UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL–REI (UFSJ)
CAMPUS CENTRO–OESTE DONA LINDU (CCO)

LEILIANE RODRIGUES MAGALHÃES

REFRATARIEDADE DA ESQUIZOFRENIA E A OCORRÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS NO GENE 5HT2A

Divinópolis
2021

LEILIANE RODRIGUES MAGALHÃES

REFRATARIEDADE DA ESQUIZOFRENIA E A OCORRÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS NO GENE 5HT2A

Dissertação que será apresentada ao Programa de Pós–Graduação em Enfermagem – Mestrado Acadêmico – da Universidade Federal de São João Del–Rei (UFSJ) para a obtenção do título de Mestre em Ciências.
Área de Concentração: Enfermagem

Linha de Pesquisa: Gestão em Serviços de Saúde e Enfermagem

Orientador: Prof. Dr. Richardson Miranda Machado
Coorientadora: Profa. Dra. Luciana Lara dos Santos

Divinópolis
2021

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Assinatura: _____ Data ___/___/___

Magalhães, Leiliane Rodrigues.
Refratariedade da Esquizofrenia e a Ocorrência de Polimorfismos Genéticos no Gene 5HT2A / Leiliane Rodrigues Magalhães. – Divinópolis: UFSJ, 2021.
110p. : il.

Dissertação (Mestrado)– Universidade Federal de São João Del-Rei, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Richardson Miranda Machado.
Coorientadora: Prof. Luciana Lara dos Santos

1. Esquizofrenia. 2. Polimorfismo genético. 3. Estudos de Casos e Controles. I. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI – UFSJ
INSTITUÍDA PELA LEI Nº 10.425, DE 19/04/2002 – D.O.U. DE 22/04/2002
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

DISCENTE: **Leiliane Rodrigues Magalhães**

NÍVEL: **Mestrado**

DATA DA DEFESA: **26/02/2021** HORÁRIO DE INÍCIO: **9 horas**

LOCAL: **via google meet**

MEMBROS DA BANCA		FUNÇÃO	TÍTULO	INSTITUIÇÃO DE ORIGEM
NOME COMPLETO	CPF			
Richardson Miranda Machado	040.281.416-99	Presidente	Doutor	UFSJ
Ricardo Bezerra Cavalcante	032.328.136-23	Titular	Doutor	UFJF
Camila Souza de Almeida	097.690.596-50	Titular	Doutora	UEMG
Sebastião Júnior Henrique Duarte	519.894.841-15	Suplente	Doutor	UFMS

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: " REFRATARIEDADE DA ESQUIZOFRENIA E A OCORRÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS NO GENE 5HT2A"

Em sessão pública, após apresentação da dissertação durante 35 minutos, a mestranda foi arguida oralmente pelos membros da banca durante o período de 50 minutos, tendo a banca chegado ao seguinte resultado:

(X) Aprovação.

( ) Reprovação.

Para constar, foi lavrada a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da banca examinadora.

Divinópolis, 26 de fevereiro de 2021.

Dr. Richardson Miranda Machado _____

Dr.Ricardo Bezerra Cavalcante Ricardo Bezerra Cavalcante

Dra. Camila Souza de Almeida _____

Obs.: A aluna deverá encaminhar à coordenação do curso, no prazo máximo de 30 dias, os exemplares definitivos da dissertação.

DEDICATÓRIA

À minha família por estar ao meu lado, em todos os momentos, apoiando–me e respeitando as minhas escolhas.

A todos os pacientes com esquizofrenia que participaram desta pesquisa, contribuindo para o desenvolvimento da ciência e à construção de maior conhecimento para melhorar as práticas terapêuticas.

AGRADECIMENTOS

A Deus por conceder a oportunidade de viver uma vida com muito aprendizado e me proporcionar força para superar todas as dificuldades.

Ao meu querido orientador, Professor Doutor Richardson Miranda Machado, por todo o aprendizado que vem de longa data desde minha graduação com participação no Programa de Educação Tutorial (PET) Da Loucura a Ciência. Obrigada por todo apoio, disponibilidade, puxões de orelha merecidos e por acreditar que eu seria capaz de superar os obstáculos.

À minha querida Coorientadora, Professora Doutora Luciana Lara dos Santos, pelo acolhimento no Laboratório de Biologia Molecular para o desenvolvimento desta pesquisa na área de genética molecular.

Ao querido colega Marco Túlio por todo o carinho, apoio e disponibilidade em oferecer seus ensinamentos na área de saúde mental e auxiliar no estágio.

A todos os meus colegas e amigos do mestrado pelos momentos juntos e desabafos durante nossos cafés.

A todos os meus colegas do PET “Da Loucura a Ciência” por todos os momentos de aprendizado, alegria e descoberta do quanto é linda a saúde mental.

Aos meus pais e irmãos por todo o apoio, em todas as minhas decisões, dificuldades e alegrias e por sempre motivar–me a não desistir.

Às minhas parceiras e amigas do laboratório de Biomol Amanda, Lohany, Laís, Luiza e Ariani e a meu querido parceiro e amigo Nilson. Obrigada, pessoal, por todos os ensinamentos e acolhimento neste mundo de biologia molecular. Obtive um imenso aprendizado com todos vocês.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por todo o incentivo durante a caminhada no mestrado.

“Obstáculos e dificuldades fazem parte da vida.
E a vida é a arte de superá–los”. DeRose

Magalhães, L. R. Refratariedade da Esquizofrenia e a Ocorrência de Polimorfismos Genéticos no Gene 5HT2A [Dissertação]. Divinópolis: Programa de Pós–Graduação em Enfermagem Mestrado Acadêmico, Universidade Federal De São João Del–Rei; 2021.

RESUMO

Introdução: A esquizofrenia é considerada um grave problema de saúde pública. Quando o paciente não responde a duas ou mais classes de antipsicóticos, ele é considerado "resistente" ao tratamento ou "refratário". A esquizofrenia refratária (ER) afeta 8 milhões de pessoas em todo o mundo. Acredita–se que a sua etiologia seja multifatorial, incluindo fatores ambientais e genéticos. O objetivo deste estudo foi estimar a prevalência dos polimorfismos genéticos rs6305, rs6314 e rs6311 e associações com a ocorrência da esquizofrenia refratária e esquizofrenia geral em uma amostra de pacientes residentes na Macrorregião Oeste de Minas gerais do Brasil, no período entre 2014 e 2016. **Metodologia:** Trata–se de um estudo genético–molecular do tipo caso–controle. Os 216 participantes foram divididos em três grupos, sendo eles: caso I– pacientes com diagnóstico médico de esquizofrenia refratária, caso II– pacientes com outros tipos de esquizofrenia e grupo–controle – composto por pessoas que não apresentaram nenhum diagnóstico de transtorno mental. Foi aplicado um questionário estruturado para a coleta de dados sociodemográficos e, posteriormente, realizou–se a coleta de material biológico para a análise genética. Para a análise genética, foram realizadas as técnicas de extração de DNA, Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) e PCR em tempo real. As análises estatísticas apresentaram como finalidade descartar ou confirmar a associação entre o surgimento da esquizofrenia refratária e a exposição genética, pela utilização do teste estatístico Qui–Quadrado de Pearson (x^2) e, assim, comparar as frequências alélicas e genotípicas entre os grupos caso I, caso II e controles por meio da regressão logística simples (valor de Odds Ratio não–ajustado). Logo depois, foi realizado um modelo de dominância e recessividade entre os grupos de portadores de esquizofrenia refratária e o de controles para verificar a ocorrência do efeito entre eles. Para todos os testes foram utilizados um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). **Resultados:** Foi observada uma diferença estatisticamente significante dos genótipos para o polimorfismo rs6311 na comparação do grupo de pacientes com esquizofrenia refratária com o grupo controle (p valor= 0,027). Verificou–se também uma associação entre o modelo A dominante (valor–p=0,042) e o modelo heterose (valor–p=0,008) entre os grupos controle e pacientes ER. **Conclusão:** Apesar de este estudo ter encontrado associação do polimorfismo rs6311 com a esquizofrenia, é necessário que novos estudos aconteçam com amostras maiores para melhor compreensão da genética da esquizofrenia envolvendo a população brasileira.

PALAVRAS–CHAVE: Esquizofrenia. Polimorfismo genético. Receptores de Serotonina. Prevalência. Estudos de Casos e Controles.

Magalhães, L. R. Refractoriness of Schizophrenia and the Occurrence of Genetic Polymorphisms in the 5HT2A Gene [Thesis]. Divinópolis: Graduate Program in Nursing Academic Masters, Universidade Federal de São João Del–Rei; 2021.

ABSTRACT

Introduction: Schizophrenia is a serious public health issue. When the patient does not respond to two or more classes of antipsychotics, he/she is considered "resistant" to treatment or "refractory". Refractory Schizophrenia (RS) affects 8 million people worldwide. Its etiology is believed to be multifactorial, including environmental and genetic factors. The aim of this study was to estimate the prevalence of rs6305, rs6314, and rs6311 genetic polymorphisms and their associations with the occurrence of refractory schizophrenia and other types of schizophrenia in a sample of patients residing in the Macrorregião Oeste of Minas Gerais, in the period between 2014 and 2016. **Methodology:** This is a case–control genetic–molecular study. The 216 participants were divided into three groups: cases I – patients with a medical diagnosis of refractory schizophrenia, and; cases II – patients with other types of schizophrenia and a control group composed of people who did not present any diagnosis of mental disorder. A structured questionnaire was applied to collect socio–demographic data and, subsequently, biological material was collected for genetic analysis. The genetics were analyzed using the techniques of DNA extraction, Polymerase Chain Reaction (PCR), Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), and real–time PCR. The statistical analyzes aimed to discard or confirm the association between the onset of refractory schizophrenia and genetic exposure, using Pearson's Chi–Square statistical test (x^2) and comparing the allele and genotypic frequencies between the cases I, cases II, and controls using simple logistic regression (Odds Ratio value not adjusted). Subsequently, a dominance and recessiveness model was used between the groups of patients with refractory schizophrenia and the controls to verify the effects between them. A significance level of 5% ($p < 0.05$) was used for all tests. **Results:** There was a statistically significant difference in genotypes for the rs6311 polymorphism when comparing the group of patients with refractory schizophrenia with the control group (p value = 0,027. There was also an association in the dominant model A (p–value = 0.042) and the heterosis model (p–value = 0.008) between the control groups and RS patients. **Conclusion:** Although this study found an association between the rs6311 polymorphism and schizophrenia, it is necessary that further studies take place with larger samples to understand better the genetics of schizophrenia involving the Brazilian population.

KEYWORDS: Schizophrenia. Genetic polymorphism. Serotonin receptors. Prevalence. Case Studies and Controls.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Síntese de serotonina e regulação pré–sináptica da neurotransmissão de serotonina 38
Figura 2 – Representação esquemática dos transportadores e receptores envolvidos na transmissão de estímulos neuronais na via serotoninérgica 38
Figura 3 – Algoritmo para o tratamento da esquizofrenia 41
Figura 4 – Representação do polimorfismo rs6305 no gene 5HT2A. 48
Figura 5 – Representação do polimorfismo rs6314 no gene 5HT2A 48
Figura 6 – Representação do polimorfismo rs6311 no gene 49
Figura 7 – Organograma do recrutamento dos participantes da pesquisa 53
Figura 8 – Programa para a reação de PCR convencional do polimorfismo rs6305 59
Figura 9 – Condições das temperaturas e tempo na PCR em tempo real 60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Oligonucleotídeos utilizados na PCR 57
Tabela 2 – Protocolo de digestão enzimática com a enzima *Sau96I* 59

ARTIGO 1

Tabela 1 – Distribuição das frequências genotípicas e alélicas, qui–quadrado e odds ratio dos polimorfismos rs6305, rs6314 e rs6311 do gene 5HT2A por grupo. 72
Tabela 2 – Modelos genotípicos de dominância e heterose para os três polimorfismos de nucleotídeo simples entre os grupos de pacientes 73

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 23

2 OBJETIVOS 29
2.1 OBJETIVO GERAL 30
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 30

3 REVISÃO DE LITERATURA 31
3.1 ESQUIZOFRENIA 32
3.1.1 Epidemiologia 32
3.1.2 Concepções 33
3.1.3 Etiologia e Fisiopatologia 35
3.1.4 Hipótese Serotoninérgica 36
3.1.5 Receptores Serotoninérgicos 38
3.1.6 Tratamento 39
3.1.7 Esquizofrenia Refratária e Clozapina 41
3.1.8 Farmacogenômica, Farmacogenética e Esquizofrenia Refratária 42
3.2 GENÉTICA DA ESQUIZOFRENIA 44
3.3 ESTUDOS GENÉTICO–EPIDEMIOLÓGICOS 44
3.3.1 Estudos de famílias 44
3.3.2 Estudos em gêmeos 45
3.4 Estudos genético–moleculares 46
3.4.1 Gene 5HT2A 47
3.5 SNP rs6305 47
3.5.1 SNP rs6314 48
3.5.2 SNP rs6311 48
3.6 ENFERMAGEM, GENÉTICA E GESTÃO DE SERVIÇOS DE SAÚDE 49

4 MATERIAIS E MÉTODOS 51
4.1 TIPO DE ESTUDO 52
4.2 POPULAÇÃO 52
4.3 AMOSTRA 53
4.3.1 Critérios de inclusão 55
4.3.2 Casos I 55
4.3.3 Casos II 55
4.3.4 Controles 55
4.3.5 Critérios de exclusão 55
4.4 COLETA DE DADOS 55
4.4.1 Coleta do Material Biológico 56

4.5 ANÁLISE LABORATORIAL 57
4.5.1 Extração do DNA 57
4.5.2 Oligonucleotídeos 57
4.5.3 PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Convencional para a genotipagem 57
4.5.4 Eletroforese 59
4.5.5 Genotipagem do polimorfismo rs6305 por RFLP 59
4.5.6 PCR em tempo real 60
4.5.7 Equilíbrio de Hardy–Weinberg 60
4.6 TRATAMENTO DOS DADOS 61
4.7 QUESTÕES ÉTICAS 62

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 63
5.1 ARTIGO 1 – Associação entre polimorfismos genéticos do gene 5HT2A e esquizofrenia refratária em uma população do Brasil 64

6 LIMITAÇÕES 82

7 CONCLUSÃO 84

REFERÊNCIAS 86

APÊNDICES 99

ANEXOS 105

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A sociedade contemporânea experimenta a ocorrência de transtornos psiquiátricos cada vez mais comum em várias partes do mundo. Com os avanços tecnológicos e conquistas científicas, os campos de pesquisa buscam estudar amplamente questões relacionadas à saúde mental, pois observa–se que os transtornos psiquiátricos, nas últimas décadas, ganharam destaque, ocupando o quinto lugar em causas de incapacidade. Esses transtornos têm como consequência o aumento considerável de taxas de morbidades, de mortalidade por suicídio, perdas sociais, além do comprometimento de renda devido a gastos com saúde (SULLIVAN; GESCHWIND, 2019).

Compreende–se por transtornos psiquiátricos alterações emocionais, cognitivas e comportamentais de um paciente, provocando distúrbios em processos biológicos, mentais ou de desenvolvimento no funcionamento da mente (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION – APA, 2014). Esses transtornos estão constantemente relacionados a sofrimento, tanto para o indivíduo, por resultar incapacidades comportamentais em desenvolver atividades, quanto para os familiares com sobrecarga para lidar com as mudanças e instabilidades desse familiar (ZHOU et al., 2020; SOARES et al., 2019).

Entre os principais transtornos existentes, a Esquizofrenia (EQZ) é considerada um grave problema de saúde pública, atingindo 21 milhões de pessoas em todo o mundo (CHARLSON et al., 2018). Uma revisão sistemática recente descobriu que pessoas com esse transtorno morrem, em média, 14,5 anos antes quando comparado com os que não apresentam o diagnóstico (HJORTHOJ et al., 2017).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a EQZ é classificada como a terceira doença que mais afeta a qualidade de vida produtiva entre a população de 15 a 45 anos de idade. No Brasil, a doença acomete mais de 1,8 milhões de pessoas (PATEL et al., 2014), bem como representa 30% da ocupação dos leitos hospitalares psiquiátricos, ou 100.000 leitos/ dia. Além disso, 14% das primeiras consultas ambulatoriais são fornecidas a pacientes com EQZ, correspondendo a 5º doença mais comum que leva as pessoas a solicitarem benefícios por incapacidade previdenciária (KOHLRAUSCAH, 2013).

A EQZ é um transtorno diversificado, apresentando três domínios de sintomatologia, denominados positivos, negativos e cognitivos. Os sintomas positivos são representados por alucinações, delírios e pensamentos desorganizados. Já os sintomas negativos incluem embotamento afetivo (diminuição na habilidade de expressar–se emocionalmente) e avolição

(incapacidade de iniciar ou continuar na busca de algum objeto). Por fim, os sintomas cognitivos envolvem problemas de concentração, funcionamento executivo e memória (FADEN; CITROME, 2018).

O acometimento cognitivo é uma característica comum em pacientes com EQZ, sendo observado, no âmbito de atenção, memória e linguagem em 98% dos casos. Esses prejuízos podem comprometer o tratamento por incapacidades cotidianas para a ingestão medicamentosa, por exemplo e para realização do autocuidado (ZHOU et al., 2020).

A base, para o tratamento da esquizofrenia, é a utilização de medicamentos antipsicóticos que irão atuar em sintomas positivos e negativos. Eles agem bloqueando a ação de neurotransmissores, como receptores de dopamina e serotonina. A dopamina em excesso provoca os sintomas positivos e, ao bloquear seus canais receptores nos neurônios, evita que o excesso da substância atinja as células nervosas, reequilibrando o sistema de neurotransmissão (FADEN; CITROME, 2018).

Os antipsicóticos podem ser classificados em típicos (primeira geração) e atípicos (segunda geração). Os antipsicóticos típicos são fármacos criados primeiramente e apresentam ações elevadas no receptor D2 de dopamina (DA). Porém provocam frequentemente efeitos adversos (extrapiramidais) que resultam do bloqueio de receptores de DA, nos núcleos da base, acarretando sintomas parkinsonianos, tremor e rigidez. Já os antipsicóticos atípicos referem–se a uma nova geração de fármacos que acoplam um bloqueio do receptor de serotonina 5HT2A, neutralizando o bloqueio excessivo de dopamina D2 e, assim, ocorre uma diminuição desses efeitos extrapiramidais provocados por antipsicóticos típicos (GARAY et al., 2016).

Apesar do uso dos antipsicóticos serem considerados como principal tratamento, as abordagens psicossociais devem ser incluidas. A psicoterapia em grupo ou individual é indicada com a finalidade de melhorar os sintomas, prevenir recaídas e evitar a re–hospitalização em momentos de crises. A terapia ocupacional também pode ser recomendada, pois envolve atividades tanto para descontração quanto para se sentirem mais úteis, ativos e envolvidos em rotinas de interação e ações. Além disso, o apoio psicológico à família pode auxiliar a compreensão do diagnóstico, tratamento e de como lidar com a sobrecarga em relação ao cuidado e ajudar na reinserção (SHIRAKAWA et al., 2000).

Apesar das abordagens psicossociais e do desenvolvimento de psicofármacos, foi observado que, em alguns pacientes em tratamento constante com utilização de duas ou mais classes de antipsicóticos diferentes, persistiam os sintomas. Esses pacientes receberam a denominação “resistentes” ou “refratários” ao tratamento (SAMARA et al., 2019). A esquizofrenia refratária (ER) afeta aproximadamente 8 milhões de pessoas em todo o mundo.

O tratamento mais adequado, nesses casos, segundo concordância médica, é o psicofármaco Clozapina. Essa medicação mostra efeitos bloqueadores mais intensos nos neuroreceptores de serotonina quando comparados ao neureceptor de dopamine D2. Além disso, pensa-se ter melhora não apenas dos sintomas positivos, mas também dos negativos até certo ponto sem causar efeitos extrapiramidais (MORRISON et al., 2018).

De acordo com The World Federation of Societies of Biological Psychiatry em 2017 a Clozapina deve ser iniciada em pacientes refratários, sendo um dos antipsicóticos mais eficazes como resposta ao tratamento entre 30% e 60% (MASELLIS et al., 1998). Além disso, uma meta–análise demonstrou que a Clozapina, em comparação com outros antipsicóticos de segunda geração, foi associada com menores taxas de re–hospitalização e melhores resultados gerais em relação aos sintomas (MASUDA et al., 2019).

Apesar de a Clozapina apresentar uma eficácia superior, 40% dos pacientes não conseguem uma resposta adequada a esse tratamento. Sua utilização pode provocar, mesmo em menor quantidade, efeitos adversos graves, como cardiomiopatia, agranulocitose e risco de convulsões. Além disso, carrega aumento do risco de obesidade, dislipidemia e disglicemia. O ganho de peso associado ao uso desse antipsicótico pode estar relacionado a não aceitação do tratamento, comprometendo a qualidade de vida e a reinternação hospitalar (COSTA–DOOKHAN et al., 2020). Verifica–se, no entanto que os pacientes com EQZ têm altos níveis de comportamento sedentário (uma média de 9–10 horas por dia) e menor prática de atividades físicas em relação à população geral. Esses pacientes apresentam uma ingestão de calorias maior (TEASDALE et al., 2019) com doses diárias de alimentos obsogênicas (FIRTH et al., 2018). Esse estilo de vida pode contribuir também com o aumento de obesidade.

Para aprimorar o tratamento utilizando Clozapina, tem sido realizado monitoramento de medicamentos terapêuticos como forma de orientar decisões clinicas relacionadas à dosagem e resposta ao tratamento. Existe uma concordância geral de que a utilização de um limiar inferior de níveis plasmáticos da Clozapina aumenta a chance de resposta ao tratamento, quando comparado a doses elevadas (REMINGTON et al., 2013).

Atualmente, acredita–se que a etiologia da esquizofrenia seja causada por vários fatores, incluindo ambiental e genética. Os estudos pioneiros referentes à parte genética da EQZ começaram pela observação da existência maior de casos do transtorno em certas famílias. Como exemplo, estudos epidemiológicos com famílias de pacientes concluíram que a prevalência do transtorno era maior nessas famílias quando comparadas com familiares–controle (GOTTESMAN, 1991).

Nessa teoria, começaram os estudos com gêmeos monozigóticos, dizigóticos e filhos adotivos com o intuito de separar as causas genéticas das ambientais. Concluiu–se que a predisposição genética era um dos principais determinantes na ocorrência da esquizofrenia, pelo risco de desenvolvimento da doença aumentar de acordo com o grau de parentesco (GOTTESMAN et al., 1991).

Os avanços na genética humana estão remodelando a maneira de entendimento da esquizofrenia, quando testes genéticos apresentam a possibilidade de identificar marcadores para tolerância e vulnerabilidade à Clozapina. Estudiosos observaram que, se no início do tratamento de pacientes com esquizofrenia refrataria utilizassem a Clozapina, os gastos públicos com a saúde economizariam no mínimo U$ 290 milhões em 95% das simulações (GOREN et al., 2016).

Evidências indicam que o sistema serotoninérgico poderia estar associado ao desenvolvimento da EQZ. Essas evidências iniciaram quando foi observada uma relação entre os sintomas psicóticos e o dietilamida do ácido lisérgico (LSD). O neurotransmissor de serotonina está envolvido em diversas funções, como motora, sensorial e cortical. A hipótese serotoninérgica é baseada no fato de que o aumento de serotonina poderia estar envolvido com a EQZ, a partir da qual os genes receptores de serotonina que controlam sua liberação nas vias neuronais começaram a ser estudados (FANOUS et al., 2009).

Considerando todas as informações e problemática exposta anteriormente, propõe–se verificar possíveis associações dos polimorfismos rs6305, rs6311 e rs6314 localizados no gene de serotonina 5HT2A e a ocorrência de esquizofrenia refratária e esquizofrenia geral. Esse gene é considerado um dos principais alvos de antipsicóticos como a clozapina, justificando então sua escolha para o estudo.

Este estudo representa um dos poucos que buscou avaliar esses três polimorfismos genéticos com a ocorrência da esquizofrenia refratária e da esquizofrenia geral no Brasil. Além disso, estudos de outros polimorfismos, em diferentes genes relacionados ao transtorno, também, são escassos no país. Torna–se necessário portanto, o avanço de estudos científicos neste âmbito para que, assim, contribuam para o entendimento da etiologia dessa doença.

O atual estudo pode subsidiar novas pesquisas à identificação da provável causa da resistência ao tratamento da EQZ. Assim, poderá verificar se as ocorrências de polimorfismos nesse gene podem prejudicar a efetividade de ações dos antipsicóticos no tratamento. Assim sendo, será possível impactar futuramente as políticas públicas no desenvolvimento de estratégias que irão atuar na diminuição do agravamento dos casos existentes, aprimoramento

de medicações antipsicóticas, prevenção do sofrimento causado pela doença e os custos com o tratamento gerados aos pacientes, familiares e aos serviços de saúde.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a prevalência dos polimorfismos rs6305, rs6311, rs6314 no gene 5HT2A e associações com a ocorrência da esquizofrenia refratária.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Estimar a prevalência dos polimorfismos genéticos rs6305, rs6311, rs6314, em pacientes com esquizofrenia refratária, pacientes com esquizofrenia geral e pessoas que não possuem nenhum diagnóstico de transtorno mental;
b) Verificar se existe associação alélica e genotípica para cada polimorfismo estudado com a ocorrência da esquizofrenia refratária;
c) Verificar se há associação genotípica para cada polimorfismo estudado e esquizofrenia refratária considerando modelos de dominância e recessividade.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ESQUIZOFRENIA

3.1.1 Epidemiologia

A Esquizofrenia (EQZ) afeta 1% da população mundial (FRANKE et al., 2016). Pesquisas epidemiológicas indicam que a EQZ ocorre mundialmente com uma prevalência de 1,4 a 4,6 para cada 1000 habitantes e uma incidência de 0,16 a 0,42 para cada 1000 habitantes (JABLENSKY, 2000). No Brasil, surge 75.000 novos casos de EQZ por ano, representando 50 casos para cada 100.000 habitantes (OLIVEIRA et al., 2012).

Uma revisão sistemática, baseada em 50 estudos de resultados, relatou que a proporção média de pessoas com EQZ que preenchiam os critérios de recuperação clínica e social era de apenas 13,5% (JÄÄSKELÄINEN et al., 2013). Em um estudo transcultural IPSS (International Pilot Study of Schizophrenia), envolvendo nove países, observaram que a proporção de pacientes com EQZ, que obtiveram melhora no prognóstico da doença, foi significativamente maior em países em desenvolvimento quando comparados com países desenvolvidos (LEFF et al., 1992). Outros estudos internacionais demonstraram que pessoas que apresentam EQZ são até 13 vezes mais propensas a cometer suicídio. No Brasil, no ano de 2013, havia, aproximadamente, 809.660 pessoas portadoras de EQZ e 1.100 casos de suicídios estavam associados ao transtorno (LIMA; SILVA; BATISTA, 2017; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE – OMS, 2019).

O início do transtorno é mais precoce em homens (média de 25 anos) quando comparados com mulheres (média de 30 anos). Porém, o inicio é mais precoce em ambos os sexos quando apresentam histórico familiar de EQZ (MARI; LEITÃO, 2000). Diversos estudos apontaram que o risco para EQZ era maior em homens quando comparado com as mulheres (ALEMAN et al., 2003; McGRATH et al., 2004; SANTANA, 1982). As mulheres apresentam um curso mais brando da EQZ, apresentando, assim, um melhor prognóstico e uma melhor possibilidade de adaptação social (MARI; LEITÃO, 2000).

Estima–se que metade dos pacientes portadores de esquizofrenia realiza uso abusivo de substâncias lícitas e ilícitas, como: maconha, álcool, estimulantes, tabaco, alucinógenos, cafeína e medicamentos antiparkinsonianos (ARARIPE NETO et al., 2007; WEINBERGER; HARRISON, 2011). Segundo Volkow, 45,3% dos pacientes com esquizofrenia apresentam dependência de nicotina, 43,1–65% de álcool e 50,8% de maconha (VOLKOW, 2009). No

Brasil, em um Centro de Atenção Psicossocial III, no município de Divinópolis – MG – foi observada uma frequência de 35,6% dos pacientes com EQZ para o abuso de álcool e 29,5% para o abuso de canabioides (SILVEIRA et al., 2014). O excesso de drogas e outras substâncias compromete o prognóstico do paciente, prejudicando o convívio social, a não adesão ao tratamento, falha terapêutica e maior taxa de hospitalização (ARARIPE NETO et al., 2007; WEINBERGER; HARRISON, 2011).

Evidências indicam que apenas 15% dos pacientes de EQZ estão empregados e apenas 11% são casados, situação que tem sido atribuída à baixa efetividade do tratamento nos sintomas negativos e cognitivos (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMAN, 2011; LIEBERMAN et al., 2005). O custo mundial da esquizofrenia, somando–se os prejuízos na capacidade produtiva dos pacientes e os custos em tratamento, foi estimado em 62,7 bilhões de dólares anuais, em 2002, sendo que, aproximadamente, um terço desse valor refere–se aos gastos diretos com serviços de saúde (WU et al., 2005). No Brasil, a EQZ é o transtorno responsável pelo maior número de internações. Em 2013, o Sistema Único de Saúde (SUS) gastou R$1,07 bilhão com o tratamento de recidiva, com uma média de R$12.108,00 por paciente. Entretanto, nos últimos anos, observou–se um aumento de 5% na utilização de antipsicóticos de ação prolongada, representando uma economia de R$0,3 milhão ao ano (LIMA; SILVA; BATISTA, 2017).

3.1.2 Concepções

A esquizofrenia é definida por anormalidades, em um ou mais dos cinco domínios: delírios, alucinações, discurso desorganizado, comportamento motor desorganizado ou anormal e sintomas negativos (APA, 2014). Essas alterações marcam uma ruptura no neurodesenvolvimento manifestadas por um episódio psicótico primário no final da adolescência ou início da idade adulta. A maioria dos pacientes com EQZ passa por uma fase prodrômica, durante a adolescência ou início da vida adulta, antecedendo o início dos sintomas psicóticos (delírios e alucinações). Essa fase é caracterizada pelo desenvolvimento lento e gradativo de sintomas, como déficit cognitivos e afetivos, isolamento social, falta de prazer e comprometimento de funções sociais (BHJRAJ et al., 2011). As manifestações clínicas podem ocorrer de forma singular a depender de cada indivíduo e são classificadas em grupos de sintomas positivos, negativos e cognitivos (TANDON et al., 2009).

Os sintomas positivos são caracterizados por um discernimento de realidade distorcido ou não existente, como alucinações, delírios, ilusões, desorganização do discurso, conduta

agitada ou desorganizada, desconfiança. As alucinações são alterações da sensopercepção caracterizadas pela percepção em coisas inexistências sem estar sob o controle do indivíduo. Esse sintoma pode manifestar–se por qualquer um dos cinco sentidos (visão, audição, tato, olfato, paladar). Os delírios são convicções absolutas de certeza, em relação a alguma determinada ideia, não sendo possível uma mudança de opinião. Entre os principais tipos estão os delírios persecutórios, de referência, de grandeza, erotomaníacos, niilistas e somáticos. A desorganização do discurso é caracterizada por uma incoerência, mudança de um assunto para outro repentinamente (descarrilamento) e respostas sem relação a alguma com as perguntas (tangencialidade) (APA, 2014).

Os sintomas negativos abrangem cinco subdomínios, sendo eles embotamento afetivo, alogia, avolição, anedonia e isolamento social. O embotamento afetivo é uma redução na intensidade de expressão emocional e reatividade, seja na entonação de fala (prosódia), expressão facial, gestual ou movimentos da face. Já a alogia, é definida como uma redução na quantidade de palavras e fala espontânea e perda da fluência conversacional. A avolição (perda da vontade) representa déficits no começo e manutenção de condutas direcionados a objetivos específicos, como: estudo, trabalho, atividades cotidianas, principalmente, quando necessitam de esforço. Diminuição na vontade de se engajar nesses comportamentos, relacionada à apatia e à falta de energia. Enquanto a anedonia (perda do prazer), a antecipação de uma recompensa ou de outra atividade que provoca prazer (anedonia antecipatória) é mais marcada e consistentemente prejudicada que a apreciação da experiência em si (anedonia consumatória). O isolamento social é marcado por uma diminuição da motivação, interesse e apreciação de interações sociais com familiares e amigos (KIRKPATRICK et al., 2006; MILLAN et al., 2014). Segundo alguns pesquisadores, mais de 50% dos pacientes portadores de EQZ que sofrem de um ou mais sintomas negativos são hospitalizados em maior frequência e permanências mais longas (SICRAS–MAINAR et al., 2014; PATEL et al., 2015).

Os sintomas cognitivos envolvem déficits cognitivos generalizados, incluindo memória de curto prazo diminuída, baixa velocidade de processamento e baixa compreensão das situações sociais. Esses déficits podem estar presentes desde o início da doença, persistindo ao longo do tempo e provocando uma grande parte da incapacidade socioocupacional associada ao distúrbio, prejudicando a recuperação funcional. Além disso, os sintomas cognitivos não respondem à medicação antipsicótica, o que torna necessário outras abordagens farmacológicas, e essas novas abordagens não tiveram sucesso significativo até o momento (GREEN et al., 2000; GREEN; HORAN, 2012; KEEFE et al., 2013)

Um diagnóstico de EQZ é realizado, a partir do exame do estado mental do paciente, por meio da entrevista e observação. Para a avaliação de sinais e sintomas específicos do paciente, seguem–se os critérios definidos pela Organização Mundial de Saúde (ONU) e estabelecidos por protocolos específicos, como a Classificação Internacional de Doenças (CID–10) e o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM 5). O DSM 5 explana que os critérios de diagnóstico da EQZ precisam incluir a persistência de dois ou mais de sintomas positivos, como, por exemplo, delírios e alucinação e sintomas negativos com duração significativa por, pelo menos, um mês, sendo a fase ativa da doença, prolongando por até seis meses. Além disso, o paciente também precisa exibir um nível reduzido de funcionamento, em relação ao trabalho, relacionamentos interpessoais ou autocuidado. Devem ser descartados os diagnósticos de transtornos de humor, dependência ou abstinência de drogas e álcool, transtornos em razão de a doença cerebral orgânica e intoxicação (APA, 2014; BRASIL, 2013).

3.1.3 Etiologia e Fisiopatologia

A esquizofrenia, assim como outros transtornos psiquiátricos, é consequência da influência de vários fenótipos, como fatores genéticos, psicológicos e socioambientais. Os estudos pioneiros, investigando os aspectos genéticos, basearam em observações que caracterizavam a hereditariedade da esquizofrenia pela lei mendeliana. Os avanços nas pesquisas sobre a influência genética associada ao desenvolvimento da esquizofrenia permitiram a descoberta das primeiras evidências de suas bases biológicas, como a identificação do risco de vulnerabilidade genética com o aumento da chance de ocorrência da esquizofrenia em pessoas de acordo com o grau de parentesco (JONES; MURRAY, 1991).

Alguns estudos envolvendo gêmeos monozigotos sugerem a ocorrência de um índice de hereditariedade estimado em 80% (KELLER et al., 2010), porém essa taxa elevada pode ser influenciada também por fatores ambientais. Em uma meta–análise constatou–se uma associação de pais acima de 40 anos com a ocorrência de esquizofrenia, evidenciando envolvimento de mecanismos epigenéticos (WOHL; GORDWOOD, 2007).

Em um estudo publicado em 2014, pesquisadores comprovaram que a esquizofrenia é uma patologia com elevado risco genético. Eles identificaram 128 associações, contendo 108 loci, com elevada importância genética para a patologia, reforçando a hipótese de envolvimento de neurotransmissores em relevância terapêutica e 83 loci inéditos que forneceram informações novas sobre a etiologia da esquizofrenia (SCHIZOPHRENIA GENOMICS CONSORTIUM, 2014).

Diversos estudos epidemiológicos e estudos genéticos recentes de mapeamento de associações sugerem que as interações genéticas e genéticas ambientais são responsáveis por mais de 80% da suscetibilidade no desenvolvimento de esquizofrenia (GEJMAN et al., 2011; McGRATH et al., 2013; SULLIVAN et al., 2003). Esses estudos foram acelerados pela ampla aplicação em estudos de associação genômica (O'DONOVAN et al., 2008; PURCELL et al., 2009; SHI et al., 2009; STEFANSSON et al., 2009).

Os fatores de risco ambientais e genéticos podem influenciar, em longo prazo, os processos de maturação cerebral no período gestacional, favorecendo o desenvolvimento da esquizofrenia. As alterações no neurodesenvolvimento precoce e na adolescência podem causar danos graves, nas fases principais da maturação, incluindo a proliferação de célula progenitora, arborização dendrítica e migração neuronal. Essa acumulação pode provocar alterações em projeções dopaminérgicas, maturação de interneurônios e na densidade sináptica glutamatérgica (OWEN et al., 2016).

Fatores ambientais e sociais podem desempenhar um papel importante no desenvolvimento da esquizofrenia, principalmente, em indivíduos vulneráveis ao transtorno. Entre os estressores ambientais incluem: etnia pequena, trauma na infância e morar em área urbana. Já em relação aos estressores socioeconômicos, estão a discriminação e problemas econômicos que podem favorecer os indivíduos a desenvolver pensamento paranoico (LAVRETSKY, 2008).

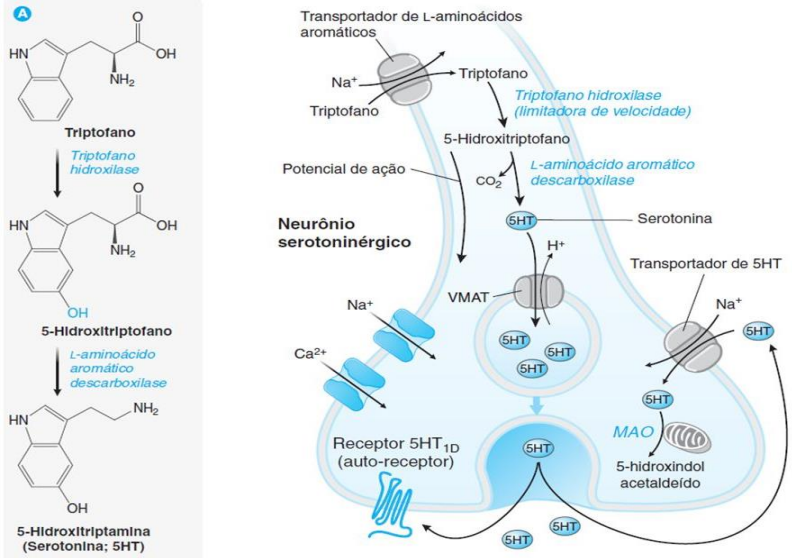
Estudos psicofarmacológicos demonstraram que os neurotransmissores dopamina, glutamato e serotonina poderiam estar envolvidos na fisiopatologia da EQZ (JAVIT; ZUKIN, 1991; KANE et al., 1988). Durante muitos anos, acreditou–se que a EQZ poderia ser explicada como resultado de uma alteração na função dopaminérgica cerebral (CARLSSON et al., 1978; MELTZER; STAHL, 1976; REYNOLDS, 1983; SEEMAN et al., 1976). Essa hipótese era fundamentada pela eficácia da ação dos antipsicóticos antagonizando os receptores de dopamina. Porém essa eficiência mostrou–se apenas parcial, não englobando os outros sintomas presentes no transtorno (CARLSSON et al., 1978; JOHNSTONE et al., 1978; REYNOLDS, 1983). Posteriormente, com o desenvolvimento de novas classes de antipsicóticos que atuavam tanto em receptores de dopamina quanto no de serotonina, estudos psicofarmacológicos atuais buscaram entender o envolvimento de outros importantes neurotransmissores na fisiopatologia, como a serotonina (PATEL et al., 2014).

3.1.4 Hipótese Serotoninérgica

A hipótese serotoninérgica foi proposta, em 1950, sugerida pelos efeitos da dietilamida do ácido lisérgico (LSD) que é um composto semelhante quimicamente à serotonina. Porém as evidências da dopaminérgica fizeram com que a de serotonina fosse deixada de lado até o final da do ano 1980. A partir do surgimento dos antipsicóticos atípicos, retornaram essa teoria, ao se observar que a medicação apresentava maior afinidade pelos receptores de serotonina, quando comparada aos de dopamina. O LSD ocupa sítios nos receptores serotoninérgicos, provocando alucinações e distúrbios sensoriais parecidos ao de uma crise aguda de esquizofrenia, reforçando então essa hipótese (IGBAL; VAN PRAAG, 1995).

A serotonina (5Hidroxitriptamina– 5HT) é um importante neurotransmissor relacionado a processos fisiológicos, como apetite, sono, termorregulação, percepção da dor, secreção hormonal e comportamento sexual. A hipótese da serotonina propõe que esse neurotransmissor tenha um papel importante na etiologia da esquizofrenia, já que receptores de serotonina estão envolvidos nas propriedades psicomiméticas e psicotogênicas de alucinógenos e na ação de antipsicótico. Há sugestões de que a função trópica da serotonina no neurodesenvolvimento possa estar alterado. A serotonina é formada, a partir do aminoácido triptofano pela enzima triptofano hidroxilase (TPH 1 e TPH2) que irá converter o triptofano em 5–hidroxitriptofano. Posteriormente, a L–aminoácido aromático descaboxilase converterá o 5HT em serotonina. Como outros neurotransmissores, 5HT é liberado na junção sináptica e exerce seu efeito sobre receptores específicos na membrana pós–sináptica (MIYAMOTO et al., 2003; SPARKES et al., 1991).

Figura 1 – Síntese de serotonina e regulação pré–sináptica da neurotransmissão de serotonina

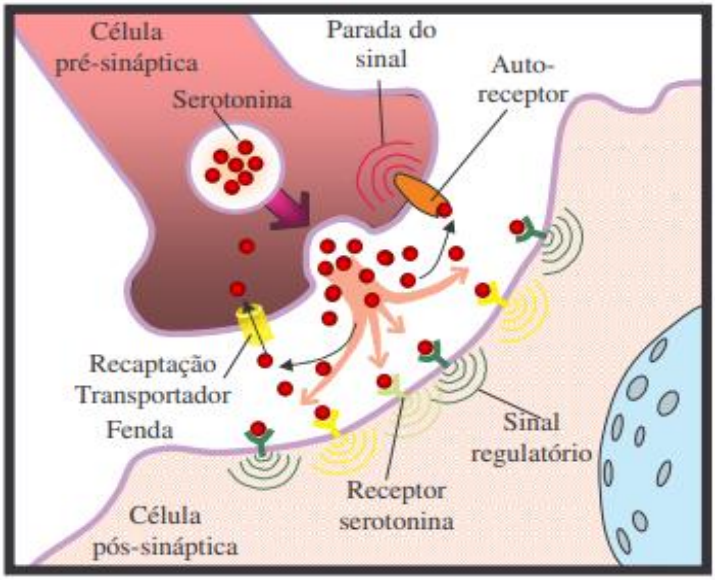


Fonte: Golan et al. (2012).

3.1.5 Receptores Serotoninérgicos

Diversos estudos investigando os receptores 5–HT conhecidos estão envolvidos na ação da serotonina. Entre os receptores 5–HT, o receptor 5–HT do subtipo 2A é altamente expresso no neocórtex, na região límbica e nos gânglios da base e tem sido focado, como um dos principais alvos de antipsicóticos atípicos, como a olanzapina e clozapina, por estudos de afinidade e ligação de receptores (MITA et al., 1986).

Figura 2 – Representação esquemática dos transportadores e receptores envolvidos na transmissão de estímulos neuronais na via serotoninérgica



Fonte: Google imagens, adaptado de http:pharma.kolon.co.kr

3.1.6 Tratamento

A assistência em saúde mental no Brasil tem se modificado ao longo de 42 anos de enfrentamento. No ano de 1978 ocorreu o início do movimento social pelos direitos dos pacientes psiquiátricos no Brasil. O Movimento dos Trabalhadores em Saúde Mental, com início também nesse ano, destacou–se como um movimento formado por trabalhadores integrantes do movimento sanitário, associação de familiares sindicalistas, membros de associações de profissionais e pessoas com longo histórico de internações psiquiátricas que denunciaram as violências ocorridas nos manicômios, criticaram o modelo hospitalocêntrico de assistência aos pacientes com transtornos mentais e questionaram a estigmatização e isolamento social, com um entendimento de que os pacientes, como sujeitos de direitos, precisam ser respeitados como seres humanos (BRASIL, 2005).

A partir disso, surgiram as primeiras propostas e ações para modificações da assistência à saúde. Conquistas importantes ocorreram, como a reorientação da assistência psiquiátrica hospitalar à assistência psiquiátrica comunitária, como, por exemplo, o surgimento, em 1987, do Centro de Atenção Psicossocial (CAPS) primeiramente na cidade de São Paulo. No ano de 1992, baseado no Projeto de Lei do deputado Paulo Delgado de Minas Gerais, conseguiu–se aprovar, em vários estados brasileiros, o Projeto de Lei no Congresso Nacional, propondo a regulamentação dos direitos dos pacientes com transtornos mentais e eliminação gradativa dos manicômios. Com a qualificação de práticas de saúde mental, então, o tratamento, em casos de crise psiquiátrica, começou a ser realizado, em primeiro lugar, pelos CAPS. Em casos mais graves, com necessidade de internação, os hospitais gerais e/ou serviços hospitalares de referência a transtornos mentais realizaram esses acolhimentos (OLIVEIRA, 2012). Ocorreu então uma substituição de tratamentos centrados em internação hospitalar, para um modelo com foco em cuidado clínico diário, multiprofissional, promovendo a reabilitação clínica e social dos pacientes (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE – OMS, 2001).

A esquizofrenia, no contexto atual, é frequentemente tratada com administração de psicofármacos, psicoterapia e modificações sociais. O tratamento farmacológico passou por diversas alterações, nas últimas décadas, sendo primitivamente utilizadas substâncias, como cocaína (BECKER, 1921), manganês (REED, 1929), óleo de castor (INGHAM, 1930) e injeções de óleo sulfúrico para a indução de febres (CROCE, 1932; LEHMANN, 1993). Outras condutas de destaque compreendiam a terapia do sono e o coma induzido por insulina (BAN, 2001).

O primeiro tratamento amplamente utilizado com uma relevante aceitabilidade foi o antipsicótico clorpromazina, em 1952, na Europa (BAN, 2001). Em seguida, em 1959, uma nova classe de medicamentos denominados butirofenonas, tendo como substância base o haloperidol (JANSSEN, 1996), ganhou destaque no tratamento. Essas medicações foram inicialmente chamadas de neurolépticas, cuja denominação era em virtude dos efeitos extrapiramidais, hoje são mais comuns conhecidos como antipsicóticos de primeira geração ou típicos (KAPUR; REMINGTON, 2001). Os antipsicóticos apresentam ação de antagonizar os receptores de dopamina D2, nos quais o mecanismo de ação é a inibição da enzima adenilato ciclase, bloqueando o efeito da dopamina endógena e diminuindo os sintomas positivos (GOLAN et al., 2009).

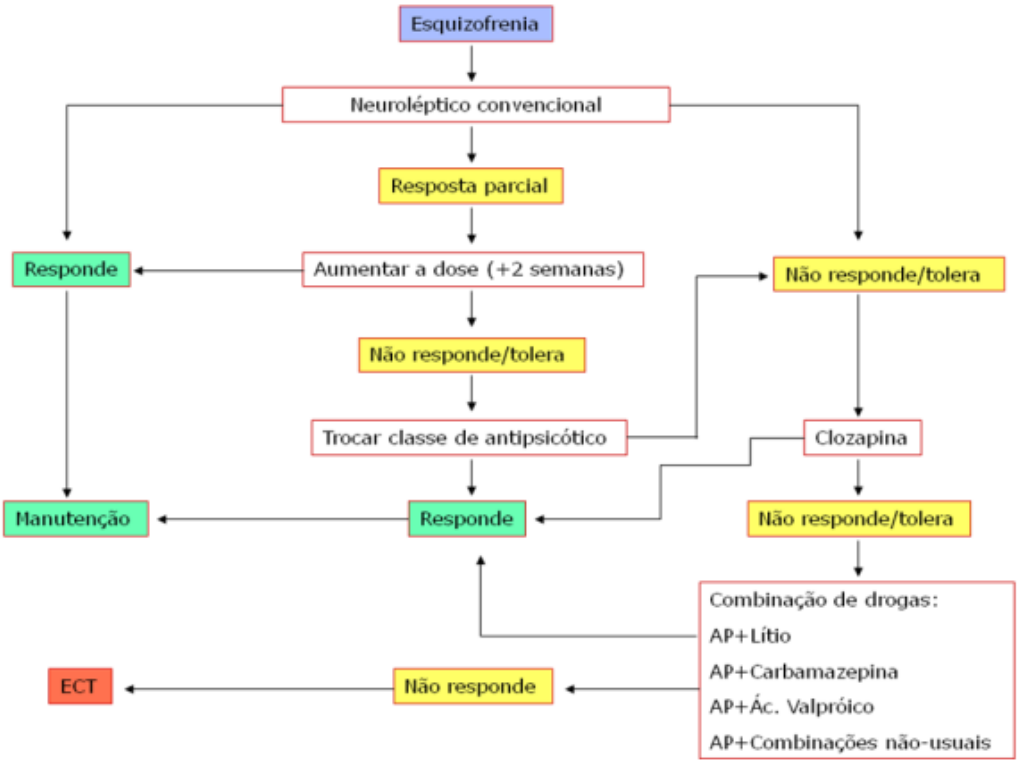
Apesar dos avanços com o desenvolvimento dos antipsicóticos de primeira geração, observaram–se diversos efeitos colaterais nos pacientes, como discinesia tardia e menores efeitos terapêuticos em sintomas negativos e cognitivos. Assim, a partir de 1971, desenvolveram os primeiros antipsicóticos atípicos ou de segunda geração, como a Clozapina (PARK et al., 2014). Esses medicamentos evidenciam vantagens por terem um espectro de atuação mais elevado, em especial, nos sintomas negativos, cognitivos e relacionados ao humor. Além disso, apresentam maior segurança em relação às manifestações de efeitos colaterais motores agudos e de longa duração (BOTLENDER et al., 2000; KAPUR; REMINGTON, 2001; MELTZER, 2004; TANDON; CARPENTER; DAVIS, 2007). A prescrição desses antipsicóticos atípicos são priorizados em casos de refratariedade da esquizofrenia, quando os pacientes não respondem a dois ou mais antipsicóticos de primeira geração, conforme representado na Figura 3 (SAMARA et al., 2019).

Os medicamentos antipsicóticos padronizados e oferecidos, gratuitamente, desde 2013, pelo Ministério da Saúde ao tratamento de EQZ são: clorpromazina, risperidona, haloperidol, ziprasidona, olanzapina, clozapina e quetiapina (BRASIL, 2013). Segundo o protocolo de tratamento, esses antipsicóticos apresentam eficácia comparável, com exceção da clozapina que é utilizada somente em casos refratários aos outros medicamentos. Existem dúvidas, entretanto relacionadas a essa semelhança (ALVAREZ, 2012; BRASIL, 2013).

Apesar da utilização farmacológica ser a base do tratamento da EQZ, observa–se que os sintomas residuais podem persistir. Por esse motivo, é necessário que o tratamento não farmacológico, como psicoterapia, aconteça para auxiliar o paciente (DICKERSON; LEHMAN, 2011). As abordagens psicoterapêuticas podem ser individuais, em grupo e cognitivo–comportamental, contribuindo nos tratamentos, ajudando na adesão ao tratamento medicamentoso, visto que a não adesão varia de 37% a 74% dependendo do relatório

(MORKEN et al., 2008). Um ensaio clínico multicêntrico randomizado, comparando o tratamento medicamentoso da EQZ com o tratamento multiprofissional, mostrou que a utilização de equipes de saúde com abordagem mais abrangente pode melhorar a condição clínica e social dos pacientes (KANE et al., 2015).

Figura 3 – Algoritmo para o tratamento da esquizofrenia



Legenda: AP= antipsicótico; ECT= eletroconvulsoterapia; AP= antipsicótico; ECT= eletroconvulsoterapia.
Fonte: Brasil (2002).

3.1.7 Esquizofrenia Refratária e Clozapina

A utilização da clozapina ao tratamento de esquizofrenia teve início, em 1960, mas pela descoberta que agranulocitose provocada pela medicação levava à morte de pacientes, foi suspensa na maior parte do mundo ocidental em 1975. Logo depois, retornou ao tratamento após observarem seus benefícios em pacientes refratários ao tratamento com outras medicações (ASENJO–LOBOS et al., 2010; ESSALI et al., 2009). A clozapina foi primeiramente produzida pela indústria Sandoz em 1959, e o primeiro antipsicótico de segunda geração a ser utilizado nos Estados Unidos na década de 1989. No Brasil, foi lançada comercialmente em 1992. Observou–se uma superioridade na eficácia, em comparação com os antipsicóticos de primeira geração, impulsionando o desenvolvimento de outros medicamentos da mesma classe

(BRASIL, 2013; NATIONAL COLLABORATING CENTRE FOR MENTAL HEALTH, 2014).

A primeira experiência de normatizar critérios de refratariedade para a esquizofrenia foi realizada, em 1988, por Kane e colaboradores, ao compararem a eficiência terapêutica entre a Clorpromazina e a Clozapina. Seguindo o referencial do DSM, os pacientes foram selecionados, tendo todos realizado tratamento farmacológico previamente com neurolépticos, no período de cinco anos, sem resposta satisfatória na diminuição dos sintomas psicóticos típicos. Observou–se maior eficácia da Clozapina, quando comparada com a Clorpromazina, em todos os aspectos da sintomatologia da EQZ (KANE et al., 1988).

A clozapina, um derivado sintético da dibenzo–diazepina, liga–se a vários receptores do sistema nervoso central e exibe um perfil farmacológico singular. Essa medicação é um antagonista de serotonina, com forte ligação ao subtipo de receptor 5HT 2A/2C, exibe intensa afinidade com vários receptores dopaminérgicos, mas mostra–se apenas um antagonismo fraco no receptor D2 de dopamina, um receptor geralmente pensado para modular a atividade neuroléptica (GARAY et al., 2016). Sua utilização está associada à menor incidência de efeitos extrapiramidais, porém pode causar efeitos colaterais, como: agranulocitose, elevações de aminotransferase e, em casos raros, lesão hepática aguda clinicamente aparente. Isso requer a descontinuação imediata da terapia e monitoramento durante o tratamento. Sua indicação é guardada, em sua maioria, para pacientes refratários e a pacientes com alto risco de suicídio (FITTON; HELL, 1990; JANN et al., 1993; SMPC CLOZAPINE, 2019).

Para iniciar o tratamento com a clozapina, o SUS padronizou duas opções: comprimidos orais de 25 mg e 100mg. Recomenda–se iniciar o tratamento com 12,5 mg pela noite e progressivamente aumentar a dose em 25mg a cada um a dois dias até alcançar o intervalo de 300 a 400mg/dia. Não apresentando melhora, após 30 dias de tratamento, pode aumentar a dose em 50mg por dia a cada três a quatro dias até o máximo de 800mg/dia. Para uma melhor tolerância do medicamento , as doses superiores a 400mg poderão ser fracionadas. Os pacientes em tratamento precisam apresentar hemogramas mensais para a realização de um controle dos efeitos colaterais (BRASIL, 2013).

3.1.8 Farmacogenômica, Farmacogenética e Esquizofrenia Refratária

O termo farmacogenômica foi determinado, em 1990, com o surgimento do Projeto Genoma Humano e o desenvolvimento das ciências do genoma (RISCH, 2000). A farmacogenômica é um ramo da ciência que analisa como toda a composição genética de um

indivíduo pode influenciar suas respostas ao tratamento medicamentoso pelo controle da farmacocinética e farmacodinâmica das medicações. A farmacogenética dentro da farmacodinâmica vai verificar a ação de um gene específico ou um conjunto de genes e sua repercussão no tratamento. Esses estudos contribuem para um esclarecimento de doenças específicas, bem como questões relacionadas à efícácia e não adesão a antipsicóticos, duração de tratamento com benefícios precoces de resposta e maior efeito da clozapina (LALLY et al., 2016).

Os primeiros estudos com abordagens farmacogenéticas analisaram grupos de genes que pareciam envolvidos com o distúrbio específico, sendo denominados genes candidatos. A partir disso, pesquisas em pacientes com esquizofrenia refratária analisaram os efeitos de variações nos genes responsáveis pelos efeitos adversos, metabolismo e efetividade da clozapina. Em uma revisão de literatura, identificaram 59 estudos farmacogenéticos, contendo a identificação de 14 polimorfismos em nove genes. Entre os achados, verificaram genes de serotonina relacionados à resposta a clozapina, reforçando a hipótese da modulação serotoninérgica envolvida no desenvolvimento da esquizofrenia, porém esses estudos não foram consistentemente replicados (GRESSIER et al., 2016).

Observa–se que nenhum polimorfismo isolado é capaz de predizer a resposta à clozapina, mas, quando associada a outros polimorfismos em vários genes, essa resposta pode ser possível. Pensando nisso, um estudo de referência, realizado por Arranz, em 2000, desenvolveu um teste combinando seis polimorfismos diferentes nos genes relacionados aos receptores de neurotreansmissores. Os achados resultaram em 77% de sucesso na previsão da resposta à clozapina. Esse estudo foi a primeira demonstração de que a farmacogenômica poderia ser usada, para melhorar os tratamentos psiquiátricos, e esse teste foi posteriormente comercializado (ARRANZ; MUNRO; BIRKETT, 2000). No entanto essa descoberta foi pouco replicada, e o teste foi retirado do mercado (SCHUMACHER et al., 2000).

Apesar dos avanços nos campos da farmacogenômica, observa–se que vários fatores contribuem para a dificuldade de implantação de testes genéticos. A esquizofrenia é um transtorno heterogêneo, caracterizado por uma variabilidade em sua clínica, em que torna o fenótipo desafiador para uma avaliação com convicção. Ainda que a esquizofrenia refratária possa reproduzir um tipo distinto e mais uniforme da esquizofrenia, é possível que a diversidade restante continue a dificultar os sinais genéticos verdadeiros. É necessário, contudo que novas pesquisas ocorram para aumentar o entendimento da influência genética no desenvolvimento da EQZ (HOWES; KAPUR, 2014).

3.2 GENÉTICA DA ESQUIZOFRENIA

As pesquisas científicas em genética, relacionando a esquizofrenia, iniciaram em 1916. A ocorrência da esquizofrenia em populações traz à tona a questão da natureza genética do transtorno. Kraepelin observou, em suas primeiras descrições, que um forte componente herdado para o processo do transtorno estaria presente (DELISI, 1997). Em um estudo transcultural, ocorrido em 1992, concluiu que a esquizofrenia aparece com incidência semelhante em diferentes países e apresenta características clínicas que são mais marcantes em razão de suas similaridades com as populações que por suas diferenças. Por essa generalização, parece que o componente genético, para a esquizofrenia, seria mais forte que o ambiental (LIEBERMAN et al., 1992).

Os estudos atuais que investigam a carga genética da EQZ são divididos em duas abordagens: estudos genético–moleculares e genético–epidemiológicos. Com base nas indicações provenientes dos estudos genético–epidemiológicos, as pesquisas genéticas moleculares buscam identificar os genes envolvidos na etiologia da EQZ e quais papéis representam nesse processo, para que, assim, os tratamentos existentes possam avançar em suas efetividades.

3.3 ESTUDOS GENÉTICO–EPIDEMIOLÓGICOS

3.3.1 Estudos de famílias

Em meados do século XIX, iniciaram–se os estudos relacionando a esquizofrenia com determinadas famílias. O psiquiatra Rudin, na Alemanha em 1916, conduziu o estudo pioneiro, para verificar a hipótese de influência do componente genético no desenvolvimento da esquizofrenia, seguido de diversos outros estudos, confirmando maior ocorrência de EQZ em determinadas famílias. Com a identificação de problemas em suas metodologias, como a inexistência de parâmetros claros ao diagnóstico pelo embasamento em relatos diagnósticos familiares, as pesquisas começaram a incluir grupo–controle, abordagem cega para os entrevistados e critérios diagnósticos, como o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais. Apesar disso, os resultados continuaram parecidos com os estudos pioneiros. As pesquisas identificaram que os indivíduos que apresentam predisposição familiar, para desenvolver a doença, possuem diversas alterações estruturais no cérebro, como ventrículos

aumentados e tamanho do cérebro diminuído (STEFAN et al., 2002; VALLADA FILHO; GARDNER, 2000).

Em uma análise desenvolvida por Zerbin–Rudin, em 1967, identificou–se que os filhos de pacientes com esquizofrenia apresentavam o risco de desenvolverem a doença 15 vezes maior que a população geral. Em relação aos parentes e irmãos, era 8,2% e 8,5%, respectivamente, isto é, 10 vezes maior. Já para os tios, sobrinhos e netos, encontraram 2%, 2,2% e 2,8%, respectivamente (TSUANG; VANDERMEY, 1980). Uma revisão conduzida por Gottesmann, em 1991, elencou 40 estudos genéticos de famílias entre os anos 1920 e 1987, na Europa e calculou o risco de desenvolver esquizofrenia em parentes dos pacientes. Observou–se que quanto mais próximo o grau de parentesco, maior era o risco médio. Por exemplo, em gêmeos monozigóticos de pacientes com EQZ, o risco de ocorrer esse transtorno era de 50%, já em primos e netos, o risco era próximo da população geral (GOTTESMANN, 1991).

Posteriormente, Kendler e Gardner (1997) elaboraram uma meta–análise incluindo três grandes estudos de família, constatando uma forte agregação à esquizofrenia. Isso contribuiu para a confirmação de trabalhos anteriores, os quais mostraram que o risco de apresentar EQZ, em familiares de primeiro grau, era 10 vezes maior que o risco em familiares–controle (KENDLER; GARDNER, 1997).

Estudos de família e adoção mostram que o risco de desenvolver esquizofrenia tem uma grande contribuição genética de até 80%. Nos últimos anos, pesquisas de associação, em larga escala, em todo o genoma, identificaram mais de 100 genes que podem contribuir para a fisiopatologia da EQZ (SCHIZOPHRENIA WORKING GROUP OF THE PSYCHIATRIC GENOMICS CONSORTIUM, 2014).

3.3.2 Estudos em gêmeos

Alguns estudos demonstraram o risco de gêmeos desenvolverem esquizofrenia e, em relação a gêmeos monozigóticos, o risco de um gêmeo apresentar o transtorno é de 48% se o outro já apresentar a doença. A observação da penetrância parcial indica que os fatores ambientais podem estar envolvidos no desenvolvimento da patologia. Em relação a gêmeos dizigóticos, o risco encontrado foi de 12% a 14%. Se ambos os pais apresentarem esquizofrenia, o risco de gerar um filho com EQZ é de aproximadamente 40% (McDONALD; MURPHY, 2003).

Outras pesquisas, analisando crianças adotadas, ocorreram para determinar se o risco de EQZ é proveniente dos pais biológicos ou do ambiente em que a criança é criada. Elas

mostraram que as mudanças no ambiente tendem a não afetar o risco de desenvolver EQZ em crianças nascidas de pais biológicos com a doença (BECK et al., 2009; JENTSCH; ROTH, 1999). Uma base genética para o transtorno é apoiada ainda por descobertas de que irmãos com EQZ geralmente experimentam o início do distúrbio na mesma idade (CRISMON et al., 2014).

Os estudos mostraram, sistematicamente, a presença de uma associação genética na etiologia da esquizofrenia, por meio da presença de maior risco de incidência entre familiares de pacientes com a doença. Essa constatação deve–se, em sua maioria, ao elemento genético (GOTTESMAN; SHIELDS, 1976). Os modelos monogênicos foram rejeitados, após análises criteriosas de segregação, confirmando a hipótese poligênica. A esquizofrenia apresenta um padrão de transmissão complexo, como tem demonstrado diversos estudos de base genéticos repetindo padrões de outras patologias.

3.4 ESTUDOS GENÉTICO–MOLECULARES

A partir de 1980, estudos genético–moleculares têm buscado genes de vulnerabilidade para o desenvolvimento da esquizofrenia. Essas pesquisas baseiam–se na ligação genética que pode ser entendida como duas regiões gênicas ou loci, localizadas no cromossomo, as quais tendem a ser herdadas juntamente. Nessas investigações, utilizaram então marcadores moleculares de determinadas regiões cromossômicas. Como consequência, ocorreu uma sinalização de regiões que apresentam genes relacionados ao transtorno. Diversos estudos descreveram regiões cromossômicas que poderiam abrigar genes associados à esquizofrenia, sendo que mais de dez locus de cromossomos diferentes já foram relacionados à doença (MIRNICS et al., 2001; SHERRINGTON et al., 1988).

Os estudos de associação são marcados por uma hipótese levantada de algum gene que possa ter algum envolvimento na etiologia de um transtorno, a partir do qual irá verificar a frequência de um polimorfismo (variação gênica). Diante disso, será avaliado se apresenta diferença significativa entre um grupo de pessoas que apresenta a doença e outro grupo saudável. A relevância desses estudos, em transtornos poligênicos e multifatoriais, como a esquizofrenia, está em favorecer a descoberta de genes que atuam no seu desenvolvimento, para que assim sejam desenvolvidas estratégias de aprimoramento nos tratamentos (NORTON; OWEN, 2004).

Diversos polimorfismos, presentes nos genes dos neurotransmissores, ganharam destaque nos estudos de associação nos últimos anos. Com o desenvolvimento dos antipsicóticos típicos, os genes que codificam o sistema dopaminérgico estimaram o interesse,

para os estudos moleculares em pacientes portadores de esquizofrenia, pois antagonistas dopaminérgicos melhoram os sintomas dessa patologia, e agonistas agravam esses mesmos sintomas. No entanto, com a descoberta dos antipsicóticos de segunda geração, os genes do sistema serotoninérgico começaram a ser investigados.

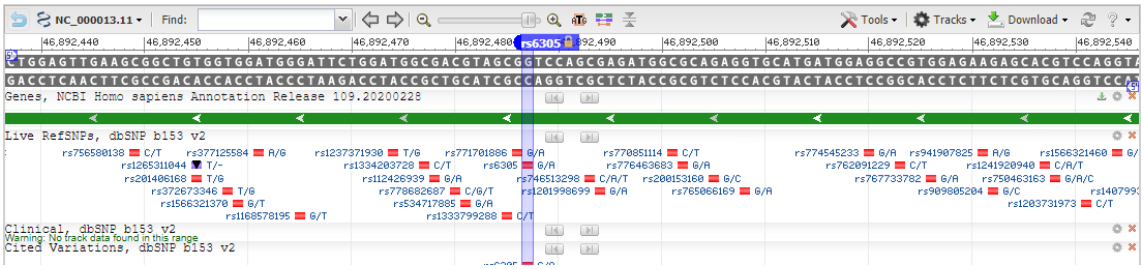
3.4.1 Gene 5HT2A

O gene 5–HT2A foi mapeado, em 1991, no cromossomo 13q14.2, conhecido como uma região cromossômica promissora e que poderia conter genes candidatos à esquizofrenia por meio de alguns estudos de ligação. Uma meta–análise de varreduras de ligação de genoma inteiro confirmou a ligação entre a esquizofrenia e marcadores no braço longo desse cromossomo 13.O gene 5–HT2A consiste em 3 éxons separados por 2 íntrons e se estende por mais de 20 kb .O 5–HT2A está acoplado à proteína G (GPCR), na qual sua ativação leva à estimulação da enzima fosfolipase C e à subsequente hidrólise dos fosfoinositídeos da membrana, com a síntese dos segundos mensageiros, trifosfato de inositol e diacilglicerol (SPARKES et al., 1991).

3.5 SNP RS6305

O polimorfismo também conhecido como C516T ocorre uma troca de bases de citocina (C) para timina (T) no exon 2. Ele não modifica a sequência dos aminoácidos, não tendo influência na proteína do receptor (WARREN et al., 1993). Ainda são escassos estudos investigando a associação com o desenvolvimento da EQZ, porém uma pesquisa recente identificou uma associação desse polimorfismo com a resistência ao tratamento com antipsicóticos mais frequentemente associados à não resposta ao tratamento (KAUR et al., 2017).

Figura 4 – Representação do polimorfismo rs6305 no gene 5HT2A.

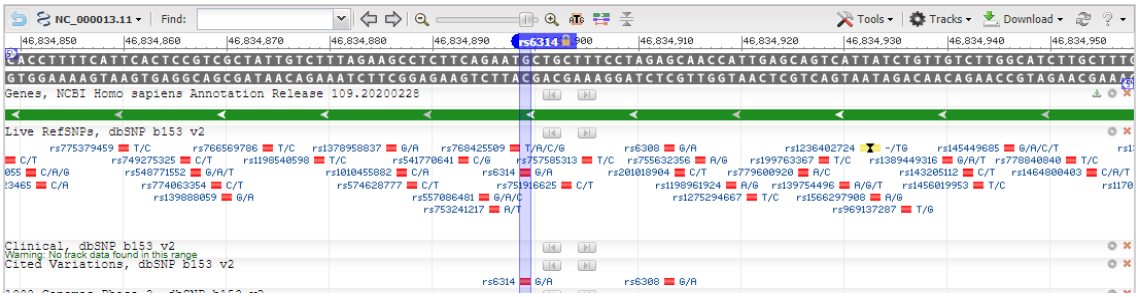


Fonte: National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (2020).

3.5.1 SNP rs6314

O polimorfismo rs6314 codifica uma histidina básica (His) para uma tirosina (Tyr) com a substituição do aminoácido na posição 452. Essa substituição na posição 452 ocorre, no meio intracelular da cauda carboxil–terminal do receptor HTR2A, podendo acarretar alterações na função do receptor e em estrutura terciária. A forma Tyr, que é por causa de um alelo mutato T, pode existir em um estado parcialmente dessensibilizado em comparação com a forma dele original. Essa forma foi encontrada associada com menor amplitude de pico na mobilização Ca2+ (OZAKI et al., 1997). Além disso, parece também enfraquecer a capacidade de dimerização entre HTR2A e DRD2, que geralmente formam um complexo in vivo, em comparação com o tipo mutado. Curiosamente, clozapina é capaz de equilibrar esse defeito pela variante Tyr aumentando a força da dimerização na forma mutada (GRESSIER et al., 2016; HARVEY et al., 2003; LUKASIEWICZ et al., 2011).

Figura 5 – Representação do polimorfismo rs6314 no gene 5HT2A



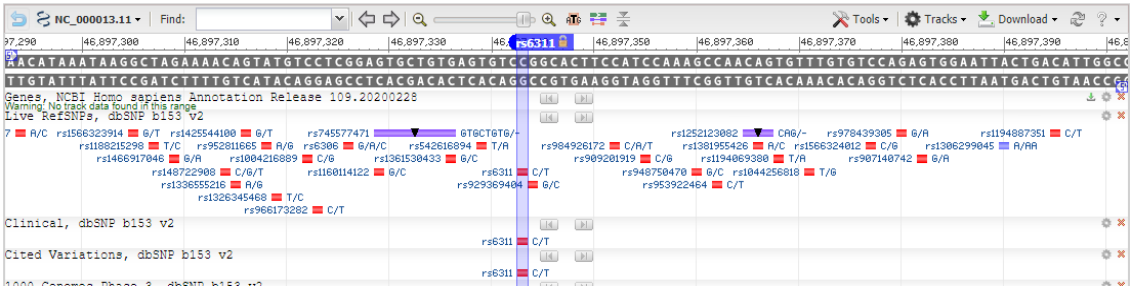
Fonte: National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (2020).

3.5.2 SNP rs6311

O polimorfismo rs6311, também conhecido como –1438G/A, é uma substituição do nucleotídeo guanina (G) por uma adenina (A) na posição –1438 da região promotora do gene 5HT2A. Esse polimorfismo foi relacionado à modulação da atividade promotora desse gene em

transtornos psiquiátricos (PARSONS et al., 2004). Cinco estudos investigaram associação entre esse polimorfismo e a resposta à clozapina, com resultados controversos. Alguns pesquisadores encontraram em dois estudos que homozigotos GG tiveram menor resposta à clozapina (Arranz et al., 2000b, 1998a), enquanto outros estudos não encontraram nenhuma associação (LEE et al., 2012; MASELLIS et al., 1998; SCHUMACHER et al., 2000).

Figura 6 – Representação do polimorfismo rs6311 no gene



Fonte: National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (2020)

3.6 ENFERMAGEM, GENÉTICA E GESTÃO DE SERVIÇOS DE SAÚDE

Os avanços provenientes dos estudos relacionados ao genoma proporcionaram mudanças importantes no processo de entendimento da saúde humana e doença. A enfermagem atua na área de genética desde 1966, ganhando destaque inicialmente na saúde materno–infantil e comunitária. Somente em 1980, definiu–se, pela primeira vez no grupo transdisciplinar de aconselhamento genético, a importância e o papel da enfermagem geneticista (FEETHAM; WILLIAMS, 2004).

Posteriormente, em 1988, ocorreu a fundação da Sociedade Internacional dos Enfermeiros Geneticistas (International Society of Nurses in Genetics – ISONG), composta inicialmente por oito enfermeiros, cujo principal objetivo era cuidar da saúde genética das populações. Atualmente, abrange todos os continentes e conta com 400 membros, atuantes em diversos setores, como hospitais públicos e privados, academia, saúde pública juntamente com ações governamentais, neurogenética, genética pré–natal, câncer, psiquiatria, dentre outros (FEETHAM; WILLIAMS, 2004). Em 1998, a ISONG formulou e conseguiu a aprovação do documento The Scope and Standards of Genetic Clinical Nursing Practive, determinando as normas e diretrizes, a respeito da prática de enfermagem, na área de genética humana, em caráter mundial, estabelecendo definições e os níveis de competência para a atuação profissional (AMERICAN NURSES ASSOCIATION, 1998).

A atuação de enfermagem em genética no Brasil é recente. A Sociedade Brasileira de Enfermagem em Genética (SOBREGEN) foi fundada, em 2017, colaborando com a evolução da enfermagem na área. Essa Sociedade é caracterizada pelo comprometimento com o serviço de assistência qualificada, pesquisas, ensino em genética e formação do enfermeiro com título de especialista, conforme a resolução nº 581/2018 do Conselho Federal de Enfermagem (COFEN).

O cuidado de saúde fundamentado na combinação do genoma humano e influências ambientais busca a realização de diagnóstico, a prevenção e a terapêutica pelo conhecimento dos genes. O enfermeiro é fundamental nesse processo, por ser o profissional que apresenta maior carga horária de trabalho, em contato direto com os pacientes, propiciando a observação de mudanças no quadro clínico e oferecendo informações a respeito de diagnósticos. Os profissionais atuam como conselheiros e educadores na área contribuindo, para ampliar o conhecimento dos profissionais, em relação aos aspectos biológicos e psicossociais do processo saúde–doença, transformando o modo de assistência à população. (FEETHAM; WILLIAMS, 2004; JENKINS; LEA, 2005).

A realização de rastreamento genético de populações, nos campos das doenças psiquiátricas, realizado por enfermeiros, é uma área pouco explorada, porém de grande relevância para melhorar a assistência prestada. O conhecimento da genética de transtornos, como esquizofrenia, pode contribuir para a qualificação da gestão do cuidado prestado pela enfermagem psiquiátrica, principalmente, pela proximidade da relação do profissional com o paciente. Além disso, o entendimento da influência genética contribui para a atuação de equipes multiprofissionais, nas melhores escolha de antipsicóticos, evitando a utilização de várias classes de medicamentos, diminuindo os gastos públicos e o sofrimento causado pelo transtorno.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 TIPO DE ESTUDO

Refere–se a um estudo genético–molecular, retrospectivo e analítico, do tipo caso–controle. O estudo de caso–controle tem como objetivo verificar se um grupo de indivíduos que apresentam alguma determinada doença, no presente estudo a esquizofrenia (caso I e II), em comparação com outro grupo saudável (controle), evidenciam diferenças significativas em relação à exposição. O grupo caso I abrange pacientes com esquizofrenia refratária em uso do antipsicótico atípico clozapina. Já o grupo caso II são pacientes com outros tipos de esquizofrenia. A partir de estudos de caso-controle, é possível verificar a presença ou ausência de associações entre variáveis de exposição e a ocorrência de doenças e, assim, propiciar o desenvolvimento de práticas terapêuticas eficientes (GORDIS, 2017).

4.2 POPULAÇÃO

A partir do Sistema Integrado de Gerenciamento da Assistência Farmacêutica (SIGAF), foram identificados, na Macrorregião Oeste de Minas Gerais, 169 pacientes que apresentavam o diagnóstico de esquizofrenia refratária, em utilização do antipsicótico atípico clozapina, de ambos os sexos, considerados a população elegível deste estudo. O SIGAF é um software importante que auxilia a utilização de dados farmacoeconômicos e farmacoepidemiolóficos precisos por meio da identificação de usuários e registros dos serviços farmacêuticos oferecidos. Assim, por meio dessa ferramenta foi possível verificar os pacientes que faziam utilização da clozapina, selecionando assim os que apresentavam esquizofrenia refratária. Vale ressaltar que este medicamento é considerado de alto custo, e por isso o paciente consegue recebe-lo de forma gratuita pelo governo.

Para os grupos casos I e II, a população foi extraída do sistema SIGAF, enquanto, para o grupo–controle saudável, foram coletados indivíduos provenientes do Centro Municipal de Apoio à Saúde (CEMAS) do município de Divinópolis – Minas Gerais. O CEMAS é o serviço de referência na coleta de material biológico e análise clínica na região. A escolha deste serviço não causou viés de seleção, pois o grupo controle era exclusivamente para comparação genética com os outros grupos. Realizou–se o pareamento por intervalo de idade e sexo, para diminuir alterações dos resultados, durante a avaliação das chances e, assim, compará–los de forma fidedigna.

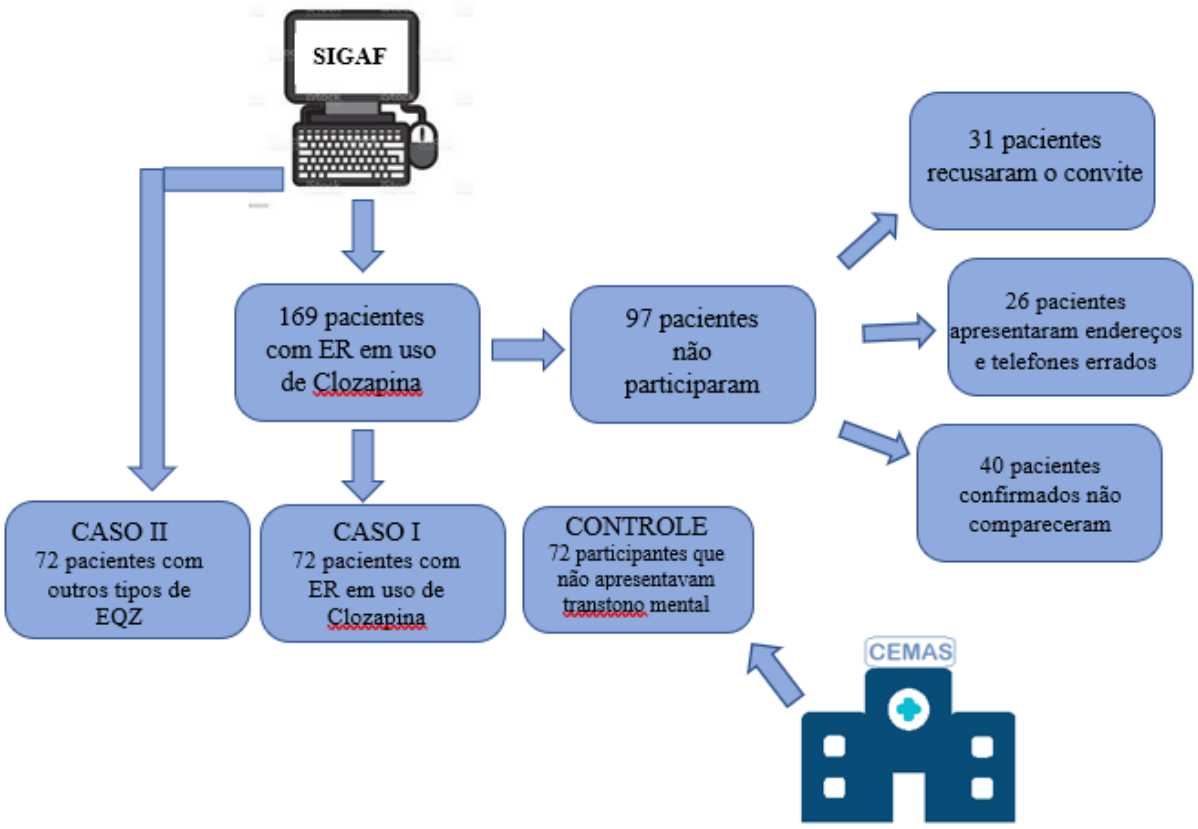
4.3 AMOSTRA

A partir do programa *OpenEpi versão 3.03a*, foi realizado o cálculo amostral, considerando a população da Macrorregião Oeste de Minas Gerais, portadores de esquizofrenia refratária. De 169 indivíduos elegíveis, foi considerada a proporção esperada de 50% e o nível de significância de 5% com margem de erro de 10%. Estimou–se então 72 participantes estando em concordância com pesquisas internacionais (DEAN; SULLIVAN; SOE, 2015; MALHOTRA et al., 2013; MITCHELL et al., 2013; NEBHINANI et al., 2013).

Os especialistas em epidemiologia apontam que a proporção de cada grupo, em estudos de caso–controle, seja de no mínimo 1:1. Assim, como a amostra de casos I foi de 72 participantes por recusa à participação, endereços e telefones fornecidos errados e ausência do dia da coleta, os outros dois grupos também consistiram em 72 participantes cada (GORDIS, 2017).

Na Figura 7, o organograma do processo de recrutamento dos participantes que participaram da pesquisa.

Figura 7 – Organograma do recrutamento dos participantes da pesquisa



Fonte: elaborado pela autora. SIGAF, SRS/Divinópolis/MG (2020).

4.3.1 Critérios de inclusão

4.3.2 Casos I

a) Pacientes com diagnóstico médico de esquizofrenia refratária em uso do antipsicótico atípico clozapina;
b) Possuir idade igual ou superior a 18 anos;
c) Estar cadastrado na Superintendência Regional de Saúde (SRS) de Divinópolis Minas Gerais.

4.3.3 Casos II

a) Pacientes com diagnóstico médico de outros tipos de esquizofrenia;
b) Possuir idade igual ou superior a 18 anos.

4.3.4 Controles

a) Não apresentar diagnóstico médico de qualquer transtorno mental;
b) Possuir idade igual ou superior a 18 anos.

4.3.5 Critérios de exclusão

Manifestar–se problemas que possam interferir na coleta de dados, como apresentar crise em razão da esquizofrenia e alterações cognitivas que impessam de refletir sobre as perguntas do questionário.

4.4 COLETA DE DADOS

Os participantes que apresentavam esquizofrenia refratária e outros tipos de esquizofrenia foram convidados a comparecer aos ambientes cedidos pelo Centro de Atenção Psicossocial (CAPs III), do município de Divinópolis, no período de dezembro de 2014 a julho de 2016. Os participantes do grupo–controle foram captados no Centro Municipal de Apoio à Saúde de Divinópolis (CEMAS), por meio de entrevistas presenciais. Ao comparecerem para o atendimento laboratorial de rotina, os pesquisadores abordavam explicando os objetivos da pesquisa. Ao aceitar, o prontuário eletrônico do participante era verificado para constatação de ausência de qualquer transtorno psiquiátrico e assim dava-se iníco a coleta de dados, seguido da coleta de material biológico.

Primeiramente, os 144 candidatos dos grupos que apresentavam esquizofrenia refratária e outros tipos de esquizofrenia foram convidados por cartas e contato telefônico (realizadas 10 chamadas telefônicas), nas quais recebiam orientações a respeito do estudo, os objetivos, importância da participação, data e hora da coleta. O grupo caso II não ocorreu recusa para participar do estudo. O CAPS disponibilizou duas salas que apresentavam banheiro, com todo o conforto e privacidade, para a realização da coleta, seguindo regras de assepsia, biossegurança e contendo todos os materiais e equipamentos necessários. Os responsáveis pela coleta de dados foram três enfermeiros e um técnico de enfermagem que realizava a coleta da amostra de sangue venoso. Os pesquisadores verificaram se os pacientes estavam estáveis e com previsão de alta para então realizar a coleta de dados. Após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A), os participantes dos grupos (caso I e II) responderam a um questionário semiestruturado, contendo questões sociodemográficas, comportamentais e clínicas (APÊNDICE B) e finalizando com a coleta de material biológico. Todos os profissionais receberam treinamento prévio para realizar a padronização dos instrumentos de coletas e assim, garantir a confiabilidade dos dados.

Em seguida, a coleta de dados prosseguiu com os participantes do grupo–controle, no CEMAS, seguindo o funcionamento do serviço. O indivíduo comparecia, para a realização de atendimento ambulatorial, sendo abordado para a participação da pesquisa e, estando de acordo, assinava o termo de consentimento livre e esclarecido TCLE (APÊNDICE A). Posteriormente, prosseguia a coleta de sangue somente uma vez. Essa coleta era realizada pela própria equipe de enfermagem do serviço. Para atingir o nº amostral necessário, foram realizadas sete visitas ao CEMAS.

4.4.1 Coleta do Material Biológico

A coleta de sangue venoso foi realizada por um técnico de enfermagem capacitado, em uma sala privativa cedida pelo CAPs III previamente limpa, seguindo os princípios de biossegurança e assepsia. A coleta foi armazenada, em um tubo a vácuo com anticoagulante ácido etilenodiamino tetra–acético (EDTA), contendo 5mL de sangue de cada paciente devidamente identificado. Da mesma forma, foi realizada a coleta do grupo–controle em uma sala de enfermagem do CEMAS. Imediatamente após as coletas, as amostras foram encaminhadas ao laboratório de Biologia Molecular da Universidade Federal de São João Del–Rei/ Campus Centro–Oeste, sendo acondicionada a uma geladeira a 4ºC até o início dos experimentos de extração de DNA.

4.5 ANÁLISE LABORATORIAL

4.5.1 Extração do DNA

A extração de DNA (ácido desoxirribonucleico) foi realizada por dois métodos: *salting out* e Mini Kit QIAmp DNA Blood, seguindo o protocolo do fabricante. Posteriormente às técnicas de extração, foi realizada a quantificação do DNA para determinar as concentrações de DNA e o seu grau de pureza. Utilizou–se o espectofotómetro Nanodrop (Thermo Scientific – Nanodrop 2000).

4.5.2 Oligonucleotídeos

A sequência dos oligonucleotídeos utilizados, para a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) convencional do polimorfismo rs6305, foi baseada na publicação de Arranz et al.(1995). O tamanho do amplicon está descrito na Tabela 1 abaixo. Logo depois, a confirmação das sequências dos oligonucleotídeos foi feita no programa MultAlin (*http://multalin.toulouse.inra.fr/DisplayFam/*) e as suas localizações no gene 5HT2A no *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST). Para os polimorfismos rs6311 e rs6314, foi utilizada a técnica de PCR em tempo real, logo os oligonucleotídeos foram desenhados pela empresa Thermo Fisher juntamente com sondas específicas para a detecção de cada polimorfismo.

Tabela 1 – Oligonucleotídeos utilizados na PCR

SNP	Oligonucleotídeos Forward e Reverse 5' – 3'	Tamanho do amplicon (pb)
rs6305	GTATGGGTACCGGTGGCCTCT GTCCAAACAGCAATGATTTTCA	196pb
rs6314	CAAAGCAAGATGCCAAGACA GGCATACAGATATGATCGTTGG	248pb
rs6311	CTAGCCACCCTGAGCCTATG TTGTGCAGATTCCCATTAAGG	200pb

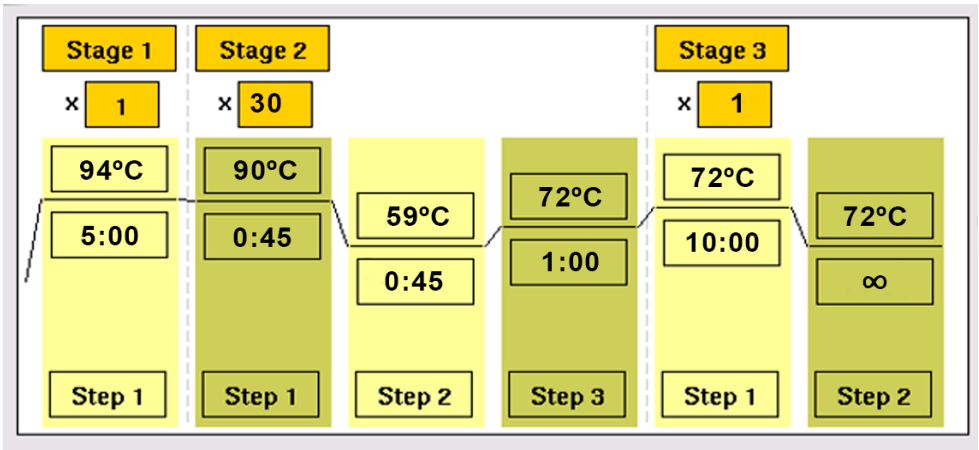
Fonte: Arranz et al. (1995), Erdmann et al. (1995) e Nöthen (1995)

4.5.3 PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Convencional para a genotipagem

Para a realização da PCR do polimorfismo rs6305, foi utilizado um volume final de 25µL, contendo 12,6µL de água MiliQ , 2,5 µL de tampão de Taq 10x (pHo neutria), 0,75µL de MgCl a 50mM/L, 5,0µL de dNTP a 1mM/L, 1µL de cada oligonucleotideo – *foward e reverse* a 10pMol/L , 0,15uL de taq DNA polimerase a 5U/µL (pHo neutria) e 2µL de DNA.

Controles negativos foram utilizados em todas as reações. O programa de ciclagem da PCR está descrito na Figura 8 e foi realizado no termociclador The Applied Biosystems Veriti 96–Well (Applied Biosystems).

Figura 8 – Programa para a reação de PCR convencional do polimorfismo rs6305



Legenda: Estágio 1 – Desnaturação 94º C por 5 minutos; Estágio 2: Anelamento 30 ciclos de 90ºC por 45 segundos, 59ºC por 45 segundos e 72ºC por 1 minuto; Estágio 3: Extensão 72º C por 1 minuto.
Fonte: Arranz et al. (1995).

4.5.4 Eletroforese

O resultado da PCR, para o polimorfismo rs6305, foi visualizado por meio da técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida a 8%. O fragmento gerado foi de 196 pb e, posteriormente, foi submetido à técnica de Restriction Fragment Lengh Polymorphism (RFLP) para a detecção do polimorfismo.

4.5.5 Genotipagem do polimorfismo rs6305 por RFLP

Após a realização da PCR convencional e eletroforese, a técnica de RFLP foi realizada, para a genotipagem do polimorfismo rs6305, utilizando a enzima *Sau96I*. Após a realização da reação, os tubos foram submetidos à temperatura de 37ºC por 60 minutos.

Tabela 2 – Protocolo de digestão enzimática com a enzima *Sau96I*

Reagentes	Concentração	Volume (µL)
Água (DDW)		11,5µL
Buffer	10x	2,5 µL
Enzima Sau96I		1,0 µL
Produto de PCR		10,0 µL

Fonte: Elaborado pela autora (2020).

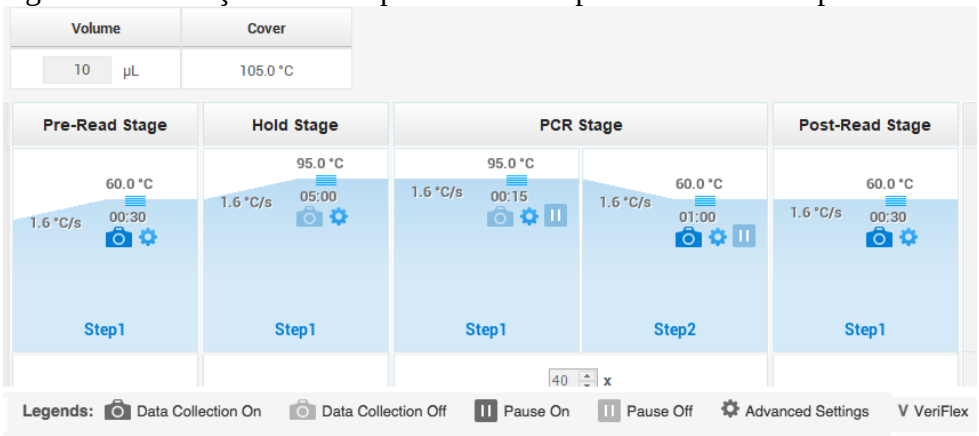
Posteriormente, os produtos das reações de digestão foram submetidos à análise de fragmentos por meio de uma nova eletroforese, em gel de poliacrialamida, a 8% corado com

nitrato de prata. Foram adicionados 7µL de produto de digestão, 2,5 µL de tampão de amostra e 2,5µ de padrão de peso molecular em cada gel realizado. Na presença do alelo C, o fragmento foi digerido em fragmentos de 109pb e 87pb, enquanto para o alelo T o fragmento d permaneceu não digerido, ou seja, com 196 pb.

4.5.6 PCR em tempo real

Foi utilizado o ensaio comercial da Applied Biosystems que emprega um conjunto de oligonucleotídeos e sondas específicas para cada um dos polimorfismos Para a realização da genotipagem dos polimorfismos rs6314 e rs6311, foi preparada uma solução, para cada um com volume total de 10µL por participante, contendo 6,25 µL de Água MiliQ, 2,5 µL de master mix universal TaqPath (contendo dNTP, tampão e DNA polimerase), 0,25 µL de Taqman específico e 1,0 µL de DNA a 50 ng/ µL. Posteriormente, as amostras foram colocadas no termociclador QuantStudio 3 ™ da Thermo Fisher, cujas temperaturas estão descritas na Figura 9.

Figura 9 – Condições das temperaturas e tempo na PCR em tempo real



Legenda: 60º C por 30 segundos, 95º C por 5 minutos e 40 ciclos compostos por desnaturação de 15 segundos em 95º C e 1 minuto de anelamento/ extensão em temperatura de 60º C.
Fonte: Aoolied Biosystems (2015).

Por meio da combinação das sondas alelo–específicas, ocorreu a discriminação alélica realizada por essa técnica. A fluorescência foi lida pelo termociclador para os alelos presentes na amostra. Caso os dois alelos estejam presentes, são lidos os dois tipos de fluorescência, demonstrados por meio de gráficos gerados pelo sofware do aparelho.

4.5.7 Equilíbrio de Hardy–Weinberg

O equilíbrio de Hardy–Weinberg (EHW) permite averiguar se uma determinada população está evoluindo com a avaliação da frequência de um alelo em determinado instante. Não ocorrendo mudança nas frequências do genótipo e dos alelos da população, ao longo do tempo, afirma–se que a população está em equilíbrio de Hardy–Weinberg. Alguns fatores, como mutação, seleção natural, migração e oscilação genética podem alterar a frequência dos alelos.

A análise do EHW foi realizada nos grupos de casos e controles pelo teste qui–quadrado de Pearson. Utilizou–se o programa Online Encyclopedia for Genetic Epidemiology Studies (OEGE), para os cálculos, comparando as frequências genotípicas encontradas com as frequências genotípicas esperadas obtidas pelo princípio do EHW.

4.6 TRATAMENTO DOS DADOS

Os dados coletados foram transcritos em um banco estruturado no *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 20.0

As análises descritivas dos dados foram realizadas com a utilização de frequências para descrever o perfil sociodemográfico e clínico dos participantes. Abordaram as variáveis sexo, estado civil, idade, renda familiar, número de filhos, escolaridade, local onde realiza tratamento, uso de tabaco, álcool, tempo de tratamento psiquiátrico, internação psiquiátrica anterior, entre outras.

As análises estatísticas apresentaram como finalidade descartar ou confirmar a associação entre o surgimento da esquizofrenia refratária e a exposição genética, utilização do teste estatístico Qui–Quadrado de Pearson (x^2) e, assim, comparar as frequências alélicas e genotípicas entre os grupos casos I, casos II e controles por meio da regressão logística simples (valor de Odds Ratio não–ajustado). Em seguida, foi realizado um modelo de dominância e recessividade entre os grupos de portadores de esquizofrenia refratária e o de controles para verificar a ocorrência do efeito entre eles. Para todos os testes foi utilizado um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4.7 QUESTÕES ÉTICAS

O estudo finalizado obedeceu a todas as normas preconizadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de São João Del–Rei – Campus Centro–Oeste Dona Lindu (UFSJ), localizado no município de Divinópolis. Além disso, seguiram–se os termos da Resolução Nº 466 de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), que aborda normas a serem seguidas em pesquisas, envolvendo seres humanos e os princípios de equidade, autonomia, justiça, beneficência, não maleficência, para a pesquisa quantitativa. Este estudo faz parte de uma pesquisa maior intitulada "Esquizofrenia Refratária: Prevalência dos polimorfismos dos genes DRD2 e DRD3 Síndrome Metabólica em Pacientes em uso de Clozapina" com recursos provenientes da sua aprovação pela FAPEMIG no Edital Universal nº 01/2018 com financiamento (R$ 44.641,67). O estudo contou também com a aprovação da Secretaria Regional de Saúde (BRASIL, 2013), apresentando o número do parecer no 1.406.658 (ANEXO B). Por fim, foi assinado o Termo de compromisso para a utilização de dados dos pacientes (APÊNDICE A).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão foram apresentados no formato de um artigo científico seguindo as normas do Programa de Pós–Graduação. Vale ressaltar que a preparação da dissertação seguiu as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Já no artigo foram adotadas as normas da revista escolhida para submissão.

5.1 ARTIGO 1 – ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS GENÉTICOS E ESQUIZOFRENIA REFRATÁRIA EM UMA POPULAÇÃO DO BRASIL

RESUMO

A esquizofrenia é considerada um dos transtornos mais graves e incapacitantes que afetam a população mundial. Nas últimas décadas, os estudos genéticos ganharam destaque na busca pelo entendimento de sua etiologia. Entre esses estudos os polimorfismos em genes do sistema serotoninérgico têm sido implicados no desenvolvimento da esquizofrenia. O objetivo deste estudo foi investigar se os polimorfismos rs6305, rs6314 e rs6311 do gene 5HT2A estão associados à esquizofrenia refratária e esquizofrenia geral em uma amostra brasileira. Trata–se de um estudo genético molecular do tipo caso–controle, retrospectivo e analítico. Participaram do estudo 216 indivíduos residentes na Macrorregião Oeste de Minas gerais do Brasil, no período entre 2014 e 2016, divididos em pacientes com esquizofrenia refratária (caso I), pacientes com esquizofrenia geral (caso II) e indivíduos sem transtornos psiquiátricos (controles). Foram realizados modelos de dominância e heterose para comparação entre os grupos caso I e controles e entre os grupos caso II e controles para verificar a ocorrência do efeito entre eles. Foi observada uma diferença estatisticamente significante na distribuição da frequência genotípica para o polimorfismo rs6311 na comparação do grupo de pacientes com esquizofrenia refratária com o grupo controle (p valor= 0,027). Verificou–se também uma associação entre o modelo A dominante (valor–p=0,042) e o modelo heterose (valor–p=0,008) entre os grupos controle e pacientes refratários. Apesar de este estudo ter encontrado associação do polimorfismo rs6311 com a esquizofrenia refratária, é necessário que novos estudos aconteçam com amostras maiores, em diferentes localidades e etnias para melhor compreensão da genética da esquizofrenia.

Descritores: Esquizofrenia, Enfermagem, Polimorfismos genéticos, Estudos de caso–controle.

INTRODUÇÃO

Os transtornos psiquiátricos ganharam destaque nos últimos anos representando o quinto lugar em todo o mundo em causas de incapacidade em desenvolver as atividades de vida diária (Sullivan, Geschwind, 2019). Entre os transtornos, a esquizofrenia destaca–se como um grave problema de saúde pública identificada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como a terceira doença que mais afeta a qualidade de vida produtiva entre a população de 15 a 45 anos de idade. No Brasil, a esquizofrenia é o transtorno que causa o maior número de internações psiquiátricas representando 30% da ocupação dos leitos hospitalares psiquiátricos, ou 100.000 leitos/ dia (Kohlrauscah, 2013). Em 2016, uma coorte identificou uma média de gastos de R$ 11.713,07 por internação no estado de Minas Gerais (De Macedo Rodrigues et al., 2016).

A esquizofrenia é caracterizada por sintomas positivos, como delírios, alucinações, discurso desorganizado, comportamento motor desorganizado ou anormal, sintomas negativos (isolamento social, anedonia, avolição, alogia e embotamento afetivo) e sintomas cognitivos envolvendo déficits generalizados no processamento de memória (Faden, Citrome, 2018). Esse transtorno está constantemente relacionado a sofrimento, tanto para o indivíduo, por lhe resultar incapacidades comportamentais em desenvolver atividades, quanto para os familiares com sobrecarga para lidar com as mudanças e instabilidades desse familiar (Alves et al., 2018; Soares et al., 2019).

O tratamento farmacológico desse transtorno é baseado na utilização de antipsicóticos que irão atuar em sintomas positivos e negativos. Esses medicamentos são classificados como típicos ou primeira geração e atípicos ou segunda geração, atuando no bloqueio de ação dos neurotransmissores, como receptores de dopamina e serotonina. A dopamina em excesso acarreta sintomas positivos e, ao bloquear seus canais receptores nos neurônios, evita que o excesso da substância atinja as células nervosas, reequilibrando o sistema de neurotransmissão (Faden, Citrome, 2018). Os antipsicóticos atípicos são uma nova geração de fármacos que acoplam um bloqueio do receptor de serotonina 5HT2A, neutralizando o bloqueio excessivo de dopamina D2 e, assim, ocorre uma diminuição dos efeitos adversos (extrapiramidais) provocados por antipsicóticos típicos (Garay et al., 2015).

Apesar dos avanços no desenvolvimento dos psicofármacos, foi observado que, em alguns pacientes em tratamento constante com testes de duas ou mais classes de antipsicóticos

diferentes, persistiam os sintomas. Esses pacientes receberam a denominação “resistentes” ou “refratários” ao tratamento (Samara et al., 2019). A esquizofrenia refratária (ER) afeta 30% dos pacientes com esquizofrenia, e a clozapina é o único antipsicótico de segunda geração com aprovação regulatória para a doença considerada padrão ouro no tratamento (Nielson et al., 2016). Além disso, uma meta–análise demonstrou que a clozapina, em comparação com outros antipsicóticos de segunda geração, foi associada com menores taxas de re–hospitalização e melhores resultados gerais em relação aos sintomas (Masuda et al., 2019).

Atualmente, acredita–se que a etiologia da esquizofrenia seja causada por vários fatores, incluindo fatores genéticos e fatores ambientais. Os estudos pioneiros referentes à genética da esquizofrenia começaram pela observação da maior existência de casos da doença em certas famílias. (Gottesman, 1991).

Com base nesses estudos, os avanços na genética humana estão remodelando a maneira de entendimento da esquizofrenia, quando testes genéticos apresentam a possibilidade de identificar marcadores para tolerância e vulnerabilidade a medicamentos, como a presença de polimorfismos de nucleotídeo simples (SNP) e suas relações com a resposta ao tratamento com a Clozapina. Um estudo recente observou que, se no início do tratamento de pacientes com esquizofrenia refrataria a Clozapina fosse utilizada, os gastos públicos com a saúde seriam de, no mínimo, U$ 290 milhões em 95% das simulações (Goren, Rose, Ney, 2017).

Evidências indicam que o sistema serotoninérgico poderia estar associado ao desenvolvimento da esquizofrenia, mas em relação a ER especificamente os estudos não abordam. A serotonina (5Hidroxitriptamina– 5HT) é um importante neurotransmissor relacionado a processos fisiológicos, como apetite, sono, termorregulação, percepção da dor, secreção hormonal e comportamento sexual. A hipótese da serotonina propõe que esse neurotransmissor tenha um papel importante na etiologia da esquizofrenia, já que receptores de serotonina estão envolvidos nas propriedades psicomiméticas e psicotogênicas de alucinógenos e na ação de antipsicótico. Há sugestões de que a função trópica da serotonina no neurodesenvolvimento possa estar alterada. Associado a isso, sabe-se que a Clozapina apresenta intensa atuação no gene de serotonina 5HT2A (Fanous et al., 2009; Miyamoto et al., 2003).

Em consonância com o exposto acima, este estudo propõe–se verificar possíveis associações dos polimorfismos rs6305 (C>T), rs6314 (G>A) e rs6311(G>A) localizados no gene 5HT2A e a ocorrência de esquizofrenia refratária e de esquizofrenia geral (EQZ) em uma população brasileira. Este é um dos poucos estudos que investiga a relação desse gene com a EQZ no país, ressaltando a necessidade de novos estudos genético–moleculares para um entendimento do impacto da doença nessa população.

A relevância desses estudos, em transtornos poligênicos e multifatoriais, como a esquizofrenia, está em favorecer a descoberta de genes que atuam no seu desenvolvimento, para que assim sejam desenvolvidas estratégias de aprimoramento no tratamento (NORTON; OWEN, 2004). Entre os profissionais de saúde, o enfermeiro é o único que está presente todo o período no tratamento do paciente, e como tal, apresenta habilidades que podem contribuir na conduta terapêutica com testes genéticos. Dentro do processo de enfermagem, o profissional pode atuar na coleta de dados genéticos do indivíduo, identificar alterações na adesão ao tratamento com medicações, realizar diagnósticos e o planejamento da assistência. (BRENNAN, 2015). A inserção deste tipo de conhecimento na atuação da enfermagem ainda não é realidade no Brasil, mas já pode ser observado em outros países (HAYLETT, 2017; KNISELY et al., 2017).

Assim, esta pesquisa pode subsidiar novas pesquisas na identificação de uma das prováveis causas da resistência ao tratamento da esquizofrenia. A partir disso, será possível impactar futuramente as políticas públicas no desenvolvimento de estratégias que irão atuar na diminuição do agravamento dos casos existentes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Trata–se de um estudo genético–molecular, retrospectivo e analítico, do tipo caso–controle. A partir do programa *OpenEpi versão 3.03a*, foi realizado o cálculo amostral, considerando a população da Macrorregião Oeste de Minas Gerais, portadores de esquizofrenia refratária cadastrados no Sistema Integrado de Gerenciamento da Assistência Farmacêutica (SIGAF) e que faziam utilização do antipsicótico atípico Clozapina. Os 169 indivíduos elegíveis foram convidados mediante carta e telefonema. Desses convidados, 31 recusaram o convite, 26 apresentaram endereços e telefones desatualizados e 40 confirmados não compareceram na data da coleta. Então, participaram do estudo 72 pacientes com ER, seguindo a proporção esperada de 50% e o nível de significância de 5% com margem de erro de 10%. estando em concordância com pesquisas internacionais (Dean, Sullivan, Soe, 2015; Malhotra et al., 2013; Mitchell et al., 2013; Nebhinani et al., 2013).

Os participantes foram divididos em três grupos, sendo eles: casos I – pacientes com esquizofrenia refratária, casos II – pacientes com outros tipos de esquizofrenia e grupo–controle – não apresentavam nenhum tipo de transtorno psiquiátrico. Para os grupos casos I e II, a população foi extraída do SIGAF, enquanto, para o grupo controle, foi proveniente do Centro Municipal de Apoio à Saúde (CEMAS) de Divinópolis/MG por ser um local de referência para a região em atendimento para coleta de material biológico e análises clinicas. Os critérios de

inclusão adotados foram : casos I – pacientes com diagnóstico médico de esquizofrenia refratária, em uso do antipsicótico atípico clozapina, possuir idade igual ou superior a 18 anos, estar cadastrado na Superintendência Regional de Saúde (SRS) de Divinópolis, Minas Gerais; casos II– pacientes com diagnóstico médico de outros tipos de esquizofrenia (EQZ), possuir idade igual ou superior a 18 anos; controles – não apresentar diagnóstico médico de qualquer transtorno psiquiátrico, sendo conferida essa informação no prontuário, possuir idade igual ou superior a 18 anos. Já os critérios de exclusão incluíram manifestações de problemas que pudessem interferir na coleta de dados, como apresentar crise pela esquizofrenia na data da coleta.

Por se tratar de um estudo de caso-controle, seguiu-se a proporção de 1:1, contando então com 72 participantes em cada grupo. Os participantes que apresentavam esquizofrenia refratária e outros tipos de esquizofrenia foram convidados a comparecer aos ambientes cedidos pelo Centro de Atenção Psicossocial (CAPS III) do município de Divinópolis MG, no período de dezembro de 2014 a julho de 2016. O convite foi feito por cartas e contato telefônico. Os participantes do grupo–controle foram captados no CEMAS, por meio de entrevistas presenciais, ao comparecerem para o atendimento laboratorial de rotina, sendo convidados a participarem da pesquisa, e assim, com aceitação iniciava-se a coleta.

Após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), os participantes responderam a um questionário semiestruturado autoaplicável para o grupo controle e aplicado pelo pesquisador para os outros grupos. O questionário elaborado pelos autores continha questões sociodemográficas, comportamentais, clínicas e posteriormente foi realizada a coleta de material biológico para a análise genética.

A coleta de dados do grupo–controle foi realizada no CEMAS, seguindo o funcionamento do serviço. O indivíduo comparecia, para a realização de atendimento ambulatorial, sendo abordado para a participação da pesquisa e, estando de acordo, assinava o termo de consentimento livre e esclarecido TCLE. Posteriormente, prosseguia à coleta de sangue somente uma vez. Para esse grupo não foi aplicado o questionário por se tratar somente o interesse da análise genética e assim, comparar com os resultados com os demais grupos.

A coleta de material biológico foi armazenada em um tubo a vácuo com anticoagulante ácido etilenodiamino tetra–acético (EDTA), contendo 5mL de sangue venoso periférico de cada paciente devidamente identificado. Imediatamente após as coletas, as amostras foram encaminhadas ao laboratório de Biologia Molecular da Universidade Federal de São João Del–Rei/ Campus Centro–Oeste, sendo acondicionada a uma geladeira a 4ºC até o início dos experimentos de extração de DNA.

A extração de DNA (ácido desoxirribonucleico) foi realizada por dois métodos: *salting out* e Mini Kit QIAmp DNA Blood (Qiagen), seguindo o protocolo do fabricante. Logo depois das técnicas de extração, foi realizada a quantificação do DNA para determinar as concentrações de DNA e o seu grau de pureza. Utilizou–se o espectofotômetro Nanodrop (Thermo Scientific – Nanodrop 2000).

A sequência dos oligonucleotídeos utilizados, para a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) convencional do polimorfismo rs6305, foi baseada na publicação de Arranz et al. (1995). Assim sendo, a confirmação das sequências dos oligonucleotídeos foi feita no programa MultAlin (*http://multalin.toulouse.inra.fr/DisplayFam/*) e as suas localizações no gene 5HT2A no *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST).

Para a realização da PCR, foi utilizado um volume final de 25µL, contendo 12,6µL de água MiliQ, 2,5 µL de tampão de Taq 10x (pHo neutria), 0,75µL de MgCl a 50mM/L, 5,0µL de dNTP a 1mM/L, 1µL de cada oligonucleotideo – *foward e reverse* a 10pMol/L , 0,15uL de taq DNA polimerase a 5U/µL (pHo neutria) e 2µL de DNA (aproximadamente 20ng). Controles negativos foram utilizados em todas as reações. O programa de ciclagem da PCR foi 94ºC por 5 minutos na desnaturação, 30 ciclos de 90ºC por 45 segundos, 59ºC por 45 segundos e 72ºC por 1 minuto. As reações foram realizadas no termociclador The Applied Biosystems Veriti 96–Well (Applied Biosystems).

O resultado da PCR para o polimorfismo rs6305 foi visualizado por meio da técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida a 8%. O fragmento gerado foi de 196 pb e, posteriormente, foi submetido à técnica de Restriction Fragment Lengh Polymorphism (RFLP), para a detecção do polimorfismo, utilizando a enzima *Sau96I*. Após a realização da reação, os tubos foram submetidos à temperatura de 37ºC por 60 minutos. Depois, os produtos das reações foram submetidos à análise de fragmentos por uma nova eletroforese, em gel de poliacrialamida, a 8% corado com nitrato de prata. Foram adicionados 7µL de produto de digestão, 2,5 µL de tampão de amostra e 2,5µL de padrão de peso molecular em cada gel realizado. Na presença do alelo C, o fragmento foi digerido em fragmentos de 109pb e 87pb, enquanto, para o alelo T, o fragmento permaneceu não digerido, ou seja, com 196 pb.

Para os polimorfismos rs6311 e rs6314, foi utilizada a técnica de PCR em tempo real, sistema TaqMan. Os oligonucleotídeos foram desenhados pela empresa Thermo Fisher juntamente com sondas específicas para a detecção de cada polimorfismo. Para a realização da genotipagem desses polimorfismos, foi preparada uma solução para cada um com volume total de 10µL por participante, contendo 6,25 µL de Água MiliQ, 2,5 µL de master mix universal TaqPath , 0,25 µL de cada ensaio TaqMan específico (sonda e primers) e 1,0 µL de DNA a 50

ng/ µL. A reação foi realizada no termociclador QuantStudio 3 ™ (Thermo Fisher), nas seguintes condições: 60º C por 30 segundos, 95º C por 5 minutos, 40 ciclos compostos por 15 segundos em 95º C e 1 minuto à 60º C.

Os dados coletados foram analisados utilizando o programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 20.0. As análises descritivas dos dados foram realizadas com a utilização de frequências para descrever o perfil sociodemográfico e clínico dos participantes. Abordaram as variáveis sexo, estado civil, idade, renda familiar, número de filhos, escolaridade, local onde realiza tratamento, uso de tabaco, álcool, tempo de tratamento psiquiátrico, internação psiquiátrica anterior, entre outras.

Para as análises de associação foi utilizado o teste estatístico Qui–Quadrado de Pearson (x^2). As frequências alélicas e genotípicas entre os grupos casos I, casos II e controles foram comparados por meio da regressão logística simples (valor de Odds Ratio não ajustado). Posteriormente, foi realizado um modelo de dominância e recessividade entre os grupos de portadores de esquizofrenia refratária e o de controles para verificar a ocorrência do efeito entre eles. Para todos os testes, foi utilizado um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

O estudo obedeceu a todas as normas preconizadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de São João Del–Rei – Campus Centro–Oeste Dona Lindu (UFSJ), localizado no município de Divinópolis. Além disso, seguiram–se os termos da Resolução Nº 466 de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e contou também com aprovação da Secretaria Regional de Saúde. Este estudo obteve recursos provenientes da sua aprovação pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) com financiamento.

RESULTADOS

Participaram do estudo 216 indivíduos, sendo 108 do sexo feminino e 108 do sexo masculino. Foram divididos em três grupos: caso I contendo 72 pacientes com esquizofrenia refratária (ER), caso II contendo 72 pacientes com outros tipos de esquizofrenia (EQZ) e grupo–controle (C) com 72 participantes que não apresentaram nenhum transtorno psiquiátrico.

Em relação à variável faixa etária, o grupo caso I obteve uma porcentagem acima de 40% com idade inferior a 40 anos, enquanto os grupos caso II e controle apresentaram mais de 50% dos participantes com idade superior a 50 anos. Quando questionados sobre ocupação, entre os pacientes com ER, somente 9,3% exercem trabalho remunerado, por outro lado, no grupo de EQZ, essa taxa é de 72,2%. Foi observado que entre os pacientes com ER, em sua maioria, eram solteiros, representando 73%.

No que se refere ao consumo de álcool, no grupo de ER, 97% declararam não realizar o consumo, enquanto, no grupo de EQZ, essa taxa representou 86%. Já em relação ao uso de tabaco, ambos os grupos obtiveram taxas elevadas de consumo, representando mais de 60%.

Para os três polimorfismos investigados, não ocorreram desvios significativos do equilíbrio de Hardy-Weimberg em nenhum dos grupos casos ou controles. Na Tabela 1 é possível observar as frequências dos três polimorfirmos estudados, seus testes e força de associação. O polimorfismo rs6311 apresentou uma diferença estatisticamente significante para os genótipos na comparação dos grupos de pacientes com ER e os controles (valor-p = 0,027). No entanto, não foi observada diferença significativa para os polimorfismos rs6305 e rs6314 nas distribuições de frequências alélicas quando comparado os grupos ER e controles, e os grupos EQZ e controles (valores-p >0,05). Já nas comparações entre os genótipos não foram possíveis realizar os testes devido a frequências nulas.

Na mesma tabela observa–se os valores de Odds Ratio calculados, utilizando os modelos de controles versus pacientes com ER e controles versus pacientes com EQZ para os três polimorfismos. Em relação ao polimorfismo rs6311 do gene 5HT2A, observou–se que os pacientes ER tem 2,66 vezes mais chance de apresentarem genótipo AG que os controles, se comparado ao genótipo GG. Nessa comparação, percebe–se que a diferença é significativa, uma vez que o intervalo de confiança não passa pelo 1. Já os polimorfismos rs6305 e rs6314 a diferença entre os grupos não pode ser considerada significativa, pois todos os intervalos de confiança passam pelo 1.

.

Tabela 1 – Distribuição das frequências genotípicas e alélicas, qui–quadrado e odds ratio dos polimorfismos rs6305, rs6314 e rs6311 do gene 5HT2A por grupo.

	Pacientes com ER		**Pacientes com EQZ**		**Controles**		**Valor–p1***	**Valor–p2****	**OR [IC 95%]**	
									Controle x Pacientes com ER*	**Controle x Pacientes com EQZ**
	n	%	n	%	n	%				
rs6305										
Genótipos										
CC	69	95,8	66	91,6	69	95,8	***	***	1,00 [0,20; 5,13]	0,57 [0,13; 2,49]
TT	0	0,0	1	1,4	0	0,0			*	*
CT	3	4,2	5	6,9	3	4,2			1,00	1,00
Alelos										
Alelo C	141	97,9	137	95,1	141	97,9	1,00	0,334	1,00 [0,20; 5,04]	0,41 [0,11; 1,64]
Alelo T	3	2,1	7	4,9	3	2,1			1,00	1,00
rs6314										
Genótipos										
GG	61	84,7	61	84,7	60	83,3	***	***	1,02 [0,041; 2,52]	1,02 [0,06; 16,63]
AA	0	0,0	1	1,4	1	1,4			–	1,00
GA	11	15,3	10	13,9	11	15,3			1,00	0,91 [0,05; 16,54]
Alelos										
Alelo G	133	92,4	132	91,7	131	91,0	0,670	0,834	1,2 [0,52; 2,78]	1,09 [0,48; 2,48]
Alelo A	11	7,6	12	8,3	13	9,0			1,00	1,00
rs6311										
Genótipos										
AA	11	15,3	9	12,5	16	22,2	**0,027**	0,232	1,19 [0,44; 3,22]	0,59 [0,23; 1,57]
GG	15	20,8	25	34,7	26	36,1			1,00	1,00
AG	46	63,9	38	52,8	30	41,7			2,66 [1,21; 5,82]	1,32 [0,64; 2,73]
Alelos										
Alelo A	68	47,2	56	38,9	62	43,1	0,477	0,472	1,18 [0,74; 1,88]	0,84 [0,53; 1,35]
Alelo G	76	52,8	88	61,1	82	56,9			1,00	1,00

*p–valor 1: teste qui–quadrado de Pearson pacientes com ER vs. controles. **p–valor 2: teste qui–quadrado de Pearson pacientes com EQZ vs. controles; ***não foi possível calcular pela existência de frequências nulas. ER=Esquizofrenia Refratária; EQZ=Esquizofrenia Geral.
Fonte: Acervo próprio (2020)

Na Tabela 2 é possível observar os modelos genotípicos de dominância e heterose construídos para os três polimorfismos destacando-se os resultados encontrados para o polimorfismo rs6311. Verificou–se diferença significativa quando comparado o modelo A dominante (valor–p=0,042) e o modelo heterose (valor–p=0,008) entre os grupos controle e pacientes ER. Para as demais comparações entre os grupos EQZ e controles, não foram observadas diferenças significativas (valores–p>0,05). Em relação aos polimorfismos rs6305 e rs6314 também não foram observadas diferenças significativas.

Tabela 2 – Modelos genotípicos de dominância e heterose para os três polimorfismos de nucleotídeo simples entre os grupos de pacientes

Polimorfismos	Modelos	Genótipos	Valor–p1*	Valor–p2**
	C dominante	C/C e C/T vs. TT	–	–
Rs6305	T dominante	T/T e C/T vs CC	>0,999	0,303
	Heterose	C/C e T/T vs. C/T	>0,999	0,467
	G dominante	G/G e G/A vs AA	–	>0,999
Rs6314	A dominante	A/A e A/G vs GG	0,820	0,820
	Heterose	G/G e A/A vs AG	>0,999	0,813
	A dominante	A/A e A/G vs GG	**0,042**	0,861
Rs6311	G dominante	G/G e G/A vs AA	0,287	0,124
	Heterose	A/A e G/G vs AG	**0,008**	0,182

*Valor–p1: teste qui–quadrado de Pearson pacientes com ER vs. controles. **Valor–p2: teste qui–quadrado de Pearson pacientes com EQZ vs. controles; ER=Esquizofrenia Refratária; EQZ=Esquizofrenia Geral

Fonte: Acervo próprio (2020)

DISCUSSÃO

A esquizofrenia refratária impacta as diversas esferas da vida do paciente, não se limitando à saúde. Este estudo, assim como o trabalho de outros autores (Crepalde et al., 2016), revelam dados sociodemográficos que demonstram prejuízos expressivos na sociabilidade, relações afetivas e empregabilidade. Tais achados podem ser decorrentes da estigmatização associada à doença (Li et al., 2017).

As análises dos resultados mostram uma diferença estatisticamente significante dos genótipos do polimorfismo rs6311 na comparação do grupo de pacientes com esquizofrenia refratária com o grupo controle, o que sugere a associação do polimorfismo com a doença. Por outro lado, não foi encontrada nenhuma associação nas comparações das frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos rs6305 e rs6314.

Em concordância com os achados, alguns estudos envolvendo o polimorfismo rs6314 analisaram pacientes com esquizofrenia (não especificamente refratários) encontrando associação (PENAS–Lledo et al., 2007; Saiz et al., 2007; Tee et al., 2010). Já em outros estudos, investigando os mesmos tipos de população, não foi encontrada nenhuma associação (Lee, Jayathilake, Meltzer, 1999; Alfimova et al., 2010; Sanders et al., 2008; Tsunoka et al., 2010; Park et al., 2011).

Os estudos de associação envolvendo especificamente o polimorfismo rs6305 e a ocorrência de esquizofrenia no Brasil ainda são escassos, sendo identificado apenas um realizado com pacientes com EQZ e controles. Os achados apontaram a falta de associação alélica e genotípica do polimorfismo e o desenvolvimento da esquizofrenia (Bertola et al., 2007) estando em concordância parcial com os dados do presente estudo por não analisarem o grupo de ER. Outro estudo envolvendo a população japonesa, investigaram os dois polimorfismos rs6305 e rs6314 também não encontrando nenhuma associação desses polimorfismos e a ocorrência da doença (Erdmann et al., 1996). Essa falta de associação pode estar relacionada com a baixa prevalência do polimorfismo nas populações estudadas ou requer grandes amostras para analisar.

Em relação aos modelos de dominância e heterose realizados neste estudo, verificou–se para o polimorfismo rs6311 uma diferença estatisticamente significante quando comparado o modelo A dominante e o modelo heterose entre os grupos controle e pacientes ER, mas não encontraram associação na comparação com esquizofrenia geral. Já em relação aos polimorfismos rs6305 e rs6314 não foi encontrada nenhuma associação em todos os modelos criados.

Em concordância, uma meta–análise encontrou associação significativa do rs6311 com EQZ principalmente na população caucasiana em todos os modelos de dominância e

recessividade. Mas em relação aos asiáticos, não foram encontradas associações. O estudo sugere que o envolvimento do polimorfismo com a EQZ pode ser dependente da etnia (Gu et al., 2013). Outros estudiosos investigando a população Tamil encontrou também associação do polimorfismo e esquizofrenia (Sujitha et al., 2014). Vale ressaltar que essas divergências nos achados podem estar relacionadas a diferenças exposições ambientais, grupos analisados, etnias e tamanho amostral.

Em contrapartida, outra meta–análise, analisando o polimorfismo rs6311 em populações asiáticas e caucasianas e a ocorrência de EQZ não encontrou associação com a ocorrência da doença nos modelos de dominância e recessividade (Sun et al., 2017). Já em outro estudo envolvendo famílias (pacientes em tratamento com antipsicóticos de primeira geração e seus respectivos pais) verificaram que o alelo G foi associado a uma boa resposta ao tratamento, especialmente com o aloperidol. Esse achado sugere que pacientes portadores do alelo tendem a apresentar maior chance de melhora com os medicamentos (Benmessaoud, Hamdani, Boni, 2008).

Outra pesquisa mais recente, investigando polimorfismos nos genes DRD2 e 5HT2A, entre eles o rs6305, rs6311 e rs6313, mostrou diferenças significativas para os haplótipos ACC e GCC. A frequência do ACC foi maior em controles saudáveis geneticamente relacionados (familiares de pacientes com EQZ), quando comparados com os casos (pacientes com EQZ), porém foi menor em controles saudáveis não relacionados. Já o haplótipo GCC estava significativamente mais frequente em pacientes com EQZ em comparação com os controles saudáveis não relacionados. Esse achado é possível se o haplótipo ACC foi sendo transmitido às famílias de pessoas com EQZ (Kaur et al., 2019).

Já em um grande estudo fármaco–genético da Índia, encontrou associação significativa do alelo T do polimorfismo rs6305 e a não resposta ao tratamento com a risperidona. No modelo de regressão logística, o genótipo CT foi mais frequentemente associado à não resposta. Esse foi o primeiro estudo a sugerir a associação do polimorfismo com a resistência ao tratamento (Kaur et al., 2017).

Sob outra perspectiva, investigando o polimorfismo rs6314 e a resposta a Clozapina em pacientes identificaram uma associação significativa, porém nos modelos de dominância e heterose não foram identificadas associações (Badri et al., 1996). Enquanto dois estudos encontraram maior frequência do alelo A entre os resistentes ao tratamento (Malhotra et al., 1996; Nothen et al., 1995), uma meta–análise, demonstrou uma associação entre o alelo A e uma resposta ruim à clozapina (Arranz et al., 1998). Em concordância com esse achado, pesquisadores identificaram que o alelo A apresentou uma redução da afinidade de ligação ao

antipsicótico e diminuição da potência do medicamento. Além disso, também foi detectado que o alelo A estava significativamente associado à má resposta ao tratamento com clozapina em comparação ao alelo G (Masselis et al., 1998). Esses achados sugerem que o alelo A pode interferir negativamente na resposta ao tratamento com a clozapina e, assim, provocar dificuldade na melhora do quadro clínico.

Outra investigação verificou na Itália os polimorfismos rs6314 e rs1076560 descobrindo que os indivíduos que apresentaram os alelos A (rs6314) e T (rs1076560) obtiveram maior atividade pré–frontal na ressonância magnética durante a memória de trabalho. Esses achados indicam que as variantes genéticas juntas HTR2A e DRD2 modulam a eficiência pré–frontal fisiológica, durante a memória de trabalho e também a resposta aos antipsicóticos (Blasi et al., 2015). A relevância dessa análise está em indicar genes diferentes juntos podem provocar mais alterações quando comparados com um isolado.

Um recente estudo asiático verificou uma possível associação entre a EQZ e polimorfismos presentes em alvos moleculares de antipsicóticos nos genes que codificam dopamina (DRD1, DRD2, DRD3), receptores de serotonina (HTR2A, HTR6) e enzimas de metabolização de antipsicóticos. Posteriormente à correção para múltiplos testes, o polimorfismo rs6314 apresentou uma significância limítrofe (borderline) do alelo A (Zakharyan et al., 2020).

Dessa forma, ressalta-se a relevância dos diversos achados para elucidar o impacto da genética na resposta ao tratamento da esquizofrenia. Torna-se necessário que novas pesquisas aconteçam e os achados possam contribuir para avanços na conduta terapêutica multiprofissional, em especial ao enfermeiro para sua prática clínica do paciente com transtorno psiquiátrico.

CONCLUSÃO

O atual estudo verificou possíveis associações dos polimorfismos genéticos com a ocorrência da esquizofrenia refratária e esquizofrenia geral. Este estudo é um dos poucos em uma população brasileira a investigar polimorfismos no gene 5HT2A buscando associação com esses dois subtipos do transtorno. Foi encontrada uma associação do polimorfismo rs6311 com a esquizofrenia refratária. Como a amostra estudada não é probabilística, é necessário que a análise ocorra de forma criteriosa, em relação à validação externa, aprimorando o entendimento da etiologia da doença e contribuindo para os avanços no tratamento dos pacientes com a doença.

A realização de rastreamento genético de populações, nos campos dos transtornos psiquiátricos, realizado por enfermeiros, é uma área pouco explorada, porém de grande relevância para melhorar a assistência prestada. O conhecimento da genética de transtornos, como esquizofrenia, pode contribuir para a qualificação da gestão do cuidado prestado pela enfermagem psiquiátrica, principalmente pela proximidade da relação do profissional com o paciente. Além disso, o entendimento da influência genética contribui para a escolha de antipsicóticos, evitando a utilização de várias classes de medicamentos, diminuindo os gastos públicos e o sofrimento causado pelo transtorno.

REFERÊNCIAS

1 Sullivan PF, Geschwind DH. Defining the genetic, genomic, cellular, and diagnostic architectures of spychiatric disorders. Cell, 2019;177(1):162–83.

2 Kohlrausch FB. Pharmacogenetics in schizophrenia: a review of clozapine studies. Rev Bras Psiquiatr 2013;35(3):305–17.

3 DE MACEDO RODRIGUES, Laíse Sofia et al. Hospitalization of schizophrenic patients in the public health system of Minas Gerais, Brazil. JBES: Brazilian Journal of Health Economics/Jornal Brasileiro de Economia da Saúde 2016;v.8, n.3.

4 Soares MH, Farinasso ALC, Gonçalves CS, Machado FP, Mariano LKFR, Santos CD. Sobrecarga e satisfação dos familiares de pacientes com esquizofrenia. Cogitare enferm 2019.

5 Faden J, Citrome L. Resistance is not futile: treatment–refractory schizophrenia–overview, evaluation and treatment. Expert Opin Pharmacother 2018;20(1):11–24.

6 Garay RP, Bourin M, Paillette E, Samalin L, Hameg A, Llorca PM. Potential serotonergic agentes for the treatment of schizophrenia. Expert Opin on Investig Drugs 2016;25(2):159–70.

7 Samara MT, Nikolakopoulou A, Salanti G, Leucht S. How many patients with schizophrenia do not respond to antipsychotic drugs in the short term? An analysis based on individual patient data from randomized controlled trials. Schizophr Bull 2019;45(3):639–46.

8 Nielson J, Young C, Ifteni P, Kishimoto T, Xiang Y–T, Schulte PFJ. Worldwide differences in regulations of clozapine use. CNS Drugs 2016;30(2):141–61.

9 Masuda T, Misawa F, Takase M, Kane JM, Correll CU. Association with hospitalization and all–cause discontinuation among patients with schizophrenia on clozapine vs other oral second–generation antipsychotics: a systematic review and meta–analysis of cohort studies. JAMA Psychiatry 2019;76(10):1052–62.

10 Gottesman II. Schizophrenia genesis: the origins of madness. New York: Freeman, 1991.

11 Goren JL, Rose AJ, Ney JP. The business case for expanded clozapine utilization: in reply. Psychiatr Serv 2017;68(3):309–10.

12 Fanous AH, Chen X, Wang X, Amdur R, O'Neill FA, Walsh D. Genetic variation in the serotonin 2A receptor and suicidal ideation in a sample of 270 Irish high-density schizophrenia families. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 2009;150(3):411–7.

13 Miyamoto S, LaMantia AS, Duncan GE, Sullivan P, Gilmore JH, Lieberman JA. Recent advances in the neurobiology of schizophrenia. Mol Interv 2003;3(1):27–39.

14 Dean AG, Sullivan KM, Soe MM. OpenEpi: open source epidemiologic statistics for public health: version 3.03a [Internet]. 2013 [cited 2015 Jun 6]. Available from: www.OpenEpi.com.

15 Malhotra N, Grover S, Chakrabarti S, Kulhara P. Metabolic syndrome in schizophrenia. Indian J Psychol Med 2013;35(3):227–40.

16 Mitchell AJ, Vancampfort D, Herdt A, Yu W, Hert M. Is the prevalence of metabolic syndrome and metabolic abnormalities increased in early schizophrenia?: a comparative meta–analysis of first episode, untreated and treated patients. Schizophr Bull 2013;39(2):295–305.

17 Nebhinani N, Grover S, Chakrabarti S, Kate N, Avasthi A. A longitudinal study of change in prevalence of metabolic syndrome and metabolic disturbances 3 months after Clozapine therapy. J Health Hum Behav 2013;18:9–17.

18 Bertola V, Cordeiro Q, Zung S, Miracca EC, Vallada H. Association analysis between the C516T polymorphism in the 5–HT2A receptor gene and schizophrenia. Arq Neuro–Psiquiatr 2007;65(1):11–4.

19 Kaur G, Chavan BS, Gupta D, Sinhmar V, Prasad R, Tripathi A, et al. An association study of dopaminergic (DRD2) and serotoninergic (5–HT2) gene polymorphism and schizophrenia in a North Indian population. Asian J Psychiatr 2019;39:178–84.

20 Kaur G, Gupta D, Chavan BS, Sinhmar V, Prasad R, Tripathi A, et al. Identification of genetic correlates of response to Risperidone: Finding of a multicentric schizophrenia study from India. Asian J Psychiatr 2017;29:174–82.

21 Erdmann J, Shimron–Abarbanell D, Rietschel M, Albus M, Maier W, Körner J, et al. Systematic screening for mutations in the human serotonina–$_2$A (5–HT2A) receptor gene: identification of two naturally occurring receptor variants and association analysis in schizophrenia. Hum Genet. 1996;97(5):614–9.

22 Arranz MJ, Collier DA, Munro J, Sham P, Kirov G, Sodhi M, et al. Analysis of a structural polymorphism in the 5–HT2A receptor and clinical response to clozapine. Neurosci Lett. 1996;217(2–3):177–8.

23 Badri F, Masellis M, Petronis A, Macciardi FM, Van Tol HHM, Cola P, et al. Dopamine and serotonin system genes may predict clinical response to clozapine. Am J Hum Genet. 1996;59(4):A247.

24 Malhotra AK, Goldman D, Ozaki N, Breier A, Buchanan R, Pickar D. Lack of association between polymorphisms in the 5–HT2A receptor gene and the antipsychotic response to clozapine. Am J Psychiatry 1996;153(8):1092–4.

25 Nöthen MM, Rietschel M, Erdmann J, Oberländer H, Möller J, Nober, D, et al. Genetic variation of the 5–HT2A receptor and response to clozapine. Lancet 1995;346(8979):908–9.

26 Arranz MJ, Munro J, Owen MJ, Spurlock G, Sham PC, Zhao J, et al. Evidence for association between polymorphisms in the promoter and coding regions of the 5–HT 2A receptor gene and response to clozapine. Mol Psychiatry 1998;3(1):61–6.

27 Masellis M, Basile V, Meltzer HY, Lieberman JÁ, Sevy S, Macciardi FM, et al. Serotonin subtype 2 receptor genes and clinical response to clozapine in schizophrenia patients. Neuropsychopharmacology 1998;19(2):123–32.

28 Blasi G, Selvaggi P, Fazio L, Antonucci LA, Taurisano P, Masellis R, et al. Variation in dopamine D2 and serotonin 5–HT2A receptor genes is associated with working memory processing and response to treatment with antipsychotics. Neuropsychopharmacology 2015;40(7):1600–8.

29 Zakharyan R, Ghazaryan H, Kocourkova L, Chavushyan A, Mkrtchyan A, Zizkova V, et al. Association of genetic variants of dopamine and serotonin receptors with Schizophrenia. Arch Med Res. 2020;51(1):13–20.

30 Peñas–Lledó EM, Dorado P, Cáceres MC, Rubia A, Llerena A. Association between T102C and A–1438G polymorphisms in the serotonin receptor 2A (5–HT2A) gene and schizophrenia: relevance for treatment with antipsychotic drugs. Clin Chem Lab Med. 2007;45(7):835–8.

31 Saiz PA, Garcia–Portilla MP, Arango C, Morales B, Alvarez V, Coto E, et al. Association study of serotonin 2A receptor (5–HT2A) and serotonin transporter (5– HTT) gene polymorphisms with schizophrenia. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2007;31(3):741–5.

32 Tee SF, Chow TJ, Tang PY, Loh HC. Linkage of schizophrenia with TPH2 and 5–HTR2A gene polymorphisms in the Malay population. Genet Mol Res. 2010;9(3):1274–8.

33 Lee MA, Jayathilake, K, Meltzer HY. A comparison of the effect of clozapine with typical neuroleptics on cognitive function in neuroleptic–responsive schizophrenia. Schizophr Res. 1999;37(1):1–11.

34 Alfimova MV, Monakhov MV, Abramova LI, Golubev AS, Golimbet VE. Polymorphism of serotonin receptor genes (5–HTR2A) and Dysbindin (DTNBP1) and individual components of short–term verbal memory processes in Schizophrenia. Neurosci Behav Physiol. 2010;40(8):934–40.

35 Sanders AR, Duan J, Levinson DF, Shi J, He D, Hou C, et al. No significant association of 14 candidate genes with schizophrenia in a large European ancestry sample: implications for psychiatric genetics. Am J Psychiatry 2008;165(4):497–506.

36 Tsunoka T, Kishi T, Kitajima T, Okochi T, Okumura T, Yamanouchi Y, et al. Association analysis of GRM2 and HTR2A with methamphetamine–induced psychosis and schizophrenia in the Japanese population. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2010;34(4):639–44.

37 Park IH, Ku J, Lee H, Kim SY, Kim SI, Yoon KJ, et al. Disrupted theory of mind network processing in response to idea of reference evocation in schizophrenia. Acta Psychiatr Scand 2011;123(1):43–54.

38 Gu L, Long J, Yan Y, Chen Q, Pan R, Xie X, et al. HTR2A−1438A/G polymorphism influences the risk of schizophrenia but not bipolar disorder or major depressive disorder: a meta-analysis. J Neurosci Res 2013;91(5):623–33.

39 Sujitha SP, Nair A, Banerjee M, Lakshmanan S, Harshavaradhan S, Gunasekaran S, et al. 5–Hydroxytryptamine (serotonin) 2A receptor gene polymorphism is associated with schizophrenia. Indian J Med Res 2014;140(6):736–43.

40 Sun L, Xu P, Zhou Y–G, Zuo S–R, Liu Y–P. Meta–analysis of polymorphism rs6311 and rs6313 in the 5–HT2AR gene and schizophrenia. Nord J Psychiatry 2017;71(1):1–11.

41 Benmessauoud D, Hamdani N, Boni C. Excess of transmission of the G allele of the A1438A/G polymorphism of the 5–HT_{2A}receptor gene in patients with schizophrenia responsive to antipsychotics. BMC Psychiatry 2008;8:40.

42 KNISELY, Mitchell R. et al. CYP2D6 drug-gene and drug-drug-gene interactions among patients prescribed pharmacogenetically actionable opioids. Applied Nursing Research, v. 38, p. 107-110, 2017.

43 HAYLETT, Wendy J. The Relationship of Genetics, Nursing Practice, and Informatics Tools in 6-Mercaptopurine Dosing in Pediatric Oncology. Journal of Pediatric Oncology Nursing, v. 34, n. 5, p. 342-346, 2017.

44 BRENNAN, Kathleen S. Clinical implications of pharmacogenetic and microarray testing for advanced practice nurses. Journal of the American Association of Nurse Practitioners, v. 27, n. 5, p. 246-255, 2015.

45 Alves, J. F. M., Almeida, A. L., Mata, M. A. P., & Pimentel, M. H. (2018). Problemas dos cuidadores de doentes com esquizofrenia: A sobrecarga familiar. Revista Portuguesa de Enfermagem de Saúde Mental (19), 08-16. doi: 10.19131/rpesm.0197

46 Soares MH, Farinasso ALC, Gonçalves CS, Machado FP, Mariano LKFR, Santos CD. Sobrecarga e satisfação dos familiares de pacientes com esquizofrenia. Cogitare enferm. [Internet]. 2019

47 Li, J., Guo, Y., Huang, Y., Liu, J., Chen, W., Zhang, X., ... Thornicrofte, G. (2017). Stigma and discrimination experienced by people with schizophrenia living in the community in Guangzhou, China. Psychiatry Research, 255(1), 225–231.

48 dos Santos Crepalde, R., Santos, A. S., de Macedo Rodrigues, L. S., Madalena, F., & Volpe, C. M. R. B. (2016). Perfil epidemiológico de portadores de esquizofrenia internados no Instituto Raul Soares. Rev Med Minas Gerais, 26(Supl 5), S102-S109.

6 LIMITAÇÕES

6 LIMITAÇÕES

a) Como a amostra estudada não é probabilística, é necessário que a análise ocorra de forma criteriosa em relação à validação externa;
b) Somente três polimorfismos de nucleotídeo simples no gene 5TH2A foi investigado em uma amostra relativamente pequena;
c) A amostra final foi formada, a partir do momento, em que o paciente comparecia ao local previamente agendado, por ser identificada a maneira mais apropriada para a pesquisa. Em vista disso, apresenta a possibilidade de viés e não representatividade da população;
d) Somente três polimorfismos de nucleotídeo simples no gene 5TH2A foi investigado em uma amostra relativamente pequena.

7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

a) Foi encontrada associação do polimorfismo rs6311 com a ocorrência de esquizofrenia refratária. Porém, não foram identificadas associações entre os polimorfismos rs6305 e rs6314 com a esquizofrenia refratária e a esquizofrenia geral.
b) A esquizofrenia possui alta herdabilidade e, portanto deveria ser possível desde o início a realização de uma análise genética molecular.
c) Os achados deste estudo apontam para a necessidade de realização de novos estudos envolvendo a análise genética e a ocorrência da esquizofrenia refratária. Assim, poderá conhecer melhor os alelos que predispõem à patologia e, juntamente com outras abordagens metodológicas, analisar a resposta aos antipsicóticos e, assim, melhorar a qualidade de vida dos pacientes.
d) A enfermagem na área de genética psiquiátrica é relativamente nova e, portanto apresenta a necessidade que novas pesquisas sejam realizadas. Com isso, será possível o desenvolvimento de estratégias de cuidado especializado ao paciente portador de esquizofrenia, contribuindo com a adesão ao tratamento.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ALEMAN, A. et al. Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta–analysis. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 60, n. 6, p. 565–571, 2003.

ALFIMOVA, M. V. et al. Polymorphism of serotonin receptor genes (5–HTR2A) and Dysbindin (DTNBP1) and individual components of short–term verbal memory processes in Schizophrenia. **Neurosci. Behav. Physiol.**, v. 40, n. 8, p. 934–940, 2010.

ÁLVAREZ, J. S. **Evaluanción económica de medicamentos y tecnologías sanitarias:** principios, métodos, y aplicaciones em política sanitária. Madrid: Springer, 2012.

AMERICAN NURSES ASSOCIATION. **Statement on the scope and standards of genetics clinical nursing pratice.** Washington, DC: American Nurses Association, 1998.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION (APA). **DSM–5 – Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais.** Porto Alegre: Artmed, 2014.

AOOLIED BIOSYSTEMS. **QuantStudio™ Design and Analysis Software**: user guide. Estados Unidos: Thermo Fisher Scientific, 2015.

ARARIPE NETO, A. G. A. et al. Fisiopatologia da esquizofrenia: aspectos atuais. **Rev. Psiquiatr. Clín.**, v. 34, supl. 2, p. 198–203, 2007.

ARRANZ, M. J. et al. Analysis of a structural polymorphism in the 5–HT2A receptor and clinical response to clozapine. **Neurosci. Lett.**, v. 217, n. 2–3, p. 177–178, 1996.

_____. Association between clozapine response and allelic variation in 5hHT2A receptor gene. **Lancet**, v. 346, n. 8970, p. 281–282, 1995.

_____. Evidence for association between polymorphisms in the promoter and coding regions of the 5–HT 2A receptor gene and response to clozapine. **Mol. Psychiatry**, v. 3, n. 1, p. 61–66, 1998.

ARRANZ, M. J.; MUNRO, J.; BIRKETT, J. Pharmacogenetic prediction of clozapine response. **Lancet**, v. 355, n. 9215, p. 1615–1616, 2000.

ASENJO–LOBOS, C. et al. Clozapine versus other atypical antipsychotics for schizophrenia. **Cochrane Database Syst. Rev.**, n. 11, 2010. CD006633.

BADRI, F. et al. Dopamine and serotonin system genes may predict clinical response to clozapine. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 59, n. 4, p. A247, 1996.

BAN, T. A. Pharmacotherapy of mental illness–a historical analysis. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 25, n. 4, p. 709–727, 2001.

BECK, A. T. et al. Biological contributions. In: BECK, A. T. et al. **Schizophrenia:** cognitive theory, research, and therapy. New York: Guilford Press, 2009. p. 30–61.

BECKER, W. Stuporlösung durch Kokain. **Psychiatrisch–Neurologische Wochenschrift Halle an der Saule**, v. 22, p. 219, 1921.

BENMESSAUOUD, D.; HAMDANI, N.; BONI, C. Excess of transmission of the G allele of the A1438A/G polymorphism of the 5–HT_{2A}receptor gene in patients with schizophrenia responsive to antipsychotics. **BMC Psychiatry**, v. 8, p. 40, 2008.

BERTOLA, V. et al. Association analysis between the C516T polymorphism in the 5–HT2A receptor gene and schizophrenia. **Arq. Neuro–Psiquiatr.**, v. 65, n. 1, p. 11–14, 2007.

BHOJRAJ, T. S. et al. Gray matter loss in young relatives at risk for schizophrenia: relation with prodromal psychopathology. **Neuroimage**, v. 54, Suppl. 1, p. 272–279, 2011.

BLASI, G. et al. Variation in dopamine D2 and serotonin 5–HT2A receptor genes is associated with working memory processing and response to treatment with antipsychotics. **Neuropsychopharmacology**, v. 40, n. 7, p. 1600–1608, 2015.

BOTTLENDER, R. et al. Impact of duration of symptoms prior to first hospitalization on acute outcome in 998 schizophrenic patients. **Schizophr. Res.**, v. 44, n. 2, p. 145–150, 2000.

BRASIL. Conselho Nacional de Secretários de Saúde. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas—esquizofrenia refratária**. Brasília: CONASS, 2002.

_____. Ministério da Saúde. Portaria nº. 364, de 9 de abril de 2013. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas – Equizofrenia. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2013.

_____. _____. **Reforma psiquiátrica e política de saúde mental no Brasil. Documento apresentado à Conferência Regional de Reforma dos Serviços de Saúde Mental:** 15 anos depois de Caracas. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRUNTON, L.; CHABNER, B.; KNOLLMAN, B. **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics.** 12. ed. Nova York: The McGeaw–Hill Companies, 2011.

CARLSSON, A. et al. Future strategies in the discovery of new antipsychotic agents: focus on dopamine–glutaate interactions. In: BRUNELLO, N.; MENDLEWICZ, J.; RACAGNI, G. (Ed.). **New generation of antipsychotic drugs:** novel mechanisms of action. Basel: [s.n.], 1978. p. 118–129.

CHARLSON, F. J. et al. Global epidemiology and burden of schizophrenia: findings from the global burden of disease study 2016. **Schizophr. Bull.**, v. 44, n. 6, p. 1195–1203, 2018.

COSTA–DOOKHAN, K. A. et al. The clozapine to norclozapine ratio: a narrative review of the clinical utility to minimize metabolic risk and enhance clozapine efficacy. **Expert Opin. Drug Saf.**, v. 19, n. 1, p. 43–57, 2020.

CRISMON, L. et al. Schizophrenia. In: DIPIRO, J. T. et al. (Ed.). **Pharmacotherapy:** a pathophysiologic approach. 9. ed. New York: McGraw–Hill, 2014. p. 1019–1046.

CROCE, G. Pyretotherapy of schizophrenia in initial stages by injections of sulphur. **Am. J. Psychiatry**, v. 132, p. 1237–1245, 1932.

DEAN, A. G.; SULLIVAN, K. M.; SOE, M. M. **OpenEpi:** open source epidemiologic statistics for public health: version 3.03a. 2015. Available from: www.OpenEpi.com. Cited in: 2015 Jun 6.

DELISI, L. E. et al. Schizophrenia as a chronic active brain process: a study of progressive brain structural change subsequent to the onset of schizophrenia. **Psychiatry Res.**, v. 74, n. 3, p. 129–140, 1997.

DICKERSON, F. B.; LEHMAN, A. F. Evidence–based psychotherapy for schizophrenia. **J. Nerv. Ment. Dis.**, v. 199, n. 8, p. 520–526, 2011.

ERDMANN, J. et al. Systematic screening for mutations in the human serotonina–$_2$A (5–HT2A) receptor gene: identification of two naturally occurring receptor variants and association analysis in schizophrenia. **Hum. Genet.**, v. 97, n. 5, p. 614–619, 1996.

ESSALI, A. et al. Clozapine versus typical neuroleptic medication for schizophrenia. **Cochrane Database Syst. Rev.**, n. 2, 2009. CD000059.

FADEN, J.; CITROME, L. Resistance is not futile: treatment–refractory schizophrenia–overview, evaluation and treatment. **Expert. Opin. Pharmacother.,** v. 20, n. 1, p. 11–24, 2018.

FANOUS, A. H. et al. Genetic variation in the serotonin 2A receptor and suicidal ideation in a sample of 270 Irish high-density schizophrenia families. **Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.**, v. 150, n. 3, p. 411–417, 2009.

FEETHAM, S. L.; WILLIAMS, J. K. (Ed.). **Genetics in nursing.** Geneva: International Council of Nurses, 2004.

FIRTH, J. et al. Diet as a hot topic in psychiatry: a population-scale study of nutritional intake and inflammatory potential in severe mental illness. **World Psychiatry**, v. 17, n. 3, p. 365–367, 2018.

FITTON, A.; HELL, R. C. Clozapine. A review of its pharmacological properties, and therapeutic use in schizophrenia. **Drugs**, v. 40, n. 5, p. 722–747, 1990.

FRANKE, B. et al. Genetic influences on schizophrenia and subcortical brain volumes: large–scale proof of concept. **Nat. Neurosci.**, v. 19, n. 3, p. 420–431, 2016.

GARAY, R. P. et al. Potential serotonergic agentes for the treatment of schizophrenia. **Expert Opin. Investig. Drugs**, v. 25, n. 2, p. 159–70, 2016.

GEJMAN, P. V. et al. Genetics of schizophrenia: new findings and challenges. **Annu**. **Ver. Genomics Hum. Genet.**, v. 12, p. 121–144, 2011.

GOLAN, D. et al. **Princípios de farmacologia:** a base fisiopatológica da farmacoterapia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.
_____. **Princípios de farmacologia.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

GORDIS, L. Determinação da validade e confiabilidade de testes de diagnóstico e rastreamento. In: _____. **Epidemiologia.** 5. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2017. p. 85–108.

GÖREN, J. L. et al. The business case for expanded clozapine utilization. **Psychiatr. Serv.**, v. 67, n. 11, p. 1197–1205, 2016.

GOTTESMAN, I. I. **Schizophrenia genesis:** the origins of madness. New York: Freeman, 1991.

_____; SHIELDS, J. A critical review of recent adoption, twin, and family studies of schizophrenia: behavioral genetics perspectives. **Schizophr. Bull.**, v. 2, n. 3, p. 360–401, 1976.

GRECO, K. Isong news. **Medsurg Nurs.**, v. 11, n. 3, p. 152, 2002.

GREEN, M. F. et al. Neurocognitive deficits and functional outcome in schizophrenia: are we measuring the “right stuff”? **Schizophr. Bull.**, v. 26, n. 1, p. 119–136, 2000.

GREEN, M. F.; HORAN, W. Social cognition schizophrenia: rationale and strategies for training intervention. **Schizophr. Res.**, v. 136, p. S2–3, 2012.

GRESSIER, F. et al. Pharmacogenetics of clozapine response and induced weight gain: a comprehensive review and meta–analysis. **Eur. Neuropsychopharmacol.**, v. 26, n. 2, p. 163–185, 2016.

GU, L. et al. HTR2A−1438A/G polymorphism influences the risk of schizophrenia but not bipolar disorder or major depressive disorder: a meta-analysis. **J. Neurosci. Res.**, v. 91, n. 5, p. 623–633, 2013.

HARVEY, L. et al. Human genetic variations in the 5HT2A receptor: a single nucleotide polymorphism identified with altered response to clozapine. **Pharmacogenetics**, v. 13, n. 2, p. 107–118, 2003.

HIGUCHI, R. et al. Kinetic PCR analysis: real–time monitoring of DNA amplification reactions. **Biotechnology**, v. 11, n. 9, p. 1026–1030, 1993.

HJORTHØJ, C. et al. Years of potential life lost and life expectancy in schizophrenia: a systematic review and meta–analysis. **Lancet Psychiatry**, v. 4, n. 4, p. 295–301, 2017.

HOWES, O. D.; KAPUR, S. A neurobiological hypothesis for the classification of schizophrenia: type A (hyperdopaminergic) and type B (normodopaminergic). **Br. J. Psychiatry**, v. 205, n. 1, p. 1–3, 2014.

IGBAL, N.; VAN PRAAG, H. M. The role of serotonin in schizophrenia. **Eur. Neuropsychiopharmacol.**, Suppl. 5, p. 11–23, 1995.

INGHAM, S. D. Favorable results in dementia praecox with the use of castor oil and forced feeding. **Tr. Am. Neurol.**, v. 56, p. 401–407, 1930.

JÄÄSKELÄINEN, E. et al. A systematic review and meta–analysis of recovery in schizophrenia. **Schizophr. Res.**, v. 39, n. 6, p. 1296–1306, 2013.

JABLENSKY, A. Epidemiology of schizophrenia: the global burden of disease and disability. **Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.**, v. 250, n. 6, p. 274–285, 2000.

JANN, M. W. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of clozapine. **Clin. Pharmacokinet.**, v. 24, n. 2, p. 161–176, 1993.

JAVITT, D. C.; ZUKIN, S. R. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. **Am. J. Psychiatry**, v. 148, n. 10, p. 1301–1308, 1991.

JANSSEN, P. A. J. Haloperidol and the butyrophenones: the early years. In: BAN, T. A.; RAY, O. S. (Ed.). **A history of the CINP.** Brentwood: JM Productions, 1996. p. 444.

JENKINS, J. F.; LEA, D. H. **Nursing care in the genomic era:** a case–based approach. Sudbury: Jones & Bartlett Publishers, 2005.

JENTSCH, J. D.; ROTH, R. H. The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. **Neuropsychopharmacology**, v. 20, n. 3, p. 201–225, 1999.

JOHNSTONE, E. et al. Mechanism of the antipsychotic effect in treatment of chronic schizophrenia. **Lancet**, v. 1, n. 8069, p. 848–851, 1978.

JONES, P.; MURRAY, R. M. The genetics of schizophrenia is the genetics of neurodevelopment. **Br. J. Psychiatry**, v. 158, p. 615–623, 1991.

KAKIHARA, S. et al. Prediction of response to risperidone treatment with respect to plasma concencentrations of risperidone, catecholamine metabolites, and polymorphism of cytochrome P450 2D6. **Int. Clin. Psychopharmacol.**, v. 20, n. 2, p. 71–78, 2005.

KANE, J. M. et al. Comprehensive versus usual community care for first–episode psychosis: 2–year outcomes from the NIMH RAISE Early Treatment Program. **Am. J. Psychiatry**, v. 173, n. 4, p. 362–372, 2015.

_____. Clozapine for the treatment–resistant schizophrenia. A double–blind comparison with Chlorpromazine. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 45, n. 9, p. 789–795, 1988.

KAPUR, S.; REMINGTON, G. Dopamine D(2) receptors and their role in atypical antipsychotic action: still necessary and may even be sufficient. **Biol. Psychiatry**, v. 50, n. 11, p. 873–883, 2001.

KAUR, G. et al. An association study of dopaminergic (DRD2) and serotoninergic (5–HT2) gene polymorphism and schizophrenia in a North Indian population. **Asian J. Psychiatr.**, v. 39, p. 178–184, 2019.

_____. Identification of genetic correlates of response to Risperidone: Finding of a multicentric schizophrenia study from India. **Asian J. Psychiatr.**, v. 29, p. 174–182, 2017.

KEEFE, R. S. et al. Clinical trials of potential cognitive-enhancing drugs in schizophrenia: what have we learned so far? **Schizophr. Bull.**, v. 39, n. 2, p. 417–435, 2013.

KELLER, W. R. et al. Revisiting the diagnosis of schizophrenia: where have we been and where are we going? **CNS Neurosci. Ther.**, v. 17, n. 2, p. 83–88, 2010.

KENDLER, K. S.; GARDNER, C. O. The risc for psychiatric disorders in relatives of schizophrenic and control probands: a comparison of three independent studies. **Psychol. Med.**, v. 27, n. 2, p. 411–419, 1997.

KIRKPATRICK, B. S. et al. The NIMH–MATRICS consensus statement on negative symptoms. **Schizophr. Bull.**, v. 32, n. 2, p. 214–219, 2006.

KOHLRAUSCH, F. B. Pharmacogenetics in schizophrenia: a review of clozapine studies. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 35, n. 3, p. 305–17, 2013.

KUBISTA, M. et al. The real–time polymerase chain reaction. **Mol. Aspects. Med.**, v. 27, n. 2–3, p. 95–125, 2006.

LALLY, J. et al. Treatment–resistant schizophrenia: current insights on the pharmacogenomics of antipsychotics. **Pharmacogenomics Pers. Med.** v. 9, p. 117–129, 2016.

LAVRETSKY, H. History of schizophrenia as a psychiatric disorder. In: MUESER, K. T.; JESTE, D. V. (Ed.). **Clinical handbook of schizophrenia**. New York: Guilford Press, 2008. p. 3–13.

LEE, S. T. et al. Association study of 27 annotated genes for clozapine pharmacogenetics: validation of preexisting studies and identification of a new candidate gene, ABCB1, for treatment response. **J. Clin. Psychopharmacol.**, v. 32, v. 4, p. 441–448, 2012.

LEFF, J. et al. The International Pilot Study of Schizophrenia: five–year follow–up findings. **Psychol. Med.**, v. 22, n. 1, p. 131–145, 1992.

LEHMANN, H. E. Before they called it psychopharmacology. **Neuropsychopharmacology**, v. 8, n. 4, p. 291–303, 1993.

LIEBERMAN, J. et al. Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. **N. Engl. J. Med.**, v. 353, n. 12, p. 1209–1223, 2005.

LIMA, T. M.; SILVA, J. G. R. R.; BATISTA, E. C. Perfil epidemiológico de pacientes com esquizofrenia em uso de antipsicóticos de ação prolongada. **Rev. Contexto Saúde**, v. 17, n. 33, p. 3–16, 2017.

ŁUKASIEWICZ, S. et al. Effect of clozapine on the dimerization of serotonin 5–HT2A receptor and its genetic variant 5–HT2AH425Y with dopamine D2 receptor. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 659, n. 2–3, p. 114–123, 2011.

MALHOTRA, A. K. et al. Lack of association between polymorphisms in the 5–HT2A receptor gene and the antipsychotic response to clozapine. **Am. J. Psychiatry**, v. 153, n. 8, p. 1092–1094, 1996.

MALHOTRA, N. et al. Metabolic syndrome in schizophrenia. **Indian J. Psychol. Med.**, v. 35, n. 3, p. 227–240, 2013.

MAMOTTE, C. D. Genotyping of single nucleotide substitutions. **Clin. Biochem. Rev.**, v. 27, n. 1, p. 63–75, 2006.

MARI, J. J.; LEITÃO, R. J. A epidemiologia da esquizofrenia. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 22, supl. 1, p. 15–17, 2000.

MASELLIS, M. et al. Serotonin subtype 2 receptor genes and clinical response to clozapine in schizophrenia patients. **Neuropsychopharmacology**, v. 19, n. 2, p. 123–132, 1998.

MASSAT, I. et al. A European multicenter association study of HTR2A receptor polymorphism in bipolar affect disorder. **Am. J. Med. Genet.**, v. 96, n. 2, p. 136–140, 2000.

MASUDA, T. et al. Association with hospitalization and all–cause discontinuation among patients with schizophrenia on clozapine vs other oral second–generation antipsychotics: a systematic review and meta–analysis of cohort studies. **JAMA Psychiatry**, v. 76, n. 10, p. 1052–1062, 2019.

McDONALD, C.; MURPHY, K. C. The new genetics of schizophrenia. **Psychiatr. Clin. North Am.**, v. 26, n. 1, p. 41–63, 2003.

McGRATH, J. J. et al. A sistematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and metodology. **BMC Med**, v. 2, p. 13–35, 2004.

_____. Where GWAS and epidemiology meet: opportunities for the simultaneous study of genetic and environmental risk factors in schizophrenia. **Schizophr. Bull.**, v. 39, n. 5, p. 955–959, 2013.

MELTZER, H. Y. What's atypical about atypical antipsychotic drugs? **Curr. Opin. Pharmacol.**, v. 4, n. 1, p. 53–57, 2004.

_____; STAHL, S. M. The dopamine hypothesis of schizophrenia: a review. **Schizophr. Bull.**, v. 2, n. 1, p. 19–76, 1976.

MILLAN, M. J. et al. Negative symptoms of schizophrenia: clinical characteristics, pathophysiological substrates, experimental models and prospects for improved treatment. **Eur. Neuropsychopharmacol.**, v. 24, n. 5, p. 645–692, 2014.

MIRNICS, K. et al. Disease–specific changes in regulator of G–protein signaling 4 (RGS4) expression in schizophrenia. **Mol. Psychiatry**, v. 6, n. 3, p. 293–301, 2001.

MITA, T. et al. Decreased serotonin $2 and increased dopamine D2 receptors in chronic schizophrenics. **Biol. Psychiatry**, v. 21, n. 14, p. 1407–1414, 1986.

MITCHELL, A. J. et al. Is the prevalence of metabolic syndrome and metabolic abnormalities increased in early schizophrenia?: a comparative meta–analysis of first episode, untreated and treated patients. **Schizophr. Bull.**, v. 39, n. 2, p. 295–305, 2013.

MIYAMOTO, S. et al. Recent advances in the neurobiology of schizophrenia. **Mol. Interv.**, v. 3, n. 1, p. 27–39, 2003.

MORKEN, G. et al. Non–adhrence to antipsychotic medication, relapse and rehospitalisation in recente–onset schizophrenia. **BMC Psychiatry**, v. 8, p. 32, 2008.

MORRISON, A. P. et al. Cognitive behavioural therapy in clozapine–resistant schizophrenia (FOCUS): an assessor–blinded, randomised controlled trial. **Lancet Psychiatry**, v. 5, n. 8, p. 633–643, 2018.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **Database of Single Nucleotide Polymorphisms (dbSNP).** Bethesda: National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine, 2020.

NATIONAL COLLABORATING CENTRE FOR MENTAL HEALTH. **Psychosis and schizophrenia in adults:** treatment and management. UK: NICE, 2014.

NEBHINANI, N. et al. A longitudinal study of change in prevalence of metabolic syndrome and metabolic disturbances 3 months after Clozapine therapy. **J. Health Hum. Behav.**, v. 18, p. 9–17, 2013.

NORTON, N.; OWEN, M. J. Can we find the genes that predisposes to schizphrenia? In: McDONALD, C. et al. **Schizophrenia:** challenging the orthodox. London: Taylor & Francis, 2004. p. 17–22.

NÖTHEN, M. M. et al. Genetic variation of the 5–HT2A receptor and response to clozapine. **Lancet**, v. 346, n. 8979, p. 908–909, 1995.

O'DONOVAN, M. C. et al. Identification of loci associated with schizophrenia by genome–wide association and follow–up. **Nat. Genet.**, v. 40, n. 9, p. 1053–1055, 2008.

OLIVEIRA, R. M. et al. A realidade do viver com esquizofrenia. **Rev. Bras. Enferm.,** v. 65, n. 2, p. 309–316, 2012.

OLIVEIRA, W. F. Reforma psiquiátrica e atenção psicossocial: contextualização sócio histórica, desafios e perspectivas, SC. **Cad. Bras. Saúde Ment.**, v. 4, n. 9, p. 52–71, 2012.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Esquizofrenia**. Genebra: OMS, 2019. Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs397/es/. Acesso em: 5 abr. 2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Relatório sobre a saúde no mundo 2001:** saúde mental: nova concepção, nova esperança. Genebra: OMS, 2001.

OWEN, M. J. et al. Schizophrenia. **Lancet,** v. 388, n. 10039, p. 86–97, 2016.

OZAKI, N. et al. A naturally occurring amino acid substitution of the human serotonin 5-HT2A receptor influences amplitude and timing of intracellular calcium mobilization. **J. Neurochem.**, v. 68, n. 5, p. 2186–2193, 1997.

PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Princípios de bioestatística.** São Paulo: Thomson, 2004.

PARK, I. H. et al. Disrupted theory of mind network processing in response to idea of reference evocation in schizophrenia. **Acta Psychiatr. Scand.,** v. 123, n. 1, p. 43–54, 2011.

PARK, S. C. et al. Patterns of antipsychotic prescription to patients with schizophrenia in Korea: results from the health insurance review & assessment service–national patient sample. **J. Korean Med. Sci.**, v. 29, n. 5, p. 719–28, 2014.

PARSONS, M. J. et al. The -1438A/G polymorphism in the 5-hydroxytryptamine type 2A receptor gene affects promoter activity. **Biol. Psychiatry**, v. 56, n. 6, p. 406–410, 2004.

PATEL, K. R. et al. Schizophrenia: overview and treatment options. **PT.**, v. 39, n. 9, p. 638–45, 2014.

_____. Negative symptoms in schizophrenia: a study in a large clinical sample of patients using a novel automated method. **BMJ Open**, v. 5, n. 9, p. e007619, 2015.

PEÑAS–LLEDÓ, E. M. et al. Association between T102C and A–1438G polymorphisms in the serotonin receptor 2A (5–HT2A) gene and schizophrenia: relevance for treatment with antipsychotic drugs. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v. 45, n. 7, p. 835–838, 2007.

PEREIRA, M. G. **Epidemiologia:** teoria e prática. Rio de Janeiro: Guanabara–Koogan, 2001.

PEREIRA, T. C. **Introdução às técnicas de PCR convencional, em tempo real e digital.** Ribeirão Preto: Editora da Sociedade Brasileira de Genética, 2018. v. 1.

PURCELL, S. M. et al. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. **Nature**, v. 460, n. 7256, p. 748–752, 2009.

REED, G. E. The use of manganese chloride in dementia praecox. **Can. Med. Assoc. J.**, v. 21, n. 1, p. 46–49, 1929.

REMINGTON, G. et al. Clozapine and therapeutic drug monitoring: is there sufficient evidence for an upper threshold? **Psychopharmacology**, v. 225, n. 3, p. 505–518, 2013.

REYNOLDS, G. P. Increased concentrations and lateral asymmetry of amygdala dopamine in schizophrenia. **Nature**, v. 305, n. 5934, p. 527–529, 1983.

RISCH, N. J. Searching for genetic determinants in the new millennium. **Nature**, v. 405, n. 6788, p. 847–856, 2000.

SAIZ, P. A. et al. Association study of serotonin 2A receptor (5–HT2A) and serotonin transporter (5– HTT) gene polymorphisms with schizophrenia. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 31, n. 3, p. 741–745, 2007.

SAMARA, M. T. et al. How many patients with schizophrenia do not respond to antipsychotic drugs in the short term? An analysis based on individual patient data from randomized controlled trials. **Schizophr. Bull.**, v. 45, n. 3, p. 639–646, 2019.

SANDERS, A. R. et al. No significant association of 14 candidate genes with schizophrenia in a large European ancestry sample: implications for psychiatric genetics. **Am. J. Psychiatry**, v. 165, n. 4, p. 497–506, 2008.

SANTANA, V. **Estudo epidemiológico das doenças mentais em um bairro de Salvador.** 1982. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Universidade Federal da Bahia, Salvador.

SCHIZOPHRENIA WORKING GROUP OF THE PSYCHIATRIC GENOMICS CONSORTIUM. Biological insight from 108 schizophrenia–associated genetic loci. **Nature**, n. 511, p. 7510, p. 421–427, 2014.

SCHUMACHER, J. et al. Pharmacogenetics of the clozapine response. **Lancet**, v. 356, n. 9228, p. 506–507, 2000.

SEEMAN, P. et al. Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. **Nature**, v. 261, n. 5562, p. 717–719, 1976.

SHERRINGTON, R. et al. Localization of a susceptibility locus for schizophrenia on cromossome 5. **Nature**, v. 366, n. 6195, p. 164–167, 1988.

SHI, J. et al. Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. **Nature**, v. 460, n. 7256, p. 753–757, 2009.

SHIELDS, J.; GOTTESMAN, I. I.; SLATER, E. Kallmann's 1946 schizophrenic twin study in the light of new information. **Acta Psychiatr. Scand.**, v. 43, n. 4, p. 385–396, 1967.

SHIRAKAWA, I. Aspectos gerais do manejo do tratamento de pacientes com esquizofrenia. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 22, supl. 1, p. 56–58, 2000.

SICRAS–MAINAR, A. et al. Impact of negative symptoms on healthcare resource utilization and associated costs in adult outpatients with schizophrenia: a population–based study. **BMC Psychiatry**, v. 14, p. 225, 2014.

SILVEIRA, J. L. et al. Esquizofrenia e o uso de álcool e outras drogas: perfil epidemiológico. **Rev. RENE**, v. 15, n. 3, p. 436–446, 2014.

SMPC CLOZAPINE. **Clozaril 25mg Tablets**. 2019. Available from: https://www.medicines.org.uk/emc/product/4411/smpc. Cited in: 2000 Apr 5.

SOARES, J. F.; SIQUEIRA, A. L. **Introdução a estatística médica.** Belo Horizonte: COOPMED, 2002.

SOARES, M. H. et al. Sobrecarga e satisfação dos familiares de pacientes com esquizofrenia. **Congitare enfermagem**, v. 24, p. e54729, 2019.

SPARKES, R. S. et al. Assignment of a serotonin 5HT–2 receptor gene (HTR2) to human chromosome 13q14–q21 and mouse chromosome 14. **Genomics**, v. 9, n. 3, p. 461–465, 1991.

STEFAN, M. et al. **An Atlas of schizophrenia.** Londres: The Parthenon, 2002.

STEFANSSON, H. et al. Common variants conferring risk of schizophrenia. **Nature**, v. 460, n. 7256, p.744–747, 2009.

SUJITHA, S. P. et al. 5–Hydroxytryptamine (serotonin) 2A receptor gene polymorphism is associated with schizophrenia. **Indian J. Med. Res.**, v. 140, n. 6, p. 736–743, 2014.

SULLIVAN, P. F. et al. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta–analysis of twin studies. **Arch Gen Psychiatry**, v. 60, n. 2, p. 1187–1192, 2003.

SULLIVAN, P. F.; GESCHWIND, D. H. Defining the genetic, genomic, cellular, and diagnostic architectures of spychiatric disorders. **Cell**, v. 177, n. 1, p. 162–83, 2019.
SUN, L. et al. Meta–analysis of polymorphism rs6311 and rs6313 in the 5–HT2AR gene and schizophrenia. **Nord. J. Psychiatry**, v. 71, n. 1, p. 1–11, 2017.

TANDON, R. Antipsychotic treatment of schizophrenia: two steps forward, one step back. **Curr. Psychiatry Rep.**, v. 9, n. 4, p. 263–264, 2007.

_____; CARPENTER, W. T.; DAVIS, J. M. Antipsicóticos de primeira e segunda geração: aprendendo com CUtLASS e CATIE. **Arq. Psiquiatr. Geral**, v. 64, n. 8, p. 977–978, 2007.

TANDON, R. et al. Schizophrenia, “just the facts” 4. Clinical features and conceptualization. **Schizophr. Bull.**, v. 110, n. 1–3, p. 1–23, 2009.

TEASDALE, S. B. et al. Dietary intake of people with severe mental illness: systematic review and meta–analysis. **Br. J. Psychiatry**, v. 214, n. 5, p. 251–259, 2019.

TEE, S. F. et al. Linkage of schizophrenia with TPH2 and 5–HTR2A gene polymorphisms in the Malay population. **Genet. Mol. Res.**, v. 9, n. 3, p. 1274–1278, 2010.

TRIOLA, M. F. **Introdução à estatística.** 10. Rio de Janeiro: LTC, 2008.

TSUANG, M. T.; VANDERMEY, R. **Genes and the mind:** inheritance of mental illness. Oxford: Oxford University Press, 1980.

TSUNOKA, T. et al. Association analysis of GRM2 and HTR2A with methamphetamine–induced psychosis and schizophrenia in the Japanese population. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 34, n. 4, p. 639–644, 2010.

VALLADA FILHO, H. P.; GARDNER, C. O. Esquizofrenia: aspectos genéticos e estudos de fatores de risco. **Braz. J. Psychiatry**, v. 22, p. 2–4, 2000.

VOLKOW, N. D. Substance use disorders in schizophrenia–clinical implications of comorbidity. **Schizophr. Bull.**, v. 35, n. 3, p. 469–472, 2009.

WARREN, J. T. et al. Na *Mspl* polymorphism in the hyman serotonin receptor gene (HTR2): detection by DGGE and RFLP analysis. **Hum. Mol. Genet.**, v. 2, n. 3, p. 338, 1993.

WEINBERGER, D.; HARRISON, P. **Schizophrenia.** 3. ed. Chichester: Wiley Blackwell, 2011.

WOHL, M.; GORWOOD, P. Paternal ages below or above 35 years old are associated with a different risk of schizophrenia in the offspring. **Eur. Psychiatry**, v. 22, n. 1, p. 22–26, 2007.

WU, E. Q. et al. The economic burden of schizophrenia in the United States in 2002. **J. Clin. Psychiatry**, v. 66, n. 9, p. 1122–9, 2005.

ZAKHARYAN, R. et al. Association of Genetic Variants of Dopamine and Serotonin Receptors with Schizophrenia. **Arch. Med. Res.**, v. 51, n. 1, p. 13–20, 2020.

ZHOU, Y. et al. Neuregulin 3 rs10748842 polymorphism contributes to the effect of body mass index on cognitive impairment in patients with schizophrenia. **Transl. Psychiatry**, v. 10, n. 62, p. 1–9, 2020.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFSJ UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Convite

Você _____, do sexo _____ com ____ anos de idade, natural de _____, residente na rua _____, de profissão _____, RG nº_____, está sendo convidado a participar da pesquisa entitulada**"ESQUIZOFRENIA REFRATÁRIA: Prevalência de polimorfismos genéticos, Síndrome Metabólica e Qualidade de Vida de Pacientes em uso de Clozapina"**sob a responsabilidade do pesquisador Prof. Dr. Richardson Miranda Machado, a qual tem como objetivo principal analisar a ocorrência de síndrome metabólica em portadores de esquizofrenia refratária em uso de clozapina, sua relação com a presença de polimorfismo genético e a possível relação com a qualidade de vida.

Este estudo poderá trazer benefícios devido à ampliação no conhecimento da epidemiologia da síndrome metabólica nas pessoas que fazem uso de clozapina, além de identificar a relação com a presença de polimorfismo e qualidade de vida. E assim, esta pesquisa almeja-se possibilitar e subsidiar a construção de políticas públicas de saúde direcionadas a esta população a fim de que sejam implementadas ações de promoção, prevenção e reabilitação da saúde física e psíquica, para a melhora da qualidade de vida desses pacientes.A participação nesta pesquisa consistirá em responder a uma entrevista semiestruturada na qual serão abordados dados sociodemográficos e clínicos, como, por exemplo, sexo, idade, estado civil, profissão, renda familiar, escolaridade entre outros e o instrumento de avaliação da qualidade de vida. Haverá a submissãode uma avaliação clínica com a medição do peso, altura e circunferência abdominal, bem como realização de coleta de sangue para exame laboratorial para analise de glicemia, colesterol HDL e triglicérides, além de exame genético para análise de polimorfismo.

O risco na participação neste estudo está relacionado à possibilidade de constrangimento, ou reações emocionais, durante a realização das entrevistas. Também há o risco de exposição à sensibilidade dolorosa e ao material (sangue) durante o momento da coleta, assim como o risco pelos pesquisadores pelo contato com sangue.

_____ _____

Assinatura do Participante de pesquisa Assinatura do Pesquisador Responsável

Contudo, esses riscos serão minimizados através da utilização de técnicas e princípios assépticos, materiais descartáveis de uso individual e coleta de sangue realizada por colaborador treinado e experiente. Além disso, a entrevista será realizada em local sigiloso e confortável, somente com o pesquisador e o entrevistado, proporcionando um ambiente calmo. Porém, em casos de danos decorrentes da pesquisa serão tomadas as medidas de ressarcimento, como a compensação material, nas despesas do participante e acompanhantes, caso houver, tais como transporte, alimentação ou outro dano decorrente do procedimento.

É garantido ao participanteo total sigilo e esclarecimentos sempre que o desejar. O direito ao transporte no caso de ter que deslocar e que a participação está isenta de despesas e que em caso de gastos, será reembolsado. Os resultados do estudo serão poderão divulgados em artigos científicos e seminários, mas que a confidencialidade do participante será preservada.

E este documento será emitido em duas vias, sendo uma ao participante e outra arquivada com os pesquisadores.

Declaro que, enquanto participante, obtive espontaneamente o consentimento deste participante de pesquisa para realizar este estudo, fui devidamente esclarecido sobre as questões da pesquisa, bem como a participação nela e aceito o convite em participar do mesmo. E concordo em participar voluntariamente deste estudo sabendo que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem nenhum prejuízo ou perda de qualquer benefício. E sei ainda que serei indenizado, caso algum dano decorrente da pesquisa ocorra, e serei conduzido as medidas de encaminhamento e assistência caso necessário.Sei que posso saber informações sobre a pesquisa em qualquer momento com o pesquisador e/ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São João Del Rei- UFSJ.

_____/ _____/_____

Assinatura do Participante Data

_____

Assinaturado Pesquisador responsável

Contato do Pesquisador:

Prof. Dr. Richardson Miranda Machado

Rua Sebastião Gonçalves Coelho, 400. Bairro Chanadour, CEP 35.501-296.

Divinópolis – MG, Telefone: (37) 8801-9356.

Contato do Comitê de Ética UFSJ-CCO:

Rua Sebastião Gonçalves Coelho, 400. Bairro Chanadour, CEP 35.501-296. Divinópolis – MG, Telefone: (37)3221-1580, Fax: (37) 3221-1580, e-mail: cepes_cco@ufsj.edu.br

_____ _____

Assinatura do Participante de pesquisa Assinatura do Pesquisador Responsável

Eu (nós), _____, li e/ou ouvi as informações acima e entendi qual o motivo da pesquisa e o que será realizado, como está escrito neste termo, declaro que aceito o convite em participar da pesquisa em questão por livre vontade não tendo sofrido nenhuma forma de pressão ou influência indevida.

_____

Assinatura do Participante de pesquisa

Data: _____/ _____/_____

Impressão datiloscópica:

_____ _____

Rúbrica do Participante da Pesquisa Rúbrica do pesquisador responsávelpela obtenção do TCLE

APÊNDICE B – Questionário sociodemográfico

QUESTIONÁRIO SOCIODEMOGRÁFICO E CLÍNICO

Nome completo do paciente:		
Nº do paciente: _____	Data da coleta: ___/___/___	Local da entrevista: ( ) 1.Serviço de saúde ( ) 2.Casa do paciente
Data de Nascimento:___/___/___	1. Sexo: ( ) 1.Masculino ( ) 2.Feminino	
Entrevistador: a partir desta parte você deve ler as perguntas para o paciente		
2. Qual é o seu estado civil? ( ) 1.Solteiro(a) ( ) 2.Casado(a)/União Consensual ( )Divorciado(a)/Desquitado(a)/Separado(a)( ) 4.Viúvo(a) ( ) 5. Não sabe/ignorado		
3. Até que série você estudou ou ainda estuda? ( ) 1.Analfabeto ( ) 2.Ensino fundamental incompleto ( ) 3.Ens. fundamental completo ( ) 4.Ensino médio incompleto ( ) 5.Ensino médio completo ( ) 6. Ens. Superior incompleto ( ) 7.Ensino superior completo ( ) 8.Não sabe/ignorado		
4. Quantos filhos você tem? ( )1.Não tem ( ) 2.Um filho ( ) 3.Dois filhos ( ) 4.Três filhos ou mais ( ) 5.Não sabe/ignorado		
5. Você trabalha atualmente? ( ) 1.Sim ( ) 2.Não	5.a -Se SIM, qual é o seu trabalho atual? _____	
5.a – Se **NÃO**, há quanto tempo parou de trabalhar? _____ **Não se aplica ( ) (Marcar "0")**	"Entrevistador marque sim ou não" 6.a.1 – Tem trabalho remunerado com carteira ( ) 1.Sim ( )2.Não 6.a.2 – Tem trabalho diário remunerado sem carteira ( ) 1.Sim ( ) 2.Não 6.a.3 – Tem trabalho não diário regular remunerado ( ) 1.Sim ( ) 2.Não 6.a.4 – Faz "bicos" externos esporádicos remunerado ( ) 1.Sim ( ) 2.Não 6.a.5 – Recebe aposentadoria ( ) 1.Sim ( ) 2.Não 6.a.6 – Recebe ajuda financeira de alguém ( ) 1.Sim ( ) 2.Não **Não se aplica ( ) (Marcar "0")**	
6. Com quem você mora atualmente? ( ) 1.Pais ( ) 2. Esposo(a) ( ) 3.Filhos ( ) 4.Sozinho ( ) 5.Instituição ( ) 6.Outros ( ) 7.Não sabe	7. Quantas pessoas moram em sua casa? _____	
8. Qual é a sua renda familiar atual? (Somando os salários de todas as pessoas de sua casa) ( ) 1.Até 1 salário mínimo(R$724,00) ( ) 2.Até 2 salários mínimos(R$1448,00) ( ) 3.De 3 a 4 salários mínimos(R$2172,00-R$2896,00) ( ) 4.Acima de 5 salários mínimos(R$3620,00) ( ) 6.Não sabe		
9. Onde você faz o acompanhamento psiquiátrico? ( ) 1.Rede Pública ( ) 2. Rede particular	10.Há quanto tempo você faz tratamento psiquiátrico? ( ) 1.Menos de 1 ano ( ) 2.De 1 a 2 anos ( ) 3.De 3 a 4 anos ( ) 4. De 5 a 9 anos ( ) 5.Acima de 10 anos ( ) 6.Não sabe	
11. Quantas vezes você vai ao médico psiquiatra para consulta? _____		
12. Você já ficou internado em hospital psiquiátrico? ( ) 1Sim ( ) 2.Não	13. Se sim, quantas vezes foi internado? _____	
14. Há quanto tempo você usa clozapina? ( ) 1.Há menos de 1 ano ( ) 2.Entre 1 e 2 anos ( ) 3.Entre 3 e 4 anos ( ) 4.Acima de 5 anos ( ) 5.Não sabe		
16. Você possui alguma destas doenças? ( ) 1.Hipertensão ( ) 2.Diabetes ( ) 3.Doença do coração ( ) 4.Doença renal ( ) 5.Outra:_____ ( ) 6.Não possui		

QUESTIONÁRIO SOCIODEMOGRÁFICO E CLÍNICO

17. Quantos remédios você toma por dia? ( ) 1.Apenas 1 ( ) 2. 2 medicamentos ( ) 3. 3 medicamentos ( ) 4. Acima de 4 ( ) 5.Não sabe	18. Quais são eles? ( ) 1.Não Sabe Nome Quantidade diária 2._____ _____ 3._____ _____ 4._____ _____ 5._____ _____
15. Você acha que o (os) remédio (os) que você toma lhe prejudica?(de alguma forma, provocando uma sensação desagradável). ( ) 1.Não prejudica em nada ( ) 2.Prejudica, mas convivo bem com eles ( ) 3.Prejudica e atrapalha muito ( ) 4.Outros ( ) 5.Não sabe	
19. O que você diria da sua satisfação com a saúde? Você se considera: ( ) 1.Uma pessoa insatisfeita (apresenta várias queixas) ( ) 2.Uma pessoa mais ou menos satisfeita (algumas queixas) ( ) 3.Uma pessoa completamente satisfeita com a saúde (nenhuma queixa) ( ) 4.Não sabe	20. Você fuma atualmente? ( ) 1.Sim ( ) 2. Não → siga para a 26 ( ) 3.Ex-fumante → siga para a 23
21. Quantos cigarros você fuma por dia? _____	22. Há quanto tempo você fuma? _____
23. Há quanto tempo que parou de fumar? _____	24. Quantos cigarros você fumava por dia? _____
25. Durante quanto tempo você fumou? _____	26. Você faz uso de bebida alcoólica atualmente? ( ) 1.Sim ( ) 2. Não→ ir para a 28
27. Quantas vezes, nos últimos 30 dias, você bebeu um ou mais drinques em um único dia? (Um drinque = uma lata de cerveja de 350 ml, uma taça de vinho ou uma dose de bebida destilada) () 1.Todos os dias ou 4 – 6 vezes por semana ( ) 2. De 3 a 5 vezes por semana ( ) 3.De 1 a 2 vezes por semana ( ) 4. Menos de uma vez por semana ( ) 5. Não bebeu nos últimos 30 dias ( ) 6.Não sabe	
28. Durante seus períodos de folga ou lazer, nos últimos 90 dias, com que frequência você caminhou para fazer exercícios ou fez ginástica ou praticou algum esporte por pelo menos 30 minutos? ( ) 1.Todos os dias ou 4 – 6 vezes por semana ( ) 2. De 3 a 5 vezes por semana ( ) 3.De 1 a 2 vezes por semana ( ) 4. Menos de uma vez por semana ( ) 5.Não caminhou nos últimos 90 dias ( ) 6.Não sabe	

VERIFIQUE SE TODAS AS QUESTÕES FORAM PERGUNTADAS E AS RESPOSTAS CORRETAMENTE ANOTADAS. SE SIM, AGRADEÇA AO ENTREVISTADO E ENCERRE A ENTREVISTA

NOME ENTREVISTADOR: _____

ASSINATURA: _____Data:_____/_____/_____

ANEXOS

ANEXOS A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

CAMPUS CENTRO OESTE
DONA LINDU - CCO/
UNIVERSIDADE FEDERAL DE

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESQUIZOFRENIA REFRATÁRIA: Prevalência de polimorfismos dos genes DRD2 e DRD3 Síndrome Metabólica em Pacientes em uso de Clozapina

Pesquisador: Richardson Miranda Machado

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 50020215.0.0000.5545

Instituição Proponente: Fundação Universidade Federal de São João Del Rei - C. C. Oeste Dona

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.406.658

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo epidemiológico de caráter transversal e analítico, com abordagem quantitativa dos dados. Abordagem esta que se caracteriza por estudo epidemiológico, observacional e descritivo, que mede ao mesmo tempo a prevalência da exposição e do efeito em uma amostra populacional, em um momento temporário; isto é, permite estimar a magnitude e distribuição de uma doença ou condição em um momento dado(GORDIS, 2004). Sendo assim possibilitam o primeiro momento de análise de uma associação, através da identificação dos desfechos existentes e possíveis fatores associados ou não a eles, em diferentes graus.

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO GERAL:

Analisar a ocorrência de síndrome metabólica em portadores de esquizofrenia refratária em uso de clozapina, sua relação com polimorfismos relacionados aos genes DRD2 e DRD3 e a associação com a qualidade de vida dos pacientes.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

a) Descrever o perfil sóciodemográfico e clínico dos pacientes portadores de esquizofrenia

Endereço: SEBASTIAO GONCALVES COELHO
Bairro: CHANADOUR **CEP:** 35.501-296
UF: MG **Município:** DIVINOPOLIS
Telefone: (37)3221-1580 **Fax:** (37)3221-1580 **E-mail:** cepes_cco@ufsj.edu.br

refratária em uso de clozapina;
b) Estimar a prevalência de síndrome metabólica e de seus componentes;
c) Associar a prevalência de síndrome metabólica e de seus componentes individuais a variáveis sociodemográficas e clínicas;
d) Verificar se variáveis sociodemográficas, clínicas, antropométricas e bioquímicas estão associadas a uma melhor qualidade de vida;
e) Identificar a presença dos seguintes polimorfismos do sistema dopaminérgico:1- Polimorfismo TaqI A do DRD2 (rs1800497);2- Polimorfismo -141C (Ins/Del) do DRD2 (rs1799732);3- Polimorfismo Ser-9-Gly do DRD3 (rs6280).
f) Investigar a associação entre os polimorfismos e a ocorrência de síndrome metabólica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O risco de participação neste estudo está relacionado a possibilidade de constrangimento, ou reações emocionais, durante a realização das entrevistas. Também há o risco de exposição a sensibilidade dolorosa e ao material biológico (sangue) durante o momento da coleta, assim como o risco para os pesquisadores pelo contato com sangue. Os mesmos serão notadamente minimizados através da manutenção da privacidade do mesmos, uso de sala reservada para a entrevista,ambiente confortável, manutenção do sigilo, explicação prévia dos objetivos da pesquisa com posterior assinatura no termo de compromisso. Além disso, serão utilizados materiais descartáveis de uso individual, técnica asséptica, bem como o sangue será coletado por um técnico de enfermagem experiente e capacitado.
O estudo poderá trazer benefícios como prevenir e reduzir problemas de saúde como síndrome metabólica e a refratariedade da esquizofrenia

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A definição da capacidade de entender e responder a pesquisa é subjetiva e apenas o item destacado "isso será avaliado juntamente com o participante explicando os objetivos da pesquisa após a leitura do TCLE na íntegra" não pode predizer a capacidade do participante responder ou não a pesquisa.
Apresenta a Escala de Avaliação da Qualidade de Vida de Pacientes com Esquisofrenia: QLS-BR.
Apresenta o questionário sócio-demográfico-clínico.
TCLE - atende às recomendações deste CEPES

CAMPUS CENTRO OESTE DONA LINDU - CCO/ UNIVERSIDADE FEDERAL DE

Continuação do Parecer: 1.406.658

Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorizacao2.pdf	02/10/2015 16:39:04	Richardson Miranda Machado	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

DIVINOPOLIS, 11 de Fevereiro de 2016

Assinado por:
JULIANO TEIXEIRA MORAES
(Coordenador)

Endereço: SEBASTIAO GONCALVES COELHO
Bairro: CHANADOUR **CEP:** 35.501-296
UF: MG **Município:** DIVINOPOLIS
Telefone: (37)3221-1580 **Fax:** (37)3221-1580 **E-mail:** cepes_cco@ufsj.edu.br