide analyses of genome-wide association data sets: evidence for multiple common risk alleles for schizophrenia and bipolar disorder and for overlap in genetic risk. *Molecular psychiatry*. 2009 Mar;14(3):252-60. PubMed PMID: 19065143. Pubmed Central PMCID: 3970088.

120. Splawski I, Timothy KW, Sharpe LM, Decher N, Kumar P, Bloise R, et al. Ca v 1.2 calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism. *Cell*. 2004;119(1):19-31.
121. Jakobsson J, Palsson E, Sellgren C, Rydberg F, Ekman A, Zetterberg H, et al. CACNA1C polymorphism and altered phosphorylation of tau in bipolar disorder. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*. 2016 Feb;208(2):195-6. PubMed PMID: 26541689.
122. Zigova T, Pencea V, Wiegand SJ, Luskin MB. Intraventricular administration of BDNF increases the number of newly generated neurons in the adult olfactory bulb. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 1998;11(4):234-45.
123. Pezawas L, Verchinski BA, Mattay VS, Callicott JH, Kolachana BS, Straub RE, et al. The brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and variation in human cortical morphology. *Journal of Neuroscience*. 2004;24(45):10099-102.
124. Pang PT, Lu B. Regulation of late-phase LTP and long-term memory in normal and aging hippocampus: role of secreted proteins tPA and BDNF. *Ageing research reviews*. 2004;3(4):407-30.
125. Post RM. Role of BDNF in bipolar and unipolar disorder: clinical and theoretical implications. *Journal of psychiatric research*. 2007 Dec;41(12):979-90. PubMed PMID: 17239400.
126. Cunha AB, Frey BN, Andreazza AC, Goi JD, Rosa AR, Goncalves CA, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes. *Neuroscience letters*. 2006 May 8;398(3):215-9. PubMed PMID: 16480819.
127. Cao B, Bauer IE, Sharma AN, Mwangi B, Frazier T, Lavagnino L, et al. Reduced hippocampus volume and memory performance in bipolar disorder patients carrying the BDNF val66met met allele. *Journal of affective disorders*. 2016 Jul 01;198:198-205. PubMed PMID: 27018938. Pubmed Central PMCID: 5214589.
128. Hidvegi T, Ewing M, Hale P, Dippold C, Beckett C, Kemp C, et al. An autophagy-enhancing drug promotes degradation of mutant α 1-antitrypsin Z and reduces hepatic fibrosis. *Science*. 2010;329(5988):229-32.

129. Cox D. Alpha-1-antitrypsin deficiency: in Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds): The metabolic and molecular bases of inherited disease. New York, McGraw-Hill, vol3, pp4125-4158; 1995.
130. de Baumont A, Maschietto M, Lima L, Carraro DM, Olivieri EH, Fiorini A, et al. Innate immune response is differentially dysregulated between bipolar disease and schizophrenia. *Schizophrenia research*. 2015 Feb;161(2-3):215-21. PubMed PMID: 25487697.
131. Post RM, Leverich GS, Kupka RW, Keck PE, Jr., McElroy SL, Altshuler LL, et al. Early-onset bipolar disorder and treatment delay are risk factors for poor outcome in adulthood. *The Journal of clinical psychiatry*. 2010 Jul;71(7):864-72. PubMed PMID: 20667291.
132. Castelo MS, Carvalho ER, Gerhard ES, Costa CM, Ferreira ED, Carvalho AF. Validity of the Mood Disorder Questionnaire in a Brazilian psychiatric population. *Revista brasileira de psiquiatria*. 2010 Dec;32(4):424-8. PubMed PMID: 21308264.
133. Aidar M, Line SR. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Brazilian dental journal*. 2007;18(2):148-52. PubMed PMID: 17982556.
134. Antonini SRC, Meneghin SP, Urashima AS. Técnicas básicas de biologia molecular. Araras: Centro de Ciências Agrárias/UFSC. 2004.
135. Hardy GH. Mendelian proportions in a mixed population. *Science*. 1908;28(706):49-50.
136. Weinberg W. Über den Nachweis der Vererbung beim Menschen 1908.
137. Pearson K. X. On the criterion that a given system of deviations from the probable in the case of a correlated system of variables is such that it can be reasonably supposed to have arisen from random sampling. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*. 1900;50(302):157-75.
138. Sklar P, Ripke S, Scott LJ, Andreassen OA, Cichon S, Craddock N, et al. Large-scale genome-wide association analysis of bipolar disorder identifies a new susceptibility locus near ODZ4. *Nature genetics*. 2011;43(10):977.

139. Heinrich A, Lourdasamy A, Tzschoppe J, Vollstadt-Klein S, Buhler M, Steiner S, et al. The risk variant in ODZ4 for bipolar disorder impacts on amygdala activation during reward processing. *Bipolar disorders*. 2013 Jun;15(4):440-5. PubMed PMID: 23611537.
140. Linke J, King AV, Rietschel M, Strohmaier J, Hennerici M, Gass A, et al. Increased medial orbitofrontal and amygdala activation: evidence for a systems-level endophenotype of bipolar I disorder. *The American journal of psychiatry*. 2012 Mar;169(3):316-25. PubMed PMID: 22267184.
141. Muhleisen TW, Leber M, Schulze TG, Strohmaier J, Degenhardt F, Treutlein J, et al. Genome-wide association study reveals two new risk loci for bipolar disorder. *Nature communications*. 2014 Mar 11;5:3339. PubMed PMID: 24618891.
142. Tesli M, Egeland R, Sonderby IE, Haukvik UK, Bettella F, Hibar DP, et al. No evidence for association between bipolar disorder risk gene variants and brain structural phenotypes. *Journal of affective disorders*. 2013 Oct;151(1):291-7. PubMed PMID: 23820096.
143. McIntyre RS, Danilewitz M, Liauw SS, Kemp DE, Nguyen HT, Kahn LS, et al. Bipolar disorder and metabolic syndrome: an international perspective. *Journal of affective disorders*. 2010 Nov;126(3):366-87. PubMed PMID: 20541810.
144. Gohlke JM, Dhurandhar EJ, Correll CU, Morrato EH, Newcomer JW, Remington G, et al. Recent advances in understanding and mitigating adipogenic and metabolic effects of antipsychotic drugs. *Frontiers in psychiatry*. 2012;3:62. PubMed PMID: 22754543. Pubmed Central PMCID: 3385013.
145. Yao Y, Wen Y, Du T, Sun N, Deng H, Ryan J, et al. Meta-analysis indicates that SNP rs9939609 within FTO is not associated with major depressive disorder (MDD) in Asian population. *Journal of affective disorders*. 2016 Mar 15;193:27-30. PubMed PMID: 26766031.
146. Benedetti F, Poletti S, Hoogenboezem TA, Mazza E, Ambree O, de Wit H, et al. Inflammatory cytokines influence measures of white matter integrity in Bipolar Disorder. *Journal of affective disorders*. 2016 Sep 15;202:1-9. PubMed PMID: 27253210.
147. Haarman BC, Riemersma-Van der Lek RF, Burger H, Netkova M, Drexhage RC, Bootsman F, et al. Relationship between clinical features and inflammation-related monocyte gene expression in

bipolar disorder - towards a better understanding of psychoimmunological interactions. *Bipolar disorders*. 2014 Mar;16(2):137-50. PubMed PMID: 24286609.

148. Riedel M, Kronig H, Schwarz MJ, Engel RR, Kuhn KU, Sikorski C, et al. No association between the G308A polymorphism of the tumor necrosis factor-alpha gene and schizophrenia. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*. 2002 Oct;252(5):232-4. PubMed PMID: 12451465.

149. Zakharyan R, Petrek M, Arakelyan A, Mrazek F, Atshemyan S, Boyajyan A. Interleukin-6 promoter polymorphism and plasma levels in patients with schizophrenia. *Tissue antigens*. 2012 Aug;80(2):136-42. PubMed PMID: 22571276.

150. Kalmady SV, Venkatasubramanian G, Shivakumar V, Gautham S, Subramaniam A, Jose DA, et al. Relationship between Interleukin-6 gene polymorphism and hippocampal volume in antipsychotic-naive schizophrenia: evidence for differential susceptibility? *PloS one*. 2014;9(5):e96021. PubMed PMID: 24787542. Pubmed Central PMCID: 4008499.

151. Liu YL, Liu CM, Fann CS, Yang WC, Chen YH, Tseng LJ, et al. Genetic variants of IL-6 and its receptor are not associated with schizophrenia in Taiwan. *Neuroscience letters*. 2010 Jan 14;468(3):330-3. PubMed PMID: 19914334.

152. Kapelski P, Skibinska M, Maciukiewicz M, Pawlak J, Permoda-Osip A, Twarowska-Hauser J. Family-based association study of interleukin 6 (IL6) and its receptor (IL6R) functional polymorphisms in schizophrenia in the Polish population. *Journal of neuroimmunology*. 2015 Aug 15;285:62-7. PubMed PMID: 26198920.

153. Kapelski P, Skibinska M, Maciukiewicz M, Pawlak J, Zaremba D, Twarowska-Hauser J. Family-based association study of interleukin 10 (IL10) and interleukin 10 receptor alpha (IL10RA) functional polymorphisms in schizophrenia in Polish population. *Journal of neuroimmunology*. 2016 Aug 15;297:92-7. PubMed PMID: 27397081.

154. Wang F, McIntosh AM, He Y, Gelernter J, Blumberg HP. The association of genetic variation in CACNA1C with structure and function of a frontotemporal system. *Bipolar disorders*. 2011;13(7-8):696-700.

155. Soeiro-de-Souza M, Bio D, Dias V, Vieta E, Machado-Vieira R, Moreno R. The CACNA1C risk allele selectively impacts on executive function in bipolar type I disorder. *Acta psychiatrica Scandinavica*. 2013;128(5):362-9.
156. Gershon ES, Grennan K, Busnello J, Badner JA, Ovsiew F, Memon S, et al. A rare mutation of CACNA1C in a patient with bipolar disorder, and decreased gene expression associated with a bipolar-associated common SNP of CACNA1C in brain. *Molecular psychiatry*. 2014;19(8):890-4.
157. Martinowich K, Manji H, Lu B. New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nature neuroscience*. 2007 Sep;10(9):1089-93. PubMed PMID: 17726474.
158. Machado-Vieira R, Dietrich MO, Leke R, Cereser VH, Zanatto V, Kapczinski F, et al. Decreased plasma brain derived neurotrophic factor levels in unmedicated bipolar patients during manic episode. *Biological psychiatry*. 2007 Jan 15;61(2):142-4. PubMed PMID: 16893527.
159. Fernandes BS, Molendijk ML, Kohler CA, Soares JC, Leite CM, Machado-Vieira R, et al. Peripheral brain-derived neurotrophic factor (BDNF) as a biomarker in bipolar disorder: a meta-analysis of 52 studies. *BMC medicine*. 2015 Nov 30;13:289. PubMed PMID: 26621529. Pubmed Central PMCID: 4666054.
160. Nassan M, Croarkin PE, Luby JL, Veldic M, Joshi PT, McElroy SL, et al. Association of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphism with early-onset bipolar disorder. *Bipolar disorders*. 2015;17(6):645-52.

8 APÊNDICES

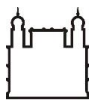
8.1 Questionário de Episódio Maníaco – Controles

1 – Alguma vez você já se sentiu fora do seu modo normal de ser e ...	S/N
... se sentia tão bem e “pra cima” que levou as pessoas a pensarem que você não estava em seu normal ou, então, isto lhe trouxe problemas?	
... ficava tão irritado(a) que gritava com as pessoas ou começava uma briga ou discussão sem motivo justificado?	
... sentia-se muito mais autoconfiante que o normal?	
... tinha muito menos sono que o normal e não sentia falta disso?	
... falava demais ou bem mais rápido que o normal?	
... seus pensamentos eram muito rápidos e você não conseguia mais pensar calmamente?	
... se distraía o tempo todo com as coisas ao redor e assim não conseguia concentrar-se, nem continuar no seu caminho (para casa, ou para o trabalho, ou para outro lugar)?	
... se sentia com mais energia que o normal?	
... era muito mais ativo(a) e fazia muito mais coisas do que normalmente faz?	
... era bem mais extrovertido(a) e procurava sempre os amigos, por exemplo, telefonando para eles no meio da noite?	
... era muito mais interessado(a) em sexo que normalmente?	
... fazia coisas que normalmente não faz e que as pessoas consideravam loucura, arriscadas ou desmesuradas?	
... gastava dinheiro sem controle trazendo problemas para você ou sua família?	

2 – Se você respondeu SIM a mais de uma das perguntas acima, responda agora se elas aconteceram no mesmo período de tempo.	
---	--

3 – Quais problemas essas situações causaram a você, como por exemplo, incapacitação para o trabalho, problemas familiares, financeiros ou legais, envolvimento em brigas ou discussões? Assinale apenas uma resposta.
<input type="checkbox"/> Nenhum problema
<input type="checkbox"/> Pequenos problemas
<input type="checkbox"/> Problemas médios
<input type="checkbox"/> Problemas sérios

8.2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Casos



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

TERMO DE CONSENTIMENTO

Título do Projeto: ESTUDO DAS BASES GENÉTICAS DO TRANSTORNO BIPOLAR

Instituição: Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

Pesquisador responsável: Mário Campos Junior, PhD.

NOME DO PARTICIPANTE: _____ DN: _____

REGISTRO: _____ PROCEDÊNCIA: _____

Você está sendo convidado a participar como voluntário do projeto de pesquisa “ESTUDO DAS BASES GENÉTICAS DO TRANSTORNO BIPOLAR”, realizado pelo Laboratório de Genética Humana do Instituto Oswaldo Cruz. Temos como objetivo pesquisar alterações no DNA que podem estar associadas à doença e utilizar estas informações para ajudar a entender melhor as bases genéticas das doenças mentais.

Os resultados dessa pesquisa poderão abrir novas perspectivas para a identificação de causas genéticas, recentemente identificadas, associadas com estas patologias e sua participação como voluntário servirá para que possamos comparar a incidência das alterações encontradas nos pacientes com a do grupo de pessoas normais, sem a doença. Nenhuma alteração com poder de diagnóstico de doenças ou de identificação humana será pesquisada.

Todas as condutas adotadas nesta pesquisa seguirão as normas de bioética descritas na resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. A participação dos controles neste projeto é voluntária e, a qualquer momento, você poderá recusar-se a participar ou retirar o seu consentimento, sem que haja penalização ou prejuízo.

Os exames para pesquisa de variações genéticas serão gratuitos e serão realizados a partir de uma única amostra de 5 mL de sangue coletada com material descartável. Embora esta coleta não apresente riscos, eventualmente, poderão ocorrer desconfortos e/ou hematomas. Asseguramos, entretanto, que todos os procedimentos serão acompanhados por uma equipe tecnicamente treinada para garantir que estas eventualidades sejam mínimas ou não ocorram. O DNA extraído do sangue será armazenado no Laboratório de Genética Humana do Instituto sob a responsabilidade dos pesquisadores envolvidos, cabendo ao participante o direito de retirá-lo do banco de DNA, a qualquer momento, se assim o desejar. Cada amostra de material biológico será identificada por números específicos e poderá ser utilizada para investigações futuras, desde que mediante o consentimento dos doadores (ou de seus responsáveis) e/ou da aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição.

As condições de sigilo quanto às informações coletadas e aos resultados das análises, assim como a identidade dos participantes serão preservadas. Os resultados dos testes poderão vir a ser divulgados em revistas científicas, respeitando a privacidade e o anonimato dos participantes.

Ao participante será fornecido todo e qualquer esclarecimento que se fizer necessário antes, durante e após a realização da pesquisa, que visa beneficiar os pacientes com doenças neurológicas e psiquiátricas e suas famílias através dos resultados encontrados.

Eu, _____, identidade nº _____, declaro que li e compreendi o que me foi explicado e, desta forma, autorizo voluntariamente minha participação no estudo.

Rio de Janeiro, ____ de _____ de _____.

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador

Em caso de dúvidas,

Endereço e telefone do coordenador do projeto:

Laboratório de Genética Humana
Instituto Oswaldo Cruz / Fundação Oswaldo Cruz
Avenida Brasil, 4.365 – Pavilhão Leonidas Deane, sala 611.
Manguinhos - Rio de Janeiro-RJ - CEP: 21.040-360
Tel.: (21) 3865-8213
e-mail: mario.junior@ioc.fiocruz.br

Endereço e telefone do Comitê de Ética em Pesquisa:

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos - CEP FIOCRUZ/IOC
Instituto Oswaldo Cruz / Fundação Oswaldo Cruz
Avenida Brasil, 4.036 - sala 705 (Expansão)
Manguinhos - Rio de Janeiro-RJ - CEP: 21.040-360
Tel.: (21) 3882-9011
e-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

8.3 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Controles



TERMO DE CONSENTIMENTO

Título do Projeto: ESTUDO DAS BASES GENÉTICAS DO TRANSTORNO BIPOLAR

Instituição: Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

Pesquisador responsável: Mário Campos Junior, PhD.

NOME DO PARTICIPANTE: _____ DN: _____

REGISTRO: _____ PROCEDÊNCIA: _____

Você está sendo convidado a participar como voluntário do projeto de pesquisa “ESTUDO DAS BASES GENÉTICAS DO TRANSTORNO BIPOLAR”, realizado pelo Laboratório de Genética Humana do Instituto Oswaldo Cruz. Temos como objetivo pesquisar alterações normais no DNA de indivíduos voluntários saudáveis e utilizar estas informações para ajudar a entender melhor as alterações no DNA encontradas em indivíduos com doenças mentais.

Os resultados dessa pesquisa poderão abrir novas perspectivas para a identificação de causas genéticas, recentemente identificadas, associadas com estas patologias e sua participação como voluntário servirá para que possamos comparar a incidência das alterações encontradas nos pacientes com a do grupo de pessoas normais, sem a doença. Nenhuma alteração com poder de diagnóstico de doenças ou de identificação humana será pesquisada.

Todas as condutas adotadas nesta pesquisa seguirão as normas de bioética descritas na resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. A participação dos controles neste projeto é voluntária e, a qualquer momento, você poderá recusar-se a participar ou retirar o seu consentimento, sem que haja penalização ou prejuízo.

Os exames para pesquisa de variações genéticas serão gratuitos e serão realizados a partir de uma única amostra de 5 mL de sangue coletada com material descartável. Embora esta coleta não apresente riscos, eventualmente, poderão ocorrer desconfortos e/ou hematomas. Asseguramos, entretanto, que todos os procedimentos serão acompanhados por uma equipe tecnicamente treinada para garantir que estas eventualidades sejam mínimas ou não ocorram. O DNA extraído do sangue será armazenado no Laboratório de Genética Humana do Instituto sob a responsabilidade dos pesquisadores envolvidos, cabendo ao participante o direito de retirá-lo do banco de DNA, a qualquer momento, se assim o desejar. Cada amostra de material biológico será identificada por números específicos e poderá ser utilizada para investigações futuras, desde que mediante o consentimento dos doadores (ou de seus responsáveis) e/ou da aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição.

As condições de sigilo quanto às informações coletadas e aos resultados das análises, assim como a identidade dos participantes serão preservadas. Os resultados dos testes poderão vir a ser divulgados em revistas científicas, respeitando a privacidade e o anonimato dos participantes.

Ao participante será fornecido todo e qualquer esclarecimento que se fizer necessário antes, durante e após a realização da pesquisa, que visa beneficiar os pacientes com doenças neurológicas e psiquiátricas e suas famílias através dos resultados encontrados.

Eu, _____, identidade nº _____, declaro que li e compreendi o que me foi explicado e, desta forma, autorizo voluntariamente minha participação no estudo.

Rio de Janeiro, ____ de _____ de _____.

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador

Em caso de dúvidas,

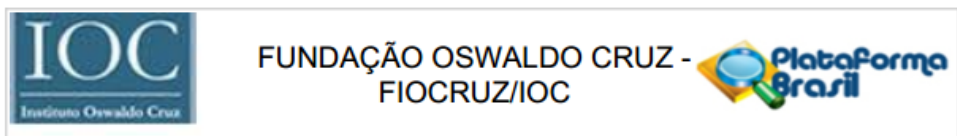
Endereço e telefone do coordenador do projeto:

Laboratório de Genética Humana
Instituto Oswaldo Cruz / Fundação Oswaldo Cruz
Avenida Brasil, 4.365 – Pavilhão Leonidas Deane, sala 611.
Manguinhos - Rio de Janeiro-RJ - CEP: 21.040-360
Tel.: (21) 3865-8213
e-mail: mario.junior@ioc.fiocruz.br

Endereço e telefone do Comitê de Ética em Pesquisa:

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos - CEP FIOCRUZ/IOC
Instituto Oswaldo Cruz / Fundação Oswaldo Cruz
Avenida Brasil, 4.036 - sala 705 (Expansão)
Manguinhos - Rio de Janeiro-RJ - CEP: 21.040-360
Tel.: (21) 3882-9011
e-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

8.4 Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo das Bases Genéticas do Transtorno Bipolar

Pesquisador: Mário Campos Junior

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 2

CAAE: 34802114.4.0000.5248

Instituição Proponente: Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ/IOC

Patrocinador Principal: Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ/IOC

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 922.614

Data da Relatoria: 15/12/2014