

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Ailton Cezário Alves Júnior

**SÍNDROME DE SEGAWA: aprimoramento do fenótipo e proposta de
gestão de casos**

Belo Horizonte

2023

Ailton Cezário Alves Júnior

SÍNDROME DE SEGAWA: aprimoramento do fenótipo e proposta de gestão de casos

Versão final

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Saúde da Criança e do Adolescente.

Orientadora: Dra. Eugenia Ribeiro Valadares

Coorientador: Dr. Frederico Duarte Garcia

Linha de pesquisa: Distúrbios Neurológicos, Psicológicos, da Fonação e do Desenvolvimento da Criança e do Adolescente

Belo Horizonte

2023

A474s Alves Júnior, Ailton Cezário.
Síndrome de Segawa [recursos eletrônicos]: aprimoramento do fenótipo e proposta de gestão de casos. / Ailton Cezário Alves Júnior. - - Belo Horizonte: 2023.
297 f.: il.
Formato: PDF.
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Eugenia Ribeiro Valadares.
Coorientador (a): Frederico Duarte Garcia.
Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Distúrbios Distônicos. 2. Transtornos Mentais. 3. Administração de Caso. 4. Gravidez. 5. Síndrome das Pernas Inquietas. 6. Dissertação Acadêmica. I. Valadares, Eugenia Ribeiro. II. Garcia, Frederico Duarte. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WS 340.5



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA - CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE
ATA DE DEFESA DE TESE

Às oito horas e trinta minutos do dia dois de junho de dois mil e vinte e três, na sala 526 (Sala de Videoconferência do CPG), 5º andar da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais, em transmissão híbrida simultânea pela Plataforma LifeSize, hospedada no link: <https://signup.lifesize.com/>, realizou-se defesa de tese do aluno **AILTON CEZÁRIO ALVES JÚNIOR**, número de registro 2019709303, graduado no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIAS DA SAÚDE, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde-Saúde da Criança e do Adolescente. A presidência da sessão coube à Prof.^a Eugênia Ribeiro Valadares – Orientadora (UFMG). Inicialmente a Presidente, após dar conhecimento aos presentes do teor das Normas Regulamentares do trabalho final de Pós-Graduação, fez a apresentação da Comissão Examinadora, assim, constituída pelos seguintes Professores Doutores: Raquel Tavares Boy da Silva (UERJ), Luiz Carlos Santana Silva (UFPA), Maria Raquel Santos Carvalho (UFMG), Keyla Christy Christine Mendes Sampaio Cunha (UFMG) e Fabrício de Araújo Moreira (UFMG). O Prof. Frederico Duarte Garcia (UFMG) participou da sessão na qualidade de coorientador. Em seguida, a Presidente autorizou ao aluno para iniciar a apresentação de seu trabalho final intitulado **“SÍNDROME DE SEGAWA: aprimoramento do fenótipo e proposta de gestão de casos”**. Seguiu-se à arguição pela comissão Examinadora, com a respectiva defesa do aluno. Logo após a Comissão reuniu-se sem a presença do candidato e do público para julgamento e expedição do resultado da avaliação do trabalho final do aluno e decidiu considerar a tese Aprovada. O resultado final foi comunicado publicamente ao aluno pela Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, a Presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ata que, após lida, será assinada eletronicamente por todos os membros da Comissão Examinadora presente através do SEI (Sistema Eletrônico de Informações) do Governo Federal.

Belo Horizonte, 02 de junho de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Maria Raquel Santos Carvalho, Membro**, em 02/06/2023, às 16:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Frederico Duarte Garcia, Professor do Magistério Superior**, em 02/06/2023, às 16:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eugenia Ribeiro Valadares, Professora Magistério Superior - Voluntária**, em 03/06/2023, às 10:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabrício de Araújo Moreira, Professor do Magistério Superior**, em 05/06/2023, às 08:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Carlos Santana da Silva, Usuário Externo**, em 14/06/2023, às 22:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Tavares Boy da Silva, Usuário Externo**, em 20/06/2023, às 15:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

*Ao Criador de todas as coisas, as quais ao seu
tempo revelarão propósitos.*

AGRADECIMENTOS

A todos os pacientes e seus familiares envolvidos nesse projeto que, com sua própria história, contribuíram para o caminho do conhecimento.

À minha sempre professora orientadora Dra. Eugenia Ribeiro Valadares, incansável e competente, cujo trabalho e dedicação foram capazes de transformar minha vida e tantas outras vidas raras.

Ao Professor Frederico Duarte Garcia pela partilha de conhecimento e gentileza.

Ao Professor Alexei Manso Correa Machado por exercer seu talento com propriedade e generosidade em todos esses anos de pesquisa.

A todos os mestres e demais funcionários da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais que contribuíram para que o desejo e a informação resultassem em ciência.

À minha esposa Ana Carla e à minha filha Anne pelo companheirismo e infindável compreensão durante essa jornada.

À minha família e, em especial, meus avós Pedro e Florinda, pela dedicação e valores transmitidos ao longo de suas vidas. Vocês escolheram a melhor parte.

Enfim, a cada pequena decisão diária que, com suas perdas e ganhos, me ensinaram a resiliência.

Vidas são como bicicletas: quando ganham pernas procuram seus destinos (Ailton Cezário
Alves Júnior).

Resumo

Introdução: A ultrarrara síndrome de Segawa, ou distonia dopa-responsiva (DRD) causada por variantes em heterozigose no gene da GTP ciclohidrolase 1 (DYT/PARK-*GCH1* AD), apresenta manifestações motoras conhecidas e sintomas não motores (SNM) menos estudados.

Objetivos: Ampliar o conhecimento das manifestações clínico-laboratoriais dessa síndrome, contribuindo para definir sua penetrância incompleta e a relevância do uso de levodopa/outras psicofármacos em seu fenótipo. Propor uma tecnologia de gestão de casos para indivíduos acometidos.

Métodos: 1) Familiares com o diagnóstico clínico e/ou genético da variante IVS5+3insT em heterozigose no gene da GTP ciclohidrolase 1 ($n = 16-23$) e grupo controle intrafamiliar ($n = 12-21$); 2) Revisão histórica dos SNM na DYT/PARK-*GCH1* AD; 3) Investigação de SNM, por formulários validados, e medicamentos afins em indivíduos com a variante; 4) Dosagens séricas de aminoácidos (e seus influxos cerebrais estimados), serotonina e melatonina diurno-noturna, considerando o uso de levodopa/outras psicofármacos, interfaciadas com avaliações de SNM do mestrado afim; 5) Investigação do transtorno misto de ansiedade-depressão e da síndrome de pernas inquietas (SPI), por formulários validados; 6) Gestão de casos de indivíduos com DYT/PARK-*GCH1* AD, mediante ferramentas sistematizadas, incluindo gestantes com SPI.

Resultados: Sintomas depressivos se destacaram na revisão e tese. Considerados como SNM, aumentaram a penetrância estimada da DYT/PARK-*GCH1* AD de 58,80 para 88,20% nessa família. Em indivíduos com a variante, o influxo cerebral estimado médio da fenilalanina foi maior ($p = 0,015$) e, se usuários de levodopa, o nível médio de triptofano foi menor ($p = 0,046$). O uso de levodopa correlacionou-se com níveis mais baixos de melatonina noturna, comparados aos dos demais indivíduos com a variante ($p = 0,031$), sendo capaz de alterar outras correlações estudadas entre pares de variáveis. Não houve associação clara entre indivíduos com a DYT/PARK-*GCH1* AD e transtorno misto de ansiedade-depressão ou SPI, possivelmente por fatores confundidores. Duas primíparas com DRD e SPI em uso de levodopa tiveram bebês com perímetro cefálico no percentil 5,59, com recuperação no primeiro mês, evoluindo bem e amamentados. A gestão de casos dos demais indivíduos, nomeada "Gestão de Vidas Raras" (GVR), reduziu os sintomas motores da DRD (apenas um caso manteve resposta pobre) e da SPI (em 50% dos reavaliados no primeiro monitoramento e

em 100% no segundo; com gravidade média 44,87% menor no quarto monitoramento comparado ao início). A GVR também reduziu sintomas depressivos (em 53,85% dos indivíduos e 17,20% do escore médio), estados de anergia/abulia/apatia (em 38,38/31,55/81,75%) e o percentual de indivíduos com escala de impulsividade alterada (33,33 para 15,38%), comparativamente à avaliação inicial.

Conclusões: Sintomas depressivos determinaram aumento da penetrância incompleta. O uso de levodopa interferiu nas avaliações clínicas (como SPI e SNM) e laboratoriais propostas. O influxo cerebral aumentado de fenilalanina pode ser um marcador bioquímico diagnóstico nos indivíduos com a variante. Nestes, associações como uso de levodopa e menor melatonina sérica noturna devem ser aprofundadas, por possíveis benefícios como ingestão de melatonina para melhor qualidade de vida. A gestão de casos se mostrou efetiva nesses indivíduos, incluindo gestantes/nutrizes com SPI em uso de levodopa, e aplicável a outras doenças raras.

Palavras-chave: Síndrome de Segawa autossômica dominante. Distonia dopa-responsiva. Distúrbios distônicos. Transtornos mentais. Gestão de casos. Gestação. Síndrome das pernas inquietas.

Abstract

Introduction: The ultra-rare Segawa syndrome, or dopa-responsive dystonia (DRD) caused by heterozygous variants in the GTP cyclohydrolase 1 gene (AD DYT/PARK-*GCH1*), shows known motor manifestations and non-motor symptoms (NMS) less studied.

Objectives: To expand the knowledge of the clinical and laboratory manifestations of this syndrome, helping to define its incomplete penetrance and the relevance of levodopa/other psychotropic drugs in its phenotype. Propose case management technology for affected individuals.

Methods: 1) Relatives with the clinical and/or genetic diagnosis of the IVS5+3insT variant in heterozygosity in the GTP cyclohydrolase 1 gene (n = 16-23) and intrafamilial control group (n = 12-21); 2) Historical review of NMS in AD DYT/PARK-*GCH1*; 3) Investigation of NMS, by validated forms, and related drugs in individuals with the variant; 4) Investigation of serum levels of amino acids (and their estimated brain inflows), serotonin and daytime/nighttime melatonins, considering the use of levodopa/other psychotropic drugs, interfaced with related master's evaluations; 5) Investigation of mixed anxiety-depressive disorder and restless legs syndrome (RLS), by validated forms; 6) Case management of individuals with AD DYT/PARK-*GCH1*, through systematized tools, including pregnant women with RLS.

Results: Depressive symptoms stood out in the review and thesis. Considered NMS, they increased the estimated penetrance of AD DYT/PARK-*GCH1* from 58.80 to 88.20% in this family. In individuals with the genetic variant, the average estimated brain influx of phenylalanine was higher (p = 0.015), and, if levodopa users, the mean level of tryptophan was lower (p = 0.046). Levodopa use was correlated with lower nocturnal melatonin levels compared to the other individuals with the variant (p = 0.031), being able to change other studied correlations between pairs of variables. There was no clear association between individuals with the AD DYT/PARK-*GCH1* and mixed anxiety-depressive disorder or RLS, possibly due to confounding factors. Two primiparous women with DRD and RLS using levodopa had babies with head circumference at the 5.59th percentile, caught up in the first month, with proper development, and breastfeeding. The case management of other individuals, named "Management of Rare Lives" (MRL), reduced the motor symptoms of DRD (only one case maintained poor response) and RLS (in 50% of those reevaluated in the first monitoring and in 100% in the second one; with mean severity 44.87% lower in the

fourth monitoring compared to the beginning). Regarding the initial assessment, the MRL also reduced depressive symptoms (in 53.85% of the individuals and 17.20% of the mean score), anergy/abulia/apathy (in 38.38/31.55/81.75%), and the percentage of individuals with altered impulsivity scale (33.33 to 15.38%).

Conclusions: Depressive symptoms increased incomplete penetrance. Levodopa use influenced proposed laboratory and clinical evaluations (such as RLS and NMS). The increased cerebral influx of phenylalanine may be a diagnostic biochemical marker in individuals with the variant. In these, associations such as the use of levodopa and lower nocturnal serum melatonin should be deeper investigated, by supposed benefits such as melatonin intake for a better quality of life. Case management proved to be effective, including in pregnant/nursing women with RLS using levodopa, and applicable to other rare diseases.

Keywords: Segawa syndrome, autosomal dominant. Dystonia, dopa-responsive. Dystonic disorders. Mental disorders. Case management. Pregnancy. Restless legs syndrome.

Lista de abreviaturas, siglas e acrônimos

AA	Aminoácidos
BIS-11	Escala de Impulsividade de Barratt 11
BDI-II	Inventário de Depressão de Beck - II
BH ₄	Tetrahidrobiopterina
DP	Desvio Padrão
DRD	Distonia Responsiva à Dopamina
DYT5	Distonia 5, ou Distonia Progressiva com Variação Diurna
DYT5a	Doença de Segawa, ou Síndrome de Segawa Autossômica Dominante, ou Distonia Dopa-responsiva Autossômica Dominante
DYT/PARK- <i>GCH1</i>	Síndrome de Distonia Dopa-responsiva Causada pela Variante no Gene da Guanosina Trifosfato Ciclohidrolase 1
DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD	DYT/PARK- <i>GCH1</i> Autossômica Dominante
EDTA	Ethylenediamine Tetraacetic Acid
<i>GCH1</i>	Gene da Guanosina Trifosfato Ciclohidrolase 1
GTPCH 1	Enzima Guanosina Trifosfato Ciclohidrolase 1
GVR	Gestão de Vidas Raras
HGNC	HUGO Gene Nomenclature Committee
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
5-HTP	5-hidroxitriptofano
L-dopa	Levodopa
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
MEDLINE	<i>Medical Literature Analysis and Retrieval System Online</i>
M.I.N.I. PLUS	<i>Mini International Neuropsychiatric Interview Plus</i>
OMIM	<i>Online Mendelian Inheritance in Man®</i>
Phe	Fenilalanina
<i>PTS</i>	Gene 6-Piruvil Tetrahidrobiopterina Sintase
<i>QDPR</i>	Gene Quinoide Dihidropteridina redutase
SNM	Sintomas Não Motores
SPI	Síndrome de Pernas Inquietas
SR	Sepiapterina Redutase
<i>SPR</i>	Gene Sepiapterina Redutase

TDAH	Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade
TH	Tirosina Hidroxilase
<i>TH</i>	Gene Tirosina Hidroxilase
Trp	Triptofano
Tyr	Tirosina

Lista de tabelas

Tabela 1: Identificação e classificação dos artigos elegíveis em busca PubMed/NCBI, mediante os critérios selecionados, por temática, para o período 2010-2022 (n = 109)*	24
Tabela 2: Matriz para atenção programada aos indivíduos com a variante genética relacionada à DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD, a partir da estratificação de risco de complicações	155
Tabela 3: Características dos indivíduos com diagnóstico de DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD na avaliação inicial da gestão de casos	158
Tabela 4: Características não motoras pesquisadas nos indivíduos com diagnóstico de DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD na avaliação inicial da gestão de casos	160
Tabela 5: Características e indicadores dos monitoramentos na gestão de casos dos indivíduos com DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD	165

Lista de ilustrações

Gráfico 1: Classificação por temática e frequência/percentual dos artigos encontrados em busca PubMed/NCBI, mediante os descritores pesquisados, para o período 2010-2022 (n = 109)*	23
Gráfico 2: Distribuição genotípica dos pacientes (classificação e frequência/percentual) com síndrome de distonia dopa-responsiva no estudo de revisão de Weissbach et al. (2022) (n = 734 indivíduos) ...	28
Gráfico 3: Classificação e frequência/percentual de razões para incremento da dose inicial de levodopa dos indivíduos com DYT-PARK/ <i>GCH1</i> (n = 12)	162
Gráfico 4: Evolução da dosagem de L-dopa/dia por indivíduo que realizou o uso do fármaco nos momentos de avaliação/condução 1-8 da gestão de casos	163
Gráfico 5: Evolução dos valores da escala internacional de gravidade de síndrome de pernas inquietas em indivíduos com esse diagnóstico monitorados nos momentos de avaliação 1-6 da gestão de casos	169
Gráfico 6: Evolução dos escores do Inventário de Depressão de Beck - II nos indivíduos monitorados nos momentos de avaliação 1-7 da gestão de casos	170
Gráfico 7: Evolução do percentual de indivíduos com anergia, abulia e apatia nos momentos de avaliação 1-7 da gestão de casos	171
Gráfico 8: Evolução dos escores da Escala de Impulsividade BIS-11 nos indivíduos monitorados nos momentos de avaliação 1-7 da gestão de casos.....	173
Gráfico 9: Classificação e frequência/percentual de razões para incremento da dose de levodopa no monitoramento inicial dos indivíduos com DYT-PARK/ <i>GCH1</i> (n = 6).....	174
Gráfico 10: Descrição das condutas em relação ao uso dos antidepressivos no primeiro monitoramento dos indivíduos com DYT-PARK/ <i>GCH1</i> (n = 21).....	175
Gráfico 11: Descrição das condutas em relação ao uso dos antidepressivos no segundo monitoramento dos indivíduos com DYT-PARK/ <i>GCH1</i> (n = 20).....	180
 Figura 1: Via da pteridina	30
Figura 2: Fluxo diagnóstico para os fenótipos DRD e DRD-plus (adaptado de Lee WW, 2018)	40
 Quadro 1: Principais aspectos clínicos da doença de Segawa	47
Quadro 2: Sintomas não motores na distonia responsiva à dopamina: dados na literatura selecionados pela revisão de Antelmi et al., (2015)	53
Quadro 3: Resumo das características para o diagnóstico da síndrome de pernas inquietas conforme Grupo de Estudo Internacional da Síndrome de Pernas Inquietas	59
Quadro 4: Valores de referência dos aminoácidos séricos pesquisados para adolescentes e adultos, em nmol/ml	69

Quadro 5: Categorização da intensidade de possível depressão a partir da pontuação total obtida no Inventário de Depressão de Beck - II	74
Quadro 6: Definição de anergia, abulia e apatia	75
Quadro 7: Classificação do resultado motor do tratamento dos indivíduos com DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD	76
Quadro 8: Caracterização da natureza das demandas apresentadas em ambiente virtual pelos indivíduos com DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD na gestão de casos	156
Quadro 9: Avaliação qualitativa de participantes da Gestão de Vidas Raras	182

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 JUSTIFICATIVA.....	20
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	21
3.1 Mecanismo de busca sobre a DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD em base de dados	21
3.2 DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD: principais aspectos	25
3.2.1 Aspectos conceituais e epidemiológicos	25
3.2.2 Aspectos genéticos	26
3.2.3 Aspectos clínicos.....	30
3.2.3.1 Manifestações clínicas.....	30
3.2.3.2 Diagnóstico.....	34
3.2.3.3 Tratamento e outras bases para o manejo clínico	41
3.2.3.4 Aconselhamento genético	48
3.2.4 Aspectos fisiopatológicos.....	49
3.3 Sintomatologia não motora em distonias, com ênfase na DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD	52
3.4 Gestação na DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD	55
3.4.1 Síndrome de pernas inquietas em gestação com DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD.....	57
3.4.1.1 Síndrome de pernas inquietas.....	58
4 OBJETIVOS	64
4.1 Objetivo geral.....	64
4.2 Objetivos específicos.....	64
5 PACIENTES E MÉTODOS.....	66
5.1 Grupos amostrais.....	66
5.2 Revisão histórica da sintomatologia não motora na DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD	68
5.3 Avaliação laboratorial	68
5.4 Estimativa do influxo cerebral de aminoácidos	70
5.5 Investigação de transtorno misto de ansiedade-depressão	71
5.6 Investigação da síndrome de pernas inquietas	71
5.7 Acompanhamento dos indivíduos com DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD: gestão de casos	71
5.7.1 Inventário de Depressão de Beck	73
5.7.2 Avaliação semiestruturada de anergia, abulia e apatia.....	74
5.7.3 Escala de Impulsividade de Barratt 11	75
5.7.4 Avaliação do impacto motor da DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD	75
5.7.5 Escala de Graduação para a Síndrome de Pernas Inquietas do Grupo de Estudo Internacional da Síndrome de Pernas Inquietas	76
5.8 Banco de dados e análises estatísticas.....	76

5.9 Aspectos éticos e gestão de riscos	77
6 RESULTADOS	78
6.1 Artigo de revisão - “Sintomatologia não motora na doença de Segawa autossômica dominante: uma revisão histórica”	78
6.2 Artigo: “Neuropsychiatric and sleep study in autosomal dominant dopa-responsive dystonia”*	102
6.3 Artigo: “Altered amino acids and melatonin in individuals with autosomal dominant Segawa syndrome: impact of levodopa use and relation to non-motor symptoms”	110
6.4 Artigo: “Clinical Challenges in Pregnant Women with Segawa Disease and Restless Legs Syndrome”	135
6.5 Estudo: “Gestão de casos e monitoramento clínico dos indivíduos com DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD”	155
6.5.1 Elaboração e descrição operacional da matriz de atenção programada.....	155
6.5.2 Descrição inicial dos participantes com DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD, síndrome de pernas inquietas e transtorno misto de ansiedade-depressão na gestão de casos.....	157
6.5.3 Outros detalhamentos clínicos dos participantes com DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD no momento inicial da gestão de casos	159
6.5.3.1 Resposta ao tratamento dos sintomas motores	159
6.5.3.2 Sintomas depressivos/associados e impulsividade	159
6.5.4 Condutas estabelecidas e avaliações clínicas subsequentes dos participantes com DYT/PARK- <i>GCH1</i> AD	161
6.5.4.1 Primeira conduta pós-avaliação inicial.....	161
6.5.4.2 Avaliação e conduta – primeiro monitoramento	164
6.5.4.3 Avaliação e conduta – monitoramentos subsequentes	176
6.5.4.4 Avaliação qualitativa de participantes da Gestão de Vidas Raras.....	181
6.5.5 Discussão e conclusões	182
7 DISCUSSÃO.....	197
8 CONCLUSÕES.....	198
REFERÊNCIAS	200
ANEXOS.....	229

1 INTRODUÇÃO

Há meio século a síndrome de Segawa foi descrita como uma **distonia progressiva hereditária com variação diurna** (Segawa M et al., 1972). Posteriormente renomeada por Nygaard (1988) como **distonia responsiva à dopamina (DRD)**, essa síndrome também tem sido identificada por **distonia 5 (DYT5)** ou, em sua herança genética mais comum, **síndrome de Segawa autossômica dominante (DYT5a)**, **DRD clássica** e, mais recentemente, **síndrome de distonia dopa-responsiva causada pela variante no gene da Guanosina Trifosfato Ciclodrolase-1 (DYT/PARK-GCH1) autossômica dominante** (Marras C et al., 2016). Essa enfermidade também pode ser classificada como um distúrbio pediátrico hereditário atribuível a alterações da síntese de neurotransmissores (Pearl PL, 2004).

Classicamente, o conjunto de sinais e sintomas que configura a *DYT/PARK-GCH1* autossômica dominante (*DYT/PARK-GCH1 AD*) como síndrome é caracterizado pelo aparecimento na infância ou adolescência de distúrbios de postura e locomoção motora com a citada variação diurna, ocorrência simultânea ou tardia de parkinsonismo (podendo esse ser o principal ou único sintoma na idade adulta) e uma resposta excelente a baixas doses de levodopa (L-dopa) (Segawa M, 2000).

Na infância, as manifestações clínicas da *DYT/PARK-GCH1 AD* comumente têm início com distonia nos membros inferiores (Van Hove JL et al., 2006). Assim, cerca de 25% desses pacientes são erroneamente diagnosticados como portadores de uma paralisia cerebral atípica. Em cerca de 75% dos casos dessa DRD os sintomas se agravam no transcorrer do dia.

O curso natural da doença é progressivo nos primeiros anos até o momento em que se estabiliza (Hwang WJ et al., 2001). Nos pacientes em que a doença surge tardiamente, geralmente os sinais e sintomas da *DYT/PARK-GCH1 AD* são menos graves (Müller U, 2002).

A *DYT/PARK-GCH1 AD* é uma doença rara (ORPHANET, 2022); para outros, ultrarrara (Harari S e Humbert M, 2020). Porém, essa distonia pode estar subestimada devido ao recém-reconhecimento dessa condição específica e a não gravidade suficiente de muitos de seus sinais e sintomas a ponto de que as pessoas acometidas procurem por assistência médica.

As DRDs, que apresentam por definição atual um amplo espectro, podem ser herdadas como uma característica autossômica dominante ou recessiva. A *DYT/PARK-GCH1 AD*, também identificada por doença de Segawa e foco desse projeto de pesquisa, é causada por

mutações heterozigóticas no gene da Guanosina Trifosfato Ciclodrolase 1, símbolo do gene aprovado por Hugo Gene Nomenclature Committee (HGNC) *GCH1* (HGNC, 2022).

O transcrito completo do *GCH1* codifica a enzima Guanosina Trifosfato Ciclodrolase 1 (GTPCH 1), a qual é um cofator para tirosina hidroxilase (TH) e regula a síntese de tetrahidrobiopterina (BH₄). O BH₄ é um cofator essencial para as hidroxilases que convertem os aminoácidos (AAs) fenilalanina, tirosina e triptofano em, respectivamente, tirosina, L-dopa e serotonina. Assim, o adequado entendimento desses AAs, seus sistemas de transporte, como se regulam e seus papéis, assim como de seus subprodutos, é fundamental para aprimorar as interfaces de possíveis manifestações clínico-laboratoriais dessa enfermidade, permitindo formular a hipótese de diferenças nessas variáveis em indivíduos com a variante genética.

O diagnóstico de DYT/PARK-*GCH1* AD é estabelecido em um probando pela identificação de uma variante patogênica heterozigótica em *GCH1* por testes genéticos moleculares (Furukawa Y, 2019). Em indivíduos com suspeita de diagnóstico de DRD deficiente em GTPCH 1 e sem variantes patogênicas identificáveis em *GCH1*, testes bioquímicos podem ser necessários para a confirmação do diagnóstico, embora não disponíveis no Brasil. Na prática, mediante suspeita clínica, o diagnóstico dos pacientes que tenham sintomas motores comumente ocorre por critérios clínicos, baseado na melhora da distonia com uso oral de baixas doses iniciais de L-dopa (50 mg/dia), em poucas semanas.

A DYT/PARK-*GCH1* AD caracteriza-se na literatura por apresentar expressividade muito variável (o quanto determinado genótipo é expresso em um fenótipo) e uma baixa penetrância (percentual de indivíduos com determinado genótipo que expressam o fenótipo), a qual é relacionada ao gênero (estima-se que mulheres sejam duas a quatro vezes mais afetadas do que os homens). Entretanto, **presunções biológicas e registros de alguns autores permitem reforçar a hipótese de que sintomas não motores (SNM) possam efetivamente compor o fenótipo da DYT/PARK-*GCH1* AD, o que poderia impactar a análise de sua penetrância e de seu manejo clínico, abordada na presente tese. Ampliando o entendimento desse fenótipo e ressaltando o papel da L-dopa/outras psicofármacos, esta tese também investiga a existência de alterações no perfil clínico-laboratorial afins aos SNM de indivíduos afetados. Adicionalmente, mediante a cronicidade e complexidade desse manejo clínico, a presente tese propõe que pessoas com a DYT/PARK-*GCH1* AD se beneficiem da aplicação de uma tecnologia para o gerenciamento do cuidado a indivíduos com condições crônicas de saúde de maior complexidade: a gestão de casos.**

2 JUSTIFICATIVA

Embora o papel do metabolismo alterado da dopamina na disfunção motora dessa DRD seja conhecido e reversível, as consequências das deficiências de síntese desse e de outros neurotransmissores envolvidos na patogênese de possíveis SNM na DYT/PARK-*GCH1* AD, como serotonina e noradrenalina, ainda recebem atenção limitada.

Que pesem estudos como o de López-Lazo et al. (2011) e Brüggemann et al. (2014) não terem confirmado as impressões clínicas e presunções biológicas de uma frequência aumentada de SNM nessa DRD, em ambos os participantes utilizavam L-dopa.

Antelmi et al. (2015) afirmaram que, dadas as inúmeras funções do cofator BH₄, é razoável supor que na DYT/PARK-*GCH1* AD, outros sistemas, além do motor, estariam prejudicados. Além disso, também para Tadic et al. (2012) e Timmers et al. (2017), os SNM podem estar sendo negligenciados e/ou muito poucos dados contrastantes estão disponíveis sobre o assunto (Furukawa Y, 2019; Hahn H et al., 2001 e Van Hove JL et al., 2006).

Há 26 anos o acompanhamento de uma família por especialista em erros inatos do metabolismo e equipe multidisciplinar da Universidade Federal de Minas Gerais já apontava para elevadas taxas de ansiedade, distímia, depressão e transtornos do sono nesse grupo (Souza CP et al., 2008). O trabalho de mestrado do autor da presente tese estudou algumas manifestações não motoras da DYT/PARK-*GCH1* AD nessa família, identificando que os indivíduos com a variante genética apresentaram maior prevalência de episódio depressivo maior passado ($p = 0,046$), o que reforçou a hipótese de que a depressão deveria ser considerada como um SNM dessa DRD (Alves Júnior AC, 2017).

Mediante os limitados estudos afins e a variabilidade de seus resultados, a presente tese amplia nessa família acometida pela DYT/PARK-*GCH1* AD as investigações neuropsiquiátricas, laboratoriais e de seu curso clínico, incluindo condições como a gestação, a síndrome de pernas inquietas (SPI) e o uso de medicamentos. Nesse documento são trabalhadas as **hipóteses de que a penetrância incompleta desse distúrbio seja maior do que a habitualmente descrita; de que não somente a presença da variante genética, mas o uso de L-dopa/outras psicofármacos seja relevante na observação dessas manifestações clínico-laboratoriais, e de que a tecnologia de gestão de casos seja mais efetiva do que o cuidado fragmentado ofertado para o acompanhamento de indivíduos acometidos por essa condição genética rara.**

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Mecanismo de busca sobre a DYT/PARK-GCH1 AD em base de dados

Em outubro de 2020, buscas sistematizadas na literatura científica foram caracterizadas por limitada publicação sobre o tema. Como referência, consultando os termos *Segawa*, *Distonia responsiva à dopamina*, *Doença de Segawa* e afins como “palavras-chave” ou “descritores” no site dos Descritores em Ciências da Saúde (DeCs/MeSH) da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), não se obteve nenhum registro.

Em pesquisa simultânea realizada no portal do Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde, ou Biblioteca Regional de Medicina (BIREME) – BVS, em português, inglês e espanhol, a partir da sua base de dados LILACS, o termo “Segawa” contabilizou apenas seis resultados, sendo cinco referentes a estudos de caso. Dentre esses seis artigos, três foram publicados em espanhol, dois em português e um em inglês. Entretanto, aplicando filtro de data de publicação nos últimos dez anos, apenas um artigo foi encontrado, e em português, sobre os “Efeitos da cinesioterapia sobre o equilíbrio e a marcha de uma paciente com distonia de Segawa” (Silva RCG, 2017). Na mesma base LILACS, pesquisando o termo “Distonia responsiva dopamina” somente havia um artigo, do ano 2007, publicado em inglês, relatando estudo de caso com ênfase na mutação genética mapeada (Scola RH et al., 2007).

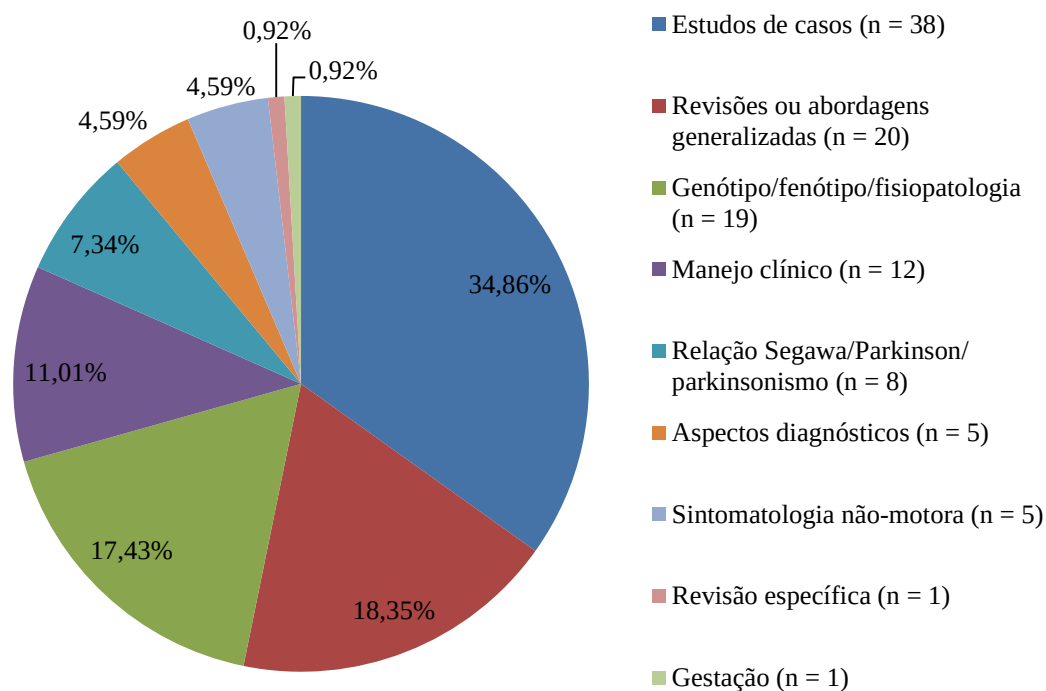
Já a busca de artigos na base de dados Scientific Electronic Library Online (SciELO) com o descritor “Segawa” também na data supracitada revelou apenas seis publicações, sendo quatro relacionadas ao tema, das quais três eram relatos de caso e apenas uma publicação dos últimos dez anos, com um relevante relato de bom resultado obstétrico em paciente com a doença de Segawa (Watanabe T, 2012). Nessa base de dados não havia registros com o descritor “distonia responsiva dopamina” ou similar.

Consulta recente (setembro de 2022) à ampla plataforma de busca de livre acesso PubMed/National Center for Biotechnology Information (NCBI), a qual compreende a base Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (PubMed/MEDLINE, 2022), ainda aponta para disponibilidade a uma limitada produção científica relacionada à temática. Utilizando-se os descritores ((Segawa disease[Title/Abstract]) OR (Segawa syndrome[Title/Abstract])) OR (Dopa-responsive dystonia[Title/Abstract]), 583 artigos foram identificados. Como o termo “Dystonia Dopa-responsive” foi introduzido nessa plataforma

apenas em 2010 e realizando a busca com o filtro dos últimos dez anos (2012-2022) se revelaria a supressão de um considerável número de artigos do início da década passada (muitos dos quais significativos, como um dos artigos seminais do próprio Masaya Segawa, 2011), se optou, para fins históricos, em se efetivar a busca para o período ampliado 2010-2022. Assim, 245 publicações foram encontradas, das quais 234 eram em língua inglesa ou espanhola (nenhuma em português) e 229 apresentavam texto completo. Dentre essas 229 publicações, havia cinco revisões sistemáticas (sobre tratamento de tremor distônico; sono em pacientes com distonia primária; atraso diagnóstico e sinais motores residuais em DRD por deficiência de GTPCH 1; tratamento de DRD e DRD-Plus e; por último, a relação de genótipo, fenótipo e tratamento na DRD). Adicionalmente, encontrou-se apenas uma meta-análise (sobre deficiência de GTPCH 1 autossômica dominante de início precoce: atraso diagnóstico e sinais motores residuais). Não se identificaram protocolos de ensaio clínico ou estudos controlados randomizados. **Os demais filtros apresentados geraram número final de 109 artigos estudados em sua íntegra, cujo percurso de busca está sistematizado no fluxograma do ANEXO A.**

Preponderaram nos resultados dessa busca, nesta ordem, relatos de casos (com ênfase nas mutações genéticas mapeadas); revisões ou abordagens mais generalizadas sobre DRD/distonias/distúrbios do movimento, e estudos sobre genótipo/fenótipo/fisiopatologia das DRDs e distonias (com enfoque especialmente dos sintomas motores). Em menor escala, apresentaram-se artigos sobre manejo clínico de DRD/distonias/DYT5. Destacam-se apenas cinco artigos (4,59%) que se referiam a abordagem da SNM de DYT5/outras distonias, uma (0,92%) revisão específica sobre DYT5 e uma (0,92%) publicação referente à gestação em DRD/Parkinson, conforme Gráfico 1.

Gráfico 1: Classificação por temática e frequência/percentual dos artigos encontrados em busca PubMed/NCBI, mediante os descritores pesquisados, para o período 2010-2022 (n = 109)*



Fonte: Elaborado pelo autor.

* Pesquisa realizada em setembro de 2022.

Para a classificação desses artigos, identificados por sua autoria na Tabela 1, ainda que o artigo pudesse ser selecionado em mais de uma categoria, obedeceu-se a análise convencional da subtemática de maior interesse, sendo, cada artigo classificado uma única vez.

Tabela 1: Identificação e classificação dos artigos elegíveis em busca PubMed/NCBI, mediante os critérios selecionados, por temática, para o período 2010-2022 (n = 109)*

CLASSIFICAÇÃO DOS ARTIGOS
ESTUDO DE CASOS
(Weng YC, 2018), (Yoshii F et al., 2021), (Talvik I et al., 2010), (Bradley M et al., 2021), (Kulshreshtha D et al., 2017), (Kim MS, 2017), (Hasegawa T et al., 2021), (Lin Y, 2015), (Yang CC et al., 2018), (Soma V et al., 2012), (Yosunkaya E et al., 2010), (Bally JF et al., 2020), (Katus LE, 2017), (Jain R, 2016), (Chaithra SP et al., 2020), (Thompson S et al., 2014), (Giri S et al., 2019), (Zhang W et al., 2017), (Sun ZF et al., 2014), (Teva Galán et al., 2011), (Lee JH et al., 2011), (Tormenti MJ et al., 2011), (Tsao CY, 2012), (Eye PG et al., 2019), (Wang W, 2020), (Feng B et al., 2018), (Kuwabara K et al., 2018), (Kim JI et al., 2015), (Tachi N et al., 2011), (Ebrahimi-Fakhari D et al., 2014), (Dayasiri KC et al., 2019), (Koht J et al., 2014), (Haugarvoll K, 2011), (Couto CM et al., 2019), (Berger SI, 2022), (Innes EA et al., 2022), (Gallagher P et al., 2010), (Wang X et al., 2022)
REVISÃO DE DRD/DISTONIAS/DISTÚRBIOS DO MOVIMENTO
(Wijemanne S, 2015), (Randby H et al., 2018), (Salles PA et al., 2021), (Cherian A, 2021), (Asmus F, 2010), (Barbosa P, 2018), (Segawa M, 2011a); (Segawa M, 2011b), (Jinnah HA et al., 2018), (Furukawa Y, 2017), (Weissbach A, 2021), (Méneret A et al., 2021), (Balint B, 2014), (Doummar D et al., 2018), (Klein C, 2013), (Fasano A, 2014), (Dong HY et al., 2020), (Mishra S et al., 2020), (Kim W et al., 2021), (Weissbach A et al., 2022)
RELAÇÃO DYT5 E DOENÇA DE PARKINSON/PARKINSONISMO
(Koh J, 2017), (Thobois S et al., 2019), (Nagatsu T et al., 2019), (Haggstrom L, 2017), (Schneider SA, 2010), (Mencacci NE et al., 2014), (Eggers C et al., 2012), (Riboldi GM et al., 2022),
MANEJO CLÍNICO DAS DRD/DYT5/DISTONIAS
(Luc QN, 2017), (Hasan MS et al., 2017), (Friedman JR, 2016), (Howze KE et al., 2016), (Maas RPPWM et al., 2017), (Bledsoe IO, 2020), (Kim R, 2016), (Guillet C et al., 2020), (Dong W et al., 2020), (Hou M et al., 2019), (Rebour R et al., 2015), (Valledeoriola F et al., 2010)
GENÓTIPO/FENÓTIPO (ESPECIALMENTE MOTOR)/FISIOPATOLOGIA DAS DRD/DYT5/DISTONIAS
(Klein C, 2014), (Lee WW, 2014), (Diez-Fairen M et al., 2021), (Bendi VS, 2018), (Furukawa Y et al., 2016), (Kawahata I, 2020), (Segawa M, 2013), (Pearl PL, 2013), (Himmelreich N, 2021), (Nygaard G et al., 2021), (Fernandez-Ramos JA et al., 2022), (Goodchild RE, 2013), (Liu X et al., 2010), (Nasser A, 2014), (Ichinose H et al., 2013), (Sumi-Ichinose C et al., 2010), (Lin JJ, 2018), (Arrabal L et al., 2011), (Yaltho TC, 2010)
ASPECTOS DIAGNÓSTICOS RELACIONADOS ÀS DRD/DYT5
(Opladen T et al., 2010), (Opladen T et al., 2013), (Rodan LH, 2015), (Trau SP, 2020), (López-Laso E et al., 2012)
SINTOMAS NÃO MOTORES DA DYT5/OUTRAS DISTONIAS
(Antelmi E et al., 2015), (Baskaran D, 2018), (Tadic V et al., 2012), (Wang M, 2018), (Hertenstein E et al., 2016)
REVISÃO DYT5
(Furukawa Y, 2019)
GESTÃO EM DRD/DOENÇA DE PARKINSON
(Watanabe T, 2012)

Onde: * Pesquisa realizada em setembro de 2022; DRD: Distonia responsiva à dopamina; DYT5: Distonia responsiva à dopamina autossômica dominante.

Obs: 1) para fins de elaboração desta tabela, quando até três autores, foi identificado apenas o primeiro autor; quando mais de três autores se utilizou o termo *et al.* 2) prevaleceu como data de referência o ano de publicação no periódico, não necessariamente a data de publicação eletrônica.

3.2 DYT/PARK-GCH1 AD: principais aspectos

3.2.1 Aspectos conceituais e epidemiológicos

Conforme referido na Introdução, a síndrome de Segawa foi classicamente identificada como uma distonia hereditária responsiva à dopamina com variação diurna (Segawa M et al., 1972). Os registros em OMIM (2022) de várias nomenclaturas/abreviaturas/siglas correlatas para essa enfermidade, também descritos naquela seção, permitem demonstrar a recente evolução do conhecimento dessa distonia nas últimas décadas.

Dez anos após o registro do consagrado termo DRD por Nygaard (1988), com o surgimento de muitos relatos atípicos sob esta mesma nomenclatura, Jeon BS et al. (1998a) propuseram uma nova definição para essa síndrome clínica em DRD e DRD-plus, baseada na heterogeneidade clínico-genética conhecida naquele momento (Lee WW, 2014). Assim, propôs-se inicialmente que o termo DRD conceituasse uma “síndrome de deficiência seletiva de dopamina nigroestriatal causada por defeitos genéticos na via sintética da dopamina sem perda de células nigrais”, abrangendo todas as apresentações típicas e atípicas de DRD com mutações já comprovadas e permitindo um diagnóstico de DRD sem confirmação genética (Jeon BS et al, 1998a). Já o conseqüente termo "DRD-plus" seria utilizado para os distúrbios hereditários no metabolismo da dopamina com características da DRD e outras adicionais não vistas em DRD (Jeon BS et al, 1998a). Mediante essa proposição, os fenótipos de DRD-plus incluíram o início mais precoce, inclusive neonatal; fenótipos motores mais graves, como sucção e deglutição deficientes e hipotonia grave; e características não motoras (disfunções dopaminérgicas extra-nigroestriatais) como convulsões, retardo psicomotor, sonolência e hipertermia recorrente sem infecções (Lee WW, 2014). Destaca-se a ênfase daqueles autores em que uma mesma mutação genética poderia se apresentar como DRD ou “DRD-plus” a depender da gravidade de deficiência enzimática.

Segundo Lee (2014), essa divisão facilitou entender as bases para a classificação e para o manejo da DRD como um distúrbio neuroquímico reversível pela reposição do neurotransmissor deficiente, e não como um distúrbio neurodegenerativo. Esse entendimento também ia ao encontro de Pearl (2004) que, conforme apontado na Introdução, já classificava a doença de Segawa também como um distúrbio atribuível a alterações da síntese de

neurotransmissores, e de Clot et al. (2009) que relataram em um estudo de genética molecular definições similares às de Jeon BS et al (1998b) para essas categorias de DRD.

Mais recentemente, Lee (2018) denominou um terceiro grupo como “*DRD look-alike*”, ou “semelhante à DRD”, ao incluir casos resultantes de deficiências do transportador de dopamina; doenças degenerativas com perda progressiva de células nigrais, como a doença de Parkinson juvenil e distúrbios que não são conhecidos por afetar o sistema dopaminérgico nigroestriatal, como a DYT1. Nessa publicação, Lee (2018) propõe nova nomenclatura, resgatando a história: “doença de Segawa” em vez de “DRD”; “Segawa-plus” em vez de “DRD-plus”; e “*Segawa look-alike*” em vez de “*DRD look-alike*” (Lee WW, 2018).

Por fim, deve-se registrar a importante **proposta da Força-Tarefa da Sociedade de Distúrbios do Movimento para a Nomenclatura de Distúrbios Genéticos do Movimento, que recomendou o uso do prefixo “DYT/PARK” precedendo o nome do gene específico, para classificar as principais síndromes de DRD, a propósito, DYT/PARK-*GCH1*, DYT/PARK-*TH*, DYT/PARK-*PTS*, DYT/PARK-*SPR* e DYT/PARK-*QDPR* (Marras C et al., 2016). Por sua relevância na identificação genética, mais bem descrita a seguir, observou-se essa nomenclatura como a prioritária na presente tese.**

A DRD tem distribuição global e prevalência (por qualquer causa) na Inglaterra e no Japão estimada em 0,5/milhão (Nygaard TG et al., 1993a). Segundo Orphanet, 2022, a DYT/PARK-*GCH1* AD é rara, com prevalência global estimada de cerca de 1-9 casos/milhão de indivíduos e uma estimativa de prevalência na Europa entre 1/1.000.000-1/200.000. Dobričić et al. (2017) registraram que a prevalência de DYT/PARK-*GCH1* AD na Sérvia foi de 2,96/milhão. Mediante as prevalências citadas, conforme definições atuais, trata-se de doença ultrarrara (menor do que 1/50.000 pessoas) (Harari S e Humbert M, 2020). Entretanto, vários autores afirmam que estudos epidemiológicos de alta qualidade são escassos e o subdiagnóstico é provável (Blau NH, 2015 e Malek N, 2015).

3.2.2 Aspectos genéticos

Mediante as publicações em especial da década anterior, os pacientes com DRD demonstravam ter variantes patogênicas principalmente em um dos três genes: *GCH1*, gene sepiapterina redutase (símbolo HGNC *SPR*) e gene tirosina hidroxilase (símbolo HGNC *TH*) (HGNC, 2022; Wijemanne S et al., 2015; Lee WW, 2014 e Malek N, 2015).

A forma clássica dominante (*Online Mendelian Inheritance in Man*® - OMIM # 128230), ou doença de Segawa, é a principal causa de DRD de início precoce e surge por centenas de mutações heterozigóticas no gene *GCH1* (OMIM # 600225), localizado no cromossomo 14q22.2 (OMIM, 2022; Nygaard TG et al., 1993b; Hagenah J et al., 2005; Clot F et al., 2009 e Furukawa Y, 2004).

Mutações em homozigose ou heterozigose composta nesse mesmo gene *GCH1* causam um fenótipo mais grave de DRD (OMIM # 233910), como a DRD resultante da deficiência da enzima GTPCH 1 e, por conseguinte, de BH₄, com hiperfenilalaninemia, relatada em uma menina de 4 anos com hipotonia muscular grave do tronco, hipertonia das extremidades, convulsões e episódios frequentes de hipertermia sem infecção, cujos pais da paciente eram primos, sugerindo herança autossômica recessiva (Niederwieser A et al., 1984).

Em revisão sobre a DRD deficiente de GTPCH 1, Furukawa (2019) apontou ainda um fenótipo intermediário por mutação no *GCH1* entre a forma leve (dominante) e a grave (recessiva), encontrado em heterozigotos compostos e (raramente) homozigotos e associado a anormalidades digitais e oculares, conforme descrição de Lohmann et al. (2017).

O segundo gene comumente associado à DRD é o *TH*, localizado no cromossomo 11p15.5. A herança dessa DRD é autossômica recessiva (OMIM # 605407), causada por mutações homozigóticas ou em heterozigose composta, levando à deficiência de TH, uma monooxigenase que catalisa a conversão da levotirosina (L-Tirosina) dependente de BH₄ em L-dopa (OMIM, 2022). Esta deficiência está associada a um amplo espectro fenotípico também caracterizado pelo início de DRD na infância (Ludecke B, 1995). Com base na gravidade clínica (incluindo resposta à L-dopa), os fenótipos vão de uma DRD deficiente em TH (DYT5b ou DYT-TH), um parkinsonismo infantil com atraso motor, até uma encefalopatia infantil progressiva (Furukawa Y, 2017).

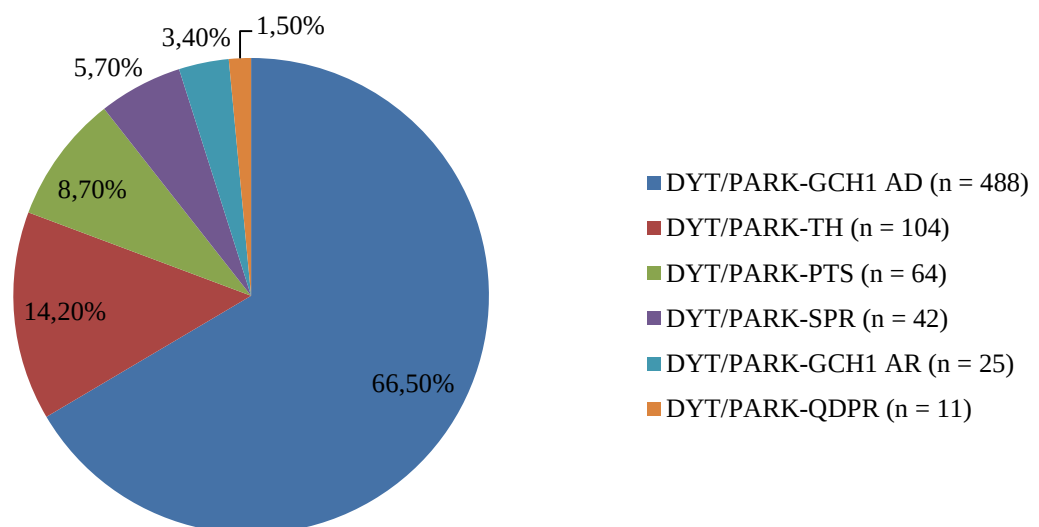
A deficiência de sepiapterina redutase (SR) resulta em uma DRD de herança autossômica recessiva por variantes patogênicas no gene *SPR*, OMIM # 182125, com localização citogenética em 2p13.2. Considerada uma “DRD-Plus”, os indivíduos afetados apresentam classicamente sintomas de ambas as deficiências, dopamina e serotonina (Koht J et al., 2014, Friedman J et al., 2012 e Bonafé L et al., 2001). Em seu quadro clínico há importantes sintomas motores neurológicos como atraso do desenvolvimento psicomotor, hipotonia axial, distonia, fraqueza e crises oculogíricas, mas também relatos de distúrbios comportamentais, autonômicos e do sono (Friedman J et al., 2012 e Echenne B et al., 2006). O diagnóstico proposto é estabelecido pela detecção de variantes patogênicas bialélicas em

SPR em testes genéticos moleculares ou anormalidades características de neurotransmissores e pterinas do líquido.

Entretanto, desde 2009, Clot et al. já apontavam que cerca de 20% dos pacientes com DRD poderiam não apresentar variantes patogênicas nesses três genes à época mais conhecidos, o que foi confirmado por outros autores (Clot F et al., 2009; Ng J et al., 2015 e Blau NH, 2015). Conforme apontado no item “3.2.1 Aspectos conceituais e epidemiológicos”, atualmente variantes patogênicas também têm sido associadas à DRD acometendo menos comumente outros dois genes, o gene 6-piruvil-tetra-hidrobiopterina sintase (*PTS*) e o gene Quinoide Dihidropteridina redutase (*QDPR*), todos envolvidos na biossíntese ou reciclagem de dopamina/BH₄ (Weissbach A et al., 2022). Esses outros genes, citados nessa recente revisão sistemática da literatura sobre genótipo e fenótipo da DRD de Weissbach et al. (2022), podem gerar quadros semelhantes, mas com resposta parcial à L-dopa (Ng J et al., 2015 e Clot F et al., 2009).

A respeito, nessa revisão de Weissbach et al. (2022) foram incluídos 205 artigos e dados de 734 indivíduos que apresentaram distribuição genotípica conforme Gráfico 2, sendo ainda excluídos mediante a metodologia proposta para essa revisão 151 portadores assintomáticos de variações heterozigóticas em *GCH1*.

Gráfico 2: Distribuição genotípica dos pacientes (classificação e frequência/percentual) com síndrome de distonia dopa-responsiva no estudo de revisão de Weissbach et al. (2022) (n = 734 indivíduos)



Fonte: Weissbach et al. (2022)

Já em estudo retrospectivo de 20 anos (de janeiro de 2000 a janeiro de 2019) sobre a heterogeneidade clínica e genética em uma coorte de 31 crianças chinesas com DRD, Chen et al. (2020) encontraram que 61,3% dos pacientes apresentaram DRD-plus, apenas 32,3% tiveram DRD clássica e outros 6,4% apresentavam mutações na via sintética da dopamina (mutação em *PTS*), sem um fenótipo típico. Vinte e oito (90,3%) pacientes foram submetidos a testes genéticos e mutações homozigóticas ou em heterozigose composta em *TH* foram encontradas em 22 pacientes, constituindo nessa coorte, o gene patogênico mais comum (Chen Y et al., 2020).

No que se refere às mutações em *GCH1*, identificação HGNC: 4193 (HGNC, 2022) e alvo da presente tese, elas propiciam uma deficiência da enzima GTPCH 1, nomenclatura EC 3.5.4.16 (NC-IUBMB, 2022).

Como apontado na Introdução, a GTPCH 1 é uma das enzimas responsáveis pela conversão de guanosina trifosfato em BH_4 , cofator essencial para a conversão dos AAs fenilalanina, tirosina e triptofano em, respectivamente, tirosina, L-dopa e serotonina, conforme Figura 1.

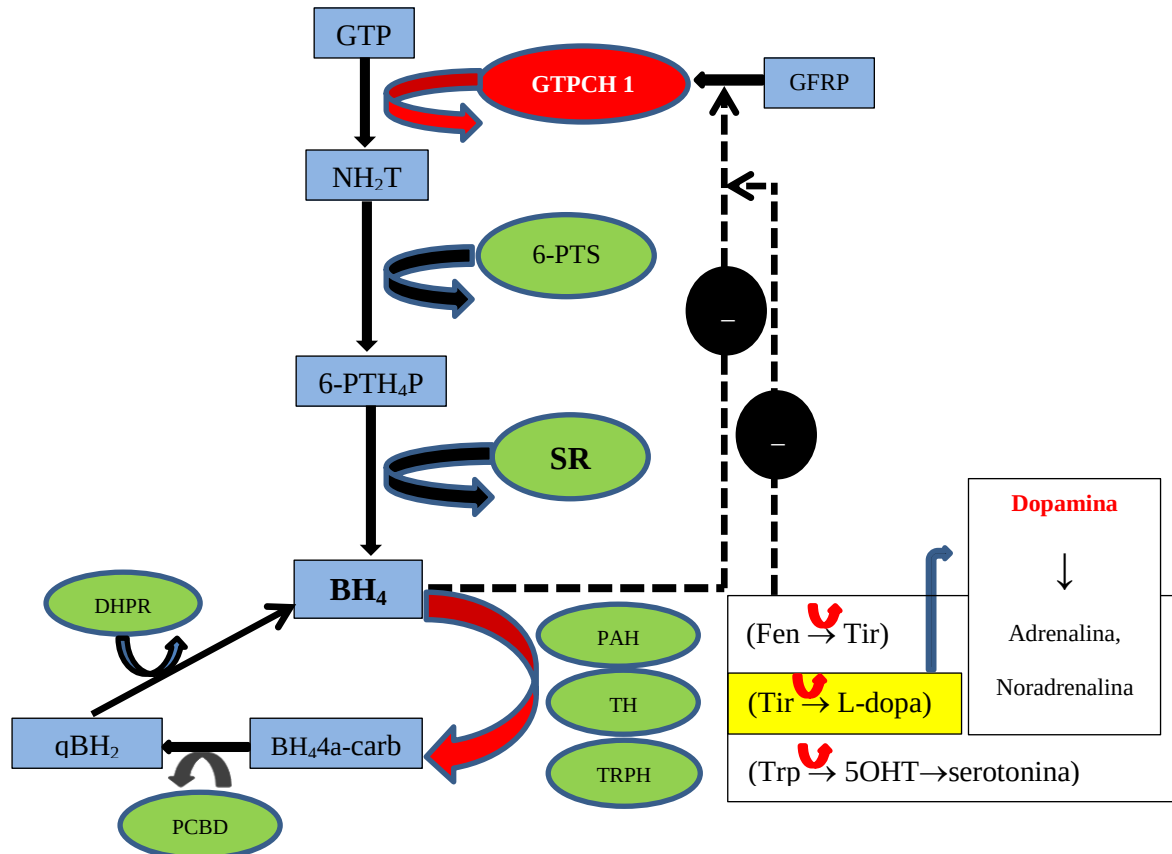


Figura 1: Via da pteridina

Fonte: Müller U, 2002 (adaptado).

Onde: GTP: Guanosina trifosfato, GTPCH 1: GTP ciclohidrolase 1, NH₂TP: Dihidroneopterina trifosfato, 6-PTS: 6-piruvil tetrahidropterina sintase, 6-PTH₄P: 6-Piruvil tetrahidropterina, SR: Sepiapterina redutase, BH₄: Tetrahidrobiopterina, BH₄a-carb: Tetrahidrobiopterina-4a-carbinolamina, PCBD: Pterina-4a carbinolamina desidratase, qBH₂: Quinoide dihidrobiopterina, DHPR: Dihidropteridina reductase, PAH: Fenilalanina hidroxilase, GFRP: proteína regulatória do feedback da GTP cyclohydrolase I, TH: Tirosina hidroxilase, TRPH: Tryptofano hidroxilase, Fen: Fenilalanina, Tir: Tirosina, Trp: Tryptofano, L-dopa: levodopa, 5OHT: 5-OH-Tryptofano.

3.2.3 Aspectos clínicos

3.2.3.1 Manifestações clínicas

A partir daquela pioneira publicação de Segawa (1972) descrevendo uma distonia progressiva hereditária, cujos sintomas pioravam gradualmente ao anoitecer até serem aliviados após o sono, Segawa et al. (1976) relataram nove pacientes com DRD em seis famílias com distúrbios posturais e motores com tais características. A postura distônica ou

distúrbio de movimento de um membro isolado tiveram início insidioso durante a infância, se generalizando posteriormente para os demais membros. Rigidez, tremores de repouso ou alterações cerebelares, piramidais e sensoriais não foram encontrados. A inteligência não apresentava alterações.

Desde então, algumas publicações adicionaram manifestações diversas ao quadro clínico dessa DRD. Nygaard e Duvoisin (1986) publicaram o relato de uma família com casos ainda na infância de distonia axial e em membros inferiores, seguida de parkinsonismo, com expressiva resposta à L-dopa na idade adulta. Quadros clínicos similares com parkinsonismo foram descritos por Yebenes et al. (1988) e Nygaard et al. (1990).

Brique et al. (1999) apontaram interessante evolução em uma família com DRD, na qual a distonia também apareceu mais comumente na infância e adolescência, quando se registraram algumas ocorrências de parkinsonismo, com boa resposta à L-dopa. Em dois irmãos, a distonia e o parkinsonismo desapareceram espontaneamente entre 40 e 44 anos, se mantendo assintomáticos por 17 anos, quando o parkinsonismo então reapareceu em ambos, sendo novamente responsivo à L-dopa.

Posteriormente, **Steinberger et al., 2007 reforçaram a DYT/PARK-GCH1 AD como uma distonia generalizada com flutuação diurna dos sintomas e expressiva resposta à L-dopa, cujo espectro clínico variável cursava de achados neurológicos sutis (por exemplo, testes de escrita alterados) a manifestações ortopédicas (como pés equinovaros), parkinsonismo e até mesmo manifestações psiquiátricas.**

Segundo relevante revisão de Furukawa (2019), naquele momento ainda não era possível estabelecer uma correlação entre características clínicas específicas e tipos de variantes patogênicas em indivíduos com DRD deficiente em GTPCH 1. Nessa revisão, além do quadro clínico mais comumente citado, essa DRD cursa ocasionalmente com sintomas iniciais como distonia do braço, tremor postural da mão ou lentidão de movimentos. Reflexos tendinosos profundos rápidos nas pernas, clônus do tornozelo e/ou pé estriatal (extensão distônica do dedão do pé) também podem estar presentes em muitos indivíduos afetados. Entretanto esses últimos achados sugestivos de sinais piramidais nas extremidades inferiores dos pacientes com essa DRD (reflexos tendinosos profundos rápidos, reflexos, espasticidade, clônus do tornozelo e/ou respostas plantares extensoras intermitentes), são acompanhados de uma atividade espinal cortical eferente normal com estimulação magnetoelétrica do córtex motor, sugerindo o envolvimento de uma base não piramidal. Adiciona-se o fato de que, após o início da terapia com L-dopa, a hiperreflexia grave, a espasticidade e a resposta plantar extensora geralmente resolvem nesses indivíduos (Furukawa Y, 2019). Isso posto, a

interpretação do pé estriatal como uma resposta plantar extensora é passível de equívoco. Também para Furukawa (2019), distúrbios intelectuais, cerebelares, sensoriais e autonômicos geralmente não ocorrem.

Sinteticamente, a recente revisão de Weissbach et al. (2022) identificou a distonia (sintoma motor mais frequente, que ocorreu em 80% dos 734 pacientes estudados), a responsividade à L-dopa, a idade de início precoce e as flutuações diurnas como grandes marcadores clínicos para as DRDs. Um parkinsonismo sem distonia foi menos relatado (11%) e combinado à distonia em apenas 18% dos pacientes; entretanto, para essas duas últimas informações os dados ausentes eram superiores a 60%.

Como descrição nos artigos afins, o parkinsonismo de início na vida adulta não raramente faz parte do quadro clínico da DRD deficiente em GTPCH 1. Furukawa & Kish (2015) classificaram dois tipos de parkinsonismo no contexto dessa DRD.

Os indivíduos com parkinsonismo "benigno" não manifestam distonia prévia ao parkinsonismo, respondem bem a baixas doses de L-dopa, permanecendo funcionalmente normais por um longo período de tempo sem desenvolver flutuações na resposta motora ou discinesias dopa-induzidas. Nesse parkinsonismo "benigno", estudos de tomografia por emissão de pósitrons e tomografia computadorizada por emissão de fóton único usando marcadores dopaminérgicos pré-sinápticos demonstraram resultados normais (Nygaard TG et al., 1992; O'Sullivan JD et al., 2001; De La Fuente-Fernández R et al., 2003; Kang J-H et al., 2004; Furukawa Y et al., 2013; Lewthwaite AJ et al., 2015; Terbeek J et al., 2015 e Lin L et al., 2018). Já no parkinsonismo "neurodegenerativo", incluindo a doença de Parkinson associada a variantes patogênicas de *GCH1*, os indivíduos apresentaram tomografia por emissão de pósitrons 18F-fluorodopa ou imagem de tomografia computadorizada por emissão de fóton único de transportador de dopamina anormais (Kikuchi A et al., 2004; Hjermind LE et al., 2006; Eggers C et al., 2012; Ceravolo R et al., 2013; Mencacci NE et al., 2014; Lewthwaite AJ et al., 2015; Terbeek J et al., 2015 e Lin L et al., 2018).

Interessante análise de variáveis extraídas na revisão de Weissbach et al. (2022) inovaram em propiciar uma alta precisão para a sistematização de uma classificação dos diferentes grupos de DRD. Em nível descritivo, convulsões e microcefalia foram observadas principalmente em DYT/PARK-PTS. Sintomas autonômicos apareceram comumente em DYT/PARK-TH e DYT/PARK-PTS e distúrbios do sono e crises oculogíricas em DYT/PARK-SPR. Segundo esses autores, tais indicadores podem ajudar a especificar o diagnóstico e acelerar o início da terapia de reposição (Weissbach A et al., 2022).

Para a DYT/PARK-*GCH1* AD, conforme destacado na Introdução, a literatura registra baixa penetrância e muito variável expressividade.

Que pese a ênfase dos estudos se dar sobre seus aspectos motores, a penetrância dessa DRD, inicialmente publicada a partir de estudos de uma família numerosa, foi em torno de 30%, considerando os sintomas de maior expressão. Se considerados também os sintomas de menor expressão, como a distonia periférica, conforme estudos clínicos e moleculares em cinco famílias com DRD não relacionadas entre si, essa penetrância foi de 42-62% (Segawa M et al., 1972; Jan MM, 2004; Nishiyama N et al., 2000 e outros).

Já com base na análise sistemática de Weissbach et al. (2022), dentre os portadores da mutação com DRD autossômica dominante deficiente de GTPCH 1, os indivíduos assintomáticos totalizaram aproximadamente 25% (151 de 639), resultando em uma penetrância de 75%. Para esses autores, essa penetrância estaria dentro dos valores relatados por outros autores, usando estudos em uma ou poucas famílias individuais, cuja penetrância estimada variava amplamente de 38-85% (Ichinose H et al., 1994 e Nygaard TG et al., 1990). Entretanto, Weissbach et al. (2022) apontam que devido ao viés para identificar e reportar os casos sintomáticos portadores da mutação, a penetrância dessa população não poderia ser diretamente calculada a partir desses números, sendo provavelmente mais baixa.

Conforme relatado na Introdução, essa penetrância incompleta da DRD por deficiência de GTPCH 1 está relacionada ao sexo, sendo recorrentemente maior em mulheres do que em homens: 87% versus 38% (Furukawa Y et al., 1998), 100% versus 55% (Steinberger D et al., 1998) e 87% versus 35% (Segawa M et al., 2003). Para Weissbach et al. (2022), embora a distribuição por sexo fosse igual em todos os outros subtipos de DRD, nas variações autossômicas dominantes de *GCH1*, apenas 33% dos pacientes eram do sexo masculino, os quais apresentaram uma idade de início de sintomas mais tardio e menos distonia do que o sexo feminino. É importante ressaltar que dentre os portadores das mutações assintomáticos, inicialmente não houve distinção entre os sexos, mas entre os indivíduos afetados mais velhos que a mediana da idade do início dos sintomas, 64% eram do sexo masculino (Weissbach A et al., 2022).

No estudo retrospectivo 2000-2019 sobre a heterogeneidade clínica e genética na citada coorte de 31 crianças chinesas com DRD, Chen et al. (2020) concluíram que 20 (64,5%) eram do sexo masculino. Entretanto, como apresentado, apenas 32,3% cursavam com DRD clássica.

Por fim, Steinberger et al. (1998), em estudo familiar, já destacavam a marcante variação na expressividade da também nominada DYT5a. Enquanto um de seus casos-índice

tinha dificuldade para andar desde os três anos de idade e estava na cadeira de rodas desde os seis anos, o único sinal aparente em sua mãe de 43 anos foi uma constrição nas pernas enquanto ela escrevia com a mão esquerda (Steinberger D et al., 1998). Grandes variações intra e interfamiliares na expressividade da DRD deficiente em GTPCH 1 também foram relatadas por outros autores (Furukawa Y et al., 2000; Grimes DA et al., 2002; Postuma RB et al., 2003 e Trender-Gerhard I et al., 2009).

3.2.3.2 Diagnóstico

Segundo revisão de Luc (2017), as evidências para guiar a avaliação diagnóstica e tratamento das DRDs permaneciam limitadas naquele momento. Assim, a avaliação deveria ser dirigida principalmente pela história clínica, sendo os estudos de neuroimagem destinados a avaliar distonias hereditárias complexas ou adquiridas (Luc QN, 2017).

Mediante esse norteamento da história clínica, a elucidação diagnóstica das DRD idealmente deve constar de um estudo genético preciso. Quando os achados fenotípicos e laboratoriais sugerem o diagnóstico de DRD deficiente em GTPCH 1, a identificação de uma variante patogênica heterozigótica em *GCH1* por teste genético molecular em um probando pode incluir testes de um único gene ou uso de um painel multigênico (Furukawa Y, 2019).

No teste de gene único, o sequenciamento de *GCH1* detecta pequenas deleções/inserções intragênicas e variantes missense, nonsense e de sítio de *splice*; tipicamente, deleções/duplicações de éxon ou de todo o gene não são detectadas. Caso nenhuma variante patogênica for encontrada nessa análise de sequência, se sugere a análise de deleção/duplicação direcionada ao gene para detectar deleções ou duplicações intragênicas (Furukawa Y, 2019).

O painel multigênico que inclui *GCH1* e outros genes de interesse tem maior probabilidade de identificar a causa genética da doença a um custo mais razoável se limitar a identificação de variantes de significado incerto e variantes patogênicas de genes que não explicam o fenótipo pesquisado. Para DYT/PARK-*GCH1* AD, sendo necessário, se recomenda um painel multigênico que também inclua análise de deleção/duplicação (Furukawa Y, 2019).

No que se refere às variações relacionadas ao *GCH1*, seu diagnóstico molecular geralmente é estabelecido por sequenciamento do gene em aproximadamente 87% dos casos e por análise de deleção/duplicação do gene em cerca de 13% (Furukawa Y, 2019).

Já mediante características fenotípicas atípicas, um teste genômico abrangente pode ser a melhor opção, sendo esse o método que detecta a maior proporção de probandos com uma variante patogênica. O sequenciamento do exoma é o método de teste genômico mais comumente usado, mas o sequenciamento do genoma também é possível. Se o sequenciamento do exoma não for diagnóstico – e particularmente quando a evidência suporta herança autossômica dominante – o *array* (quando clinicamente disponível) pode ser considerado para detectar deleções ou duplicações (multi)éxons que não podem ser detectadas pela análise de sequência (Furukawa Y, 2019). Registra-se, entretanto, que autores como Trau (2020) apontam várias limitações para o sequenciamento de exoma inteiro, incluindo a incapacidade de detectar o número de cópias variantes, de analisar fatores epigenéticos, de procurar por dissomia uniparental e de analisar repetições de nucleotídeos, assim como não poder testar completamente todos os éxons (Trau SP, 2020).

Devido à grande heterogeneidade genotípica e fenotípica dos distúrbios de neurotransmissores, Doummar et al. (2018) concluíram que ainda que esses distúrbios surjam em grande parte durante a infância, eles podem ser subdiagnosticados ao longo dos anos, se o fenótipo levar a hipóteses equivocadas envolvendo várias combinações de distúrbios desenvolvimentais, hipotonia e distúrbios do movimento ou SNM, como alterações do sono e transtornos de humor. Assim, esses autores propuseram que níveis de metabólitos dos neurotransmissores no líquido cefalorraquidiano (LCR) pudessem contribuir para analisar e entender melhor a cascata metabólica e as mudanças na síntese de dopamina e serotonina, e também orientar os testes genéticos (Doummar D et al., 2018). Entretanto, de interesse para a presente tese, há que se ressaltar que até uma punção lombar para análise dos neurotransmissores pode sofrer interferência em sua interpretação mediante a administração exógena de L-dopa (Trau SP, 2020). De qualquer forma, esse diagnóstico oportuno permitiria tratamentos medicamentosos otimizados e, mediante respostas clínicas insuficientes, o uso de outros agentes que pudessem aumentar a neurotransmissão, como drogas serotoninérgicas e suplementação de BH₄ (Doummar D et al., 2018).

Conforme anterior proposta de Nygaard (1988), defendida por outros autores em revisões recentes (Wijemanne S, 2015 e Koy A et al., 2016), na prática, especialmente se as manifestações clínicas como a distonia nos membros inferiores têm início na infância, o diagnóstico dos indivíduos sintomáticos na maioria dos contextos com recursos restritos é essencialmente clínico e baseado na remissão da distonia com uso de L-dopa.

Entretanto, a literatura registra recentes questionamentos a essa prova empírica. Maas et al. (2017) defendem que pacientes com DRD clássica até poderiam receber uma prova terapêutica com L-dopa quando seguida posteriormente com uma investigação genética adequada. Todavia, à luz da baixa prevalência de DRDs, da grande variação interindividual na dose necessária de L-dopa, da incerteza sobre uma duração de ensaio adequada, dos avanços substanciais sobre o tema e da disponibilidade de vários testes de diagnóstico de última geração, uma prova diagnóstico-terapêutica com L-dopa não deveria ser o primeiro passo na abordagem da distonia de início precoce (≤ 25 anos) especialmente em países com elevados recursos (Maas RPPWM et al., 2017).

Trau (2020) aponta que a proposta dessa prova terapêutica diagnóstica com L-dopa, utilizada durante décadas, não é isenta de risco. Segundo o autor, efeitos colaterais com o tratamento da L-dopa podem incluir dor de cabeça, náusea, parestesias, confusão e discinesias, o que foi corroborado por Lumsden et al (2016), em relato no qual 26/57 crianças eventualmente descontinuaram a medicação por efeitos colaterais (Trau SP, 2020).

Nesse sentido, López-Laso et al. (2012) sinalizaram o caso interessante de um probando que, apesar da terapia contínua com L-dopa desde os sete anos de idade, desenvolveu uma grave câimbra do escrivão aos dez anos e discinesias como efeitos colaterais, limitando o tratamento persistente, mesmo com doses baixas do medicamento. Ainda assim, López-Laso et al. (2012) afirmaram que essas discinesias limitantes da L-dopa não deveriam impedir o diagnóstico de DRD por meio desse ensaio terapêutico. Mesmo Trau (2020), ao relatar o caso de um menino de 26 meses de idade com DRD atípico e pesquisa genética negativa, concluiu recentemente que a espera pelo diagnóstico concreto do caso teria atrasado o seu tratamento empírico exitoso e sugeriu que a prova terapêutica com L-dopa pode ser benéfica, já que nem todas as causas de DRD são ainda conhecidas.

Havendo disponibilidade, caso o teste molecular não identifique uma variante patogênica, testes bioquímicos deveriam ser realizados. Assim, a DYT/PARK-*GCH1* AD poderia ser confirmada por dosagens bioquímicas (ainda não disponíveis no Brasil), como análises das concentrações de pteridinas reduzidas no LCR (biopterina total, cuja maior parte existe como BH₄, e neopterina total - os subprodutos da reação GTPCH 1) e atividade da enzima GTPCH 1 em células estimuladas (Leuzzi V et al., 2013 e Furukawa Y, 2019). A avaliação da atividade desta enzima em células sanguíneas mononucleares estimuladas por fitohemaglutinina ou fibroblastos estimulados por citocinas pode contribuir para o diagnóstico, se a amostragem de LCR não estiver disponível (Ichinose H et al., 1994; Ichinose H et al., 1995; Bonafé L et al., 2001 e Van Hove JL et al., 2006).

Pearl (2013), enfocando os defeitos hereditários na síntese de dopamina, serotonina, norepinefrina e epinefrina ou na disponibilidade de BH₄, aponta que alguns distúrbios não manifestarão hiperfenilalaninemia periférica e poderão requerer ensaio do metabólito do neurotransmissor do LCR para o diagnóstico, como a própria DYT/PARK-*GCH1* AD e as deficiências enzimáticas de TH e SR. Tais deficiências podem resultar em níveis séricos reduzidos dessas monoaminas ou da disponibilidade de BH₄ (Pearl PL, 2013). Já dentre os distúrbios detectáveis por níveis de fenilalanina sérica elevados, o do *PTS* é o mais comum e como apresentado anteriormente, heterogêneo (Pearl PL, 2013).

Rodan (2015) apoia os apontamentos de Pearl (2013) ao sugerir que a coleta, análise e acompanhamento de neurotransmissores do LCR seriam essenciais para o diagnóstico e tratamento de múltiplos erros metabólicos. O autor relembra que as citadas pterinas do LCR e os metabólitos das monoaminas são elementos diagnósticos em uma série de distúrbios de neurotransmissores primários, incluindo distúrbios de síntese, metabolismo e transporte de aminas biogênicas (Rodan LH, 2015). Segundo ele, mutações recentemente descritas de transportadores da dopamina humana estão associadas a uma elevação da razão entre ácido homovanílico do LCR e o ácido 5-hidroxiindolacético e uma ampla gama de doenças adquiridas e genéticas também tem sido associada a alterações nos níveis do LCR de metabólitos de monoamina, glicina e neopterinina (Rodan LH, 2015). Assim, a punção lombar seria indicada para detectar metabólitos anormais do LCR em uma proporção significativa desses distúrbios, incluindo as mesmas três entidades citadas por Pearl (2013) - a doença de Segawa e as deficiências de SR e TH (Rodan LH, 2015). Weissbach et al. (2022), em revisão citada, também apontaram que ácido homovanílico e ácido 5-hidroxiindolacético estavam reduzidos no LCR em todas as DRDs estudadas, mas a neopterinina e biopterina encontravam-se aumentadas apenas em DYT/PARK-*PTS* e DYT/PARK-*SPR*. A hiperfenilalaninemia foi observada em DYT/PARK-*PTS*, DYT/PARK-*QDPR* e raramente relatada em DYT/PARK-*GCH1* autossômica recessiva (Weissbach A et al., 2022).

Como a deficiência parcial de BH₄ no fígado causa um erro no metabolismo da fenilalanina que não se manifesta clinicamente, mas pode ser evidenciado pelo teste de sobrecarga com fenilalanina, este teste também pode ajudar na identificação de pessoas com a mutação, inclusive crianças (Hyland K et al., 1997 e Opladen T, 2010). Dosagens sanguíneas de fenilalanina e tirosina e da relação entre elas são realizadas com uma e especialmente duas horas após sobrecarga oral de fenilalanina, podendo também ser acompanhadas nesses intervalos regulares subsequentes. Assim, pacientes heterozigóticos para uma mutação do *GCH1*, embora com níveis normais de fenilalanina no sangue em triagem de rotina, podem

revelar o metabolismo anormal de fenilalanina se estressados pela administração oral de fenilalanina (100 mg/kg), aprimorando o diagnóstico (Opladen T, 2010). Entretanto, sensibilidade e especificidade diagnósticas de até 100% para esse teste são demonstradas apenas se o valor da relação obtida entre a fenilalanina e a tirosina na segunda hora for combinado aos valores de biopterina sérica ou neopterin urinária, ainda indisponíveis em nosso meio (Leuzzi V et al., 2013). Ademais, Opladen et al. (2013) demonstraram que esse teste de sobrecarga é uma ferramenta útil no diagnóstico diferencial de DRD desde que não realizado mediante reposição de BH₄, que pode ativar a hidroxilase de fenilalanina hepática.

É sabido que em adultos jovens o diagnóstico diferencial da DRD com o parkinsonismo pode se tornar mais complexo. A forma clássica da DRD, um defeito bioquímico não degenerativo, e a doença de Parkinson de início nessa fase apresentam manifestações clínicas semelhantes e, inicialmente, ambas respondem favoravelmente à L-dopa (Chenbhanich J, 2017). Assim, além das observações clínicas, outras ferramentas diagnósticas são necessárias especialmente no início dessa fase, agregando testes clínicos, genéticos, bioquímicos e de imagens cerebrais (Chenbhanich J, 2017).

A simples presença isolada de uma variante no *GCH1* não é suficiente para a confirmação do diagnóstico específico de uma DRD, pois essa é uma síndrome que abrange distúrbios heterogêneos e não há uma alteração exclusiva da DYT/PARK-*GCH1* AD (Wijemanne S, 2015). Entretanto, evidências recentes sugerem que mutações raras no *GCH1* também podem levar a um fenótipo de doença de Parkinson, o qual está associado a alterações em exame de imagem da estrutura dopaminérgica pré-sináptica (Mencacci NE et al., 2014). Essas variantes específicas apontam para uma doença de etiologia degenerativa nesses pacientes com fenótipo de doença de Parkinson. Esses achados contribuem para atestar que a doença de Segawa possui uma fisiopatologia completamente diferente da doença de Parkinson (Segawa M, 2013).

Em consonância com a revisão de Luc (2017), Lee (2018), em revisão sobre distonias, propõe que a abordagem diagnóstica seja direcionada pelas características clínicas. De acordo com a apresentação do fenótipo do paciente em DRD ou DRD-plus, se estabeleceriam as prováveis etiologias (Lee WW, 2018). Outra consideração importante seria a frequência das doenças; a maioria das DRDs pertence a distúrbios que envolvem sistema dopaminérgico nigroestriatal e as restantes se constituem basicamente em relatos de casos com pequeno número de indivíduos. Assim, se o paciente se apresentar com fenótipo DRD, as deficiências enzimáticas (devido a mutações em *GCH1*, *TH* e *SR*) na via sintética da dopamina e doença

de Parkinson juvenil devem ser inicialmente consideradas, já que outros fenótipos de DRD são raros (Lee WW, 2018).

Mediante o fenótipo de DRD-plus, todas as deficiências enzimáticas na síntese de dopamina, síndrome palidopiramidal e doença de Parkinson Juvenil pela mutação SYNJ1 podem ser consideradas (Lee WW, 2018). Embora as transportopatias, mutação em SOX6 e distonia mioclônica também possam se apresentar com fenótipo DRD-plus, essas também são infrequentes (Lee WW, 2018). A idade de início e a varredura de transportador de dopamina seriam muito úteis no diagnóstico diferencial. Em seguida, a análise bioquímica e estudo genético fariam um diagnóstico confirmatório (Lee WW, 2018).

A Figura 2 resume esse fluxo diagnóstico das DRD proposto por Lee (2018), embasado em uma análise fenotípica para a posterior utilização da propedêutica de imagem, genética e laboratorial, ressaltando-se a restrição dessa estratégia em países em desenvolvimento, os quais priorizariam a proposição da prova terapêutica diagnóstica com L-dopa.

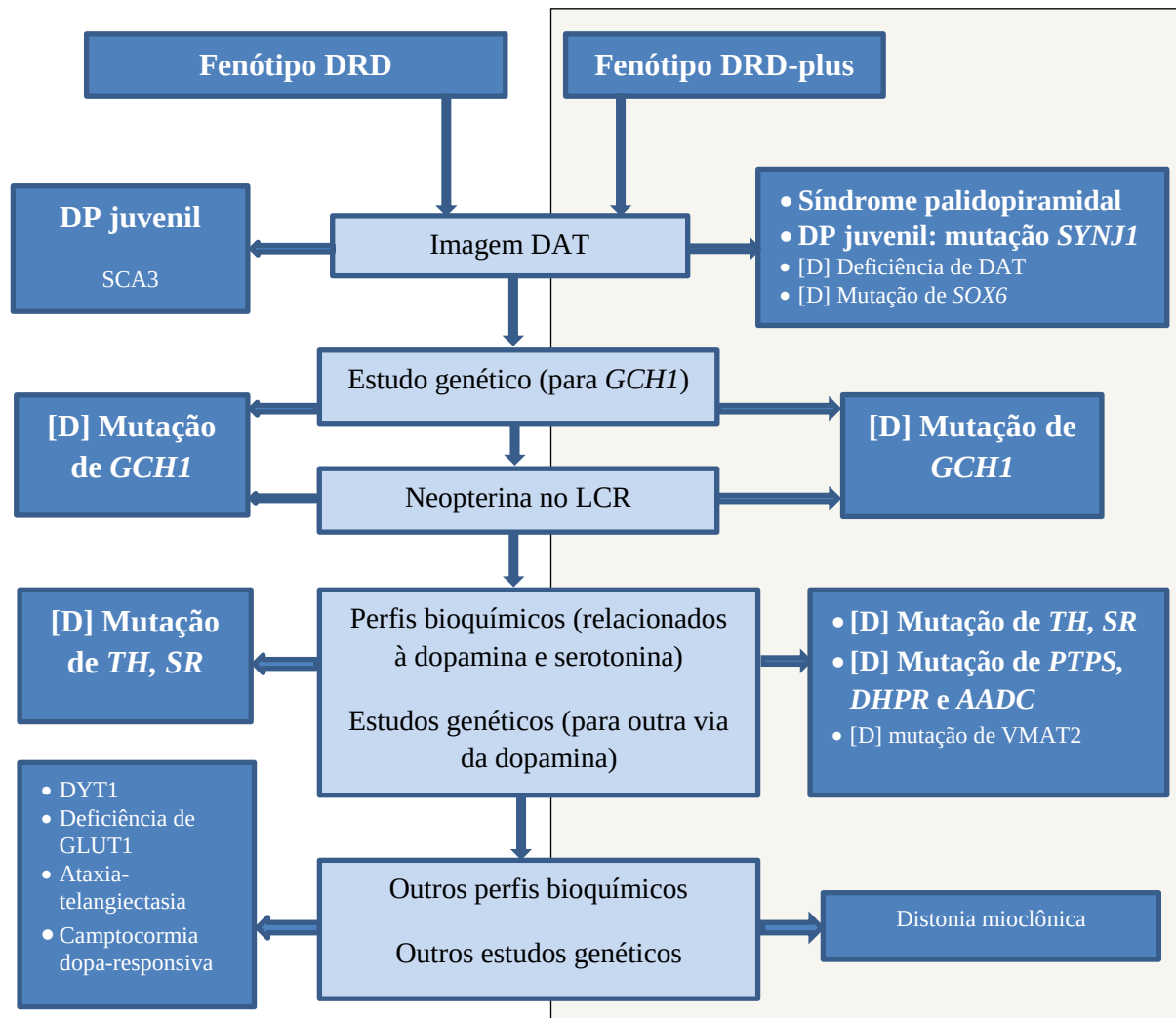


Figura 2: Fluxo diagnóstico para os fenótipos DRD e DRD-plus (adaptado de Lee WW, 2018)

Fonte: Lee WW, 2018 (adaptado).

Onde: DRD: distonia responsiva à dopamina, DP: doença de Parkinson, SCA3: ataxia espinocerebelar tipo 3, DAT: transportador de dopamina, *GCH1*: gene da guanosina trifosfato ciclo-hidrolase 1, LCR: líquido cefalorraquidiano, *TH*: gene da tirosina hidroxilase, *SR*: gene sepiapterina redutase, *PTPS*: gene pirovul tetrahydrobiopterina sintase, *DHPR*: gene dihydropteridina reductase, *AADC*: L-amino ácido aromático decarboxilase, *DYT1*: distonia 1 (distonia de torção de início precoce); *GLUT1*: transportador de glicose tipo 1, *VMAT2*: transportador de monoamina vesicular 2.

Para Furukawa (2019), estudos de neuroimagem como a tomografia computadorizada cerebral e a ressonância nuclear magnética estão normais na *DYT/PARK-GCH1* AD. A tomografia por emissão de pósitrons e a tomografia computadorizada por emissão de fóton único usando marcadores dopaminérgicos pré-sinápticos também não demonstraram em décadas recentes anormalidades do estriado em DRD e no parkinsonismo “benigno” devido a

variantes patogênicas de *GCH1* (O'Sullivan JD et al., 2001; De La Fuente-Fernández R et al., 2003; Kang J-H et al., 2004; Furukawa Y et al., 2013; Lewthwaite AJ et al., 2015; Terbeek J et al., 2015 e Lin L et al., 2018). Esses achados descritos são apoiados por níveis estriatais normais de dopa descarboxilase, transportador de dopamina e transportador de monoamina vesicular na autópsia de indivíduos com DRD por deficiência de GTPCH 1, indicando que os terminais nervosos dopaminérgicos estriatais estão preservados nesse distúrbio (Furukawa Y et al., 1999 e Furukawa Y et al., 2002).

De forma suplementar, usando tomografia por emissão de pósitrons (^{11}C)-raclopride, foi encontrada elevada ligação ao receptor D2 no corpo estriado em DRD deficiente em GTPCH 1 (Kishore et al., 1998). Análises em rede de imagens de tomografia por emissão de pósitrons de (^{18}F)-fluorodesoxiglicose mostraram que a DRD deficiente em GTPCH 1 está associada a uma topografia metabólica específica, que se caracteriza por aumentos no mesencéfalo dorsal, vermis cerebelar, e área motora suplementar e por diminuições no putâmen, bem como nas regiões corticais motora e lateral pré-motora (Asanuma K et al., 2005).

Que pesem essas possibilidades diagnósticas, ainda atualmente, é importante ressaltar o longo atraso diagnóstico muitas vezes observado em todos os subgrupos de indivíduos com DRD, especialmente sem a disponibilidade de uma triagem neonatal (Tadic V et al., 2012). Similarmente e de forma paradoxal aos avanços tecnológicos, Weissbach et al. (2022) registram que ao longo dos anos não houve melhora nesse atraso diagnóstico.

3.2.3.3 Tratamento e outras bases para o manejo clínico

De forma consensual, a L-dopa é a base terapêutica e opção de primeira linha em todos os tipos de DRD e DRD-plus (exceto na DRD por deficiência de L-aminoácido descarboxilase aromática), devendo a proposta ser individualizada de acordo com a mutação envolvida, a gravidade do quadro e possíveis efeitos adversos (Kim R, 2016; Friedman JR, 2016; Blau NH, 2015; Ng J, 2014 e Opladen T, 2012). **Para bloquear a conversão periférica em dopamina, em geral, a L-dopa é usada com inibidores de descarboxilase, como carbidopa ou benserazida, o que não somente aumenta a biodisponibilidade da dopamina, mas também reduz os seus efeitos colaterais periféricos** (Ng J, 2014).

O amplo estudo de revisão de Weissbach et al. (2022) citado (n = 734) demonstrou que 90% de todos os pacientes sintomáticos com DRD foram tratados com L-dopa, tendo 86% um resultado positivo (n = 572) e apenas 3% falta de resposta (n = 17).

Se condições como a DRD-plus implicariam na necessidade de considerar outras opções terapêuticas menos estudadas, segundo revisão sistemática de Kim (2016) referente ao tratamento de 575 pacientes com diagnóstico de DRD e DRD-plus, no que concerne aos 408 pacientes dessa revisão que tinham deficiência autossômica dominante de *GCH1*, apenas 2 pacientes não usaram L-dopa/inibidor de descarboxilase, e o benefício foi relatado em 403 de 406 pacientes (Kim R, 2016). Por causa da substancial melhora com a monoterapia com L-dopa, esse foi o tratamento mais comum de manutenção (96,3%). Anticolinérgicos como triexifenidil, considerados tratamento de segunda linha para DRD por deficiência autossômica dominante de *GCH1* e por DRD-plus causada por deficiência de descarboxilase L-aminoácido aromática, foram a segunda droga mais comumente usada, com dose inicial recomendada de 2 mg/dia e titulada até 6-10 mg/dia. Agonistas de dopamina, 5-HTP e BH₄ foram usados apenas raramente (Kim R, 2016).

Nessa revisão sistemática, Kim R (2016) classificou o resultado motor como “excelente”, “bom-regular” e “ruim”, de acordo com a impressão clínica, grau de deficiência e dependência nas atividades diárias. Já o resultado cognitivo foi avaliado com base no resultado de testes, desempenho escolar, funcionamento social e impressão clínica (Kim R, 2016).

O resultado motor diferiu de acordo com o tipo de defeito enzimático, entretanto **em todos os tipos de DRD e DRD-plus, a intervenção terapêutica precoce foi avaliada como muito importante, estando associada a resultados favoráveis.** Dos 319 pacientes com deficiência autossômica dominante de *GCH1*, 301 pacientes (93,4%) apresentaram resultado motor excelente e 16 pacientes (5%) tiveram um resultado motor bom-regular. Apenas 2 pacientes tiveram um resultado motor ruim, apesar do tratamento (Kim R, 2016).

A despeito dos bons resultados motores, nessa revisão os resultados cognitivos foram desfavoráveis independentemente do tipo de defeito enzimático. De 408 pacientes com deficiência autossômica dominante de *GCH1*, apenas seis relataram comprometimento cognitivo que não melhorou apesar do tratamento, enquanto seus sintomas motores foram notavelmente melhorados (Kim R, 2016). Já em pacientes com DRD-plus, o desenvolvimento cognitivo de longo prazo comumente era subnormal. Apesar da intervenção terapêutica precoce, retardo mental foi relatado em dez de 27 pacientes (37%) com deficiência de SR, em 28 dos 70 pacientes (40%) com deficiência de TH, e em 21 de 32 pacientes (65,6%) com deficiência de descarboxilase L-aminoácido aromática (Kim R, 2016).

Na DYT/PARK-*GCH1* AD, tipicamente, há ausência de efeitos motores adversos dessa terapia em longo prazo sob doses ótimas de L-dopa, como fenômenos “*wearing-off*”

(desgaste) e “*on-off*” e discinesias dopa-induzidas (Furukawa Y, 2019). Similar apontamento também é enfatizado por Segawa (2003) em pacientes com DRD, nos quais **geralmente doses baixas de L-dopa produzem uma resposta excelente, sem complicações também em longo prazo**, como as citadas flutuações motoras e discinesias. Harwood et al. (1994) ao descrever uma família na qual seis membros tinham DRD, por exemplo, ressaltou que, notavelmente, nos três membros da família com início na infância, os sintomas e sinais da doença estavam abolidos 36 a 52 anos depois por pequenas doses de L-dopa sem o registro de nenhum efeito colateral de longo prazo após 15 anos de tratamento.

Menos comumente, se registram na literatura casos em que a resposta da L-dopa é insatisfatória e discinesias que podem surgir como efeito adverso da L-dopa na administração inicial ou na dose de titulação (Lee WW, 2014 e López-Laso E et al., 2012). De fato, Méneret et al (2021), em artigo sobre distúrbios de movimentos hiperkinéticos tratáveis, registram que a própria terapia de reposição de dopamina pode estar associada a flutuações e discinesia (dose de pico e bifásica). Para esses autores, uma variedade de movimentos pode ser observada, de distonia à acatisia, tremor, balismo e coreia, dependendo da hora da dosagem, especialmente em pacientes parkinsonianos (Méneret A et al., 2021). No entanto, ainda que as discinesias possam aparecer no início da terapia com L-dopa, segundo Furukawa (2019) elas desaparecem após a redução da dose e não reaparecem quando a dose é aumentada gradualmente.

Debruçando-se sobre a dose inicial de L-dopa para DRD na literatura, se detecta variações usuais de 0,5-1 mg/kg/dia (Friedman JR, 2016; Blau NH, 2015; Pearl PL, 2006; Ng J, 2014; Willemsen MA et al., 2010 e Echenne B et al., 2006).

Furukawa (2019), para o tratamento inicial das manifestações da doença de Segawa, sugeriu as seguintes dosagens de L-dopa/inibidor da descarboxilase: crianças < 6 anos: 1-10 mg/kg diariamente, administrado em doses múltiplas; crianças com idade $\geq$ 6 anos: 25-50 mg 1-3x ao dia e adultos: 50 mg 1-3x/dia.

Segundo a revisão sistemática citada de Kim (2016), nessa DRD a recomendação para dose inicial de L-dopa também foi de 25-50 mg/dia e, posteriormente, mediante titulação até 100-300 mg/dia.

No que se refere aos 408 pacientes que tinham essa deficiência autossômica dominante de *GCH1* nessa revisão sistemática, as doses relatadas de L-dopa/inibidor de descarboxilase chegaram a 1800 mg/dia, mas a maioria utilizou menos de 600 mg/dia (Kim R, 2016).

Para essa DRD, segundo a revisão de Weissbach et al. (2022), 89% (n = 436) dos sintomáticos receberam L-dopa, dos quais 87% (n = 379) obtiveram resposta positiva

com uma dose média de 236 mg/dia (intervalo de 25-1800 mg/dia), ou dose média de 5,5 mg/kg/dia (intervalo de 0,4-20 mg/kg/dia).

Pearl também ressalta que a DYT/PARK-*GCH1* AD tem uma boa resposta à terapia em qualquer idade com benefícios mantidos ao longo do tempo; as demais DRDs têm fenótipos mais graves e refratários ao tratamento tipicamente com manifestações muito além dos distúrbios do movimento (Pearl PL, 2013).

Sobre esse benefício prolongado da L-dopa, importante colaboração também foi postulada por Nygaard et al. (1991) em um estudo com 66 pacientes com DRD que evidenciou a sua eficácia sustentável por um período de 10 a 22 anos, a qual, associada à coexistência de características parkinsonianas, constituíam-se em duas importantes características clínicas diferenciais da DRD para esse autor. Aliás, essa eficácia sustentada da L-dopa, livre das complicações da terapia que normalmente ocorrem na doença de Parkinson (como o fenômeno da aumentação, resposta de dose imprevisível e de “*on-off*”), distingue a DRD de outras causas de distonia de início na infância-parkinsonismo, como paralisia cerebral ou diplegia espástica.

O benefício motor da L-dopa ocorre imediatamente ou alguns dias após o seu início, mas, caso a resposta seja não favorável e a hipótese diagnóstica mantida, a dose deve ser alterada lentamente para a obtenção de um benefício máximo (resposta completa ou quase completa dos sintomas) que ocorre dentro de vários dias a alguns meses (geralmente alcançado com menos de 300-400 mg/dia de L-dopa com um inibidor da descarboxilase ou 20-30 mg/kg/dia de L-dopa isolada) (Randby H et al, 2018 e Furukawa Y, 2019).

No caso de discinesias em pacientes com DRD (e DRD-plus), se o ajuste da dose de L-dopa for insuficiente, se recomenda que a amantadina (um agonista parcial de dopamina e antagonista de receptor de ácido N-metil-D-aspartico parcial) seja considerada em dose de 4-6 mg/kg/dia (Pons R et al., 2013).

Embora a DRD por mutação no *GCH1* mostre uma resposta positiva dramática à L-dopa, alguns autores apontam controvérsias sobre os sinais residuais pós-tratamento. Tadic et al. (2012) publicaram amplo trabalho de revisão sumarizando 101 artigos, com 352 pacientes sintomáticos com DRD e mutações heterozigóticas no *GCH1*, e uma coorte piloto de 23 pacientes ambulatoriais. Os atrasos médios/desvio padrão (DP) no diagnóstico foram de 13,5/13,3 anos na literatura e 15,5/16,3 anos no piloto, caracterizando-se também como longos, a despeito dos testes genéticos já disponíveis desde 1994. Mesmo com o tratamento, sinais motores residuais nos pacientes que receberam terapia foram encontrados em 28% (literatura) e 39% (estudo piloto), incluindo na literatura sintomas distônicos (20%) e

parkinsonianos (11%), bem como contraturas ou procedimentos cirúrgicos desnecessários. Estudo sobre o tema com 39 pacientes coreanos apontou que a distonia foi completamente resolvida em 32 (84,21%) dos 38 pacientes pós-tratamento, enquanto o parkinsonismo melhorou sem sinais residuais em oito (88,89%) de nove pacientes (Ahn TB et al., 2019). A frequência de sinais residuais nesses pacientes (15,8% para distonia e 11,1% para parkinsonismo) foi semelhante à observada em pacientes chineses, mas menor do que em pacientes ocidentais. Além disso, esses sinais foram mais frequentes naqueles pacientes com maior atraso diagnóstico e relativamente mais velhos nesse momento da detecção (Ahn TB et al., 2019).

No que se refere ao manejo medicamentoso pediátrico, para Luc (2017), há uma escassez de ensaios terapêuticos para distonia infantil e a maioria das recomendações terapêuticas é consenso ou opinião de especialistas. **Estudo de revisão desse autor defende que o teste com L-dopa, além de diagnóstico, também é terapêutico em crianças com distonia e na maioria das crianças com distonia de início precoce o tratamento é sintomático**, mas com eficácia variável (Luc QN, 2017). Em estudo retrospectivo citado com 20 anos de duração em 31 crianças chinesas com DRD, na qual apenas 32,3% tinham a DRD clássica, as doses de L-dopa variaram de 0,4-8,7 mg/kg/dia, com boa e sustentável resposta em pacientes com a DRD autossômica dominante (Chen Y et al., 2020).

Para fins de raciocínio clínico, a resposta à L-dopa nem sempre é satisfatória em formas complexas de deficiência de *TH* (Hoffmann GF et al., 2003 e Chi CS, 2012). Para alguns pacientes com DRD-plus, medicamentos contendo 5-HTP e/ou BH₄ podem ser apropriados (Blau NH, 2015; Pearl PL, 2006 e Weissbach A et al., 2022). O 5-HTP é considerado um tratamento de primeira linha para deficiências autossômicas recessivas de *GCH1*, *PTS*, *SR* e *QDPR*, podendo, por aumentar os níveis desse neurotransmissor, ter um efeito benéfico sobre a disfunção psicomotora, distúrbios do sono e problemas gastrointestinais em pacientes com DRD-plus (Friedman J et al., 2012).

Outras opções terapêuticas não medicamentosas são restritas. Segundo Weissbach et al. (2022) a estimulação cerebral profunda foi utilizada para a DRD com deficiência de *GCH1* autossômica dominante em apenas quatro dos 488 pacientes (três no núcleo subtalâmico bilateral) de sua revisão. Todos esses quatro pacientes sofriam de “*wearing off*” e discinesia induzida por L-dopa, apesar da medicação dopaminérgica frequente e, portanto, exigiram estimulação cerebral profunda (Daida K et al., 2019; Rudakou U et al., 2019 e Mencacci NE et al., 2014).

Por fim, no que se refere ao acompanhamento clínico na DYT/PARK-*GCH1* AD, Furukawa (2019) também destaca que o diagnóstico e tratamento precoces podem prevenir complicações secundárias, como as citadas discinesias transitórias no início do tratamento com L-dopa. Para o autor, o monitoramento clínico rotineiro é importante e, se possível, deve ser realizado por um especialista em distúrbios do movimento e ter a descontinuação do tratamento com L-dopa evitada.

Mediante as exposições apresentadas referentes à sintomatologia, ao diagnóstico e tratamento, o Quadro 1 resume alguns aspectos clínicos da DYT/PARK-*GCH1* AD:

Quadro 1: Principais aspectos clínicos da doença de Segawa

Sintomatologia
<i>Cabeça e pescoço</i> - torcicolo <i>Esquelético</i> - Talipes equinovaro - Pes cavus - Escoliose (raro)/lordose lombar induzida por postura equinovara dos pés <i>Neurológico</i> - Distonia postural (início em uma extremidade, geralmente inferior, com distonia do pé) - Distonia de ação/rigidez e lentidão dos movimentos dos membros afetados - Distonia focal (por exemplo, “câimbra do escrivão”)/Fadiga rápida de esforço com tarefas motoras repetitivas (por exemplo, batidas com os dedos ou com os pés) - Por volta de 10-15 anos após início, a distonia postural se espalha para todos os membros - Anormalidades e ataxia de marcha, usualmente na infância - Tremor postural (início tardio, se espalha por todos os membros e pescoço) - Hiperreflexia - Podem desenvolver-se sinais sugestivos de natureza extrapiramidal e cerebelares - Aparentes respostas plantares extensoras - Parkinsonismo usualmente de início tardio (adultos) - Assimetria de sintomas
Anormalidades laboratoriais
- Diminuição da BH₄ no LCR - Diminuição do ácido homovanílico no LCR - 5-HIAA no LCR pode estar normal ou diminuído - Diminuição da atividade da GTPCH 1 (cerca de 20% do normal) - Hiperfenilalaninemia transitória no teste de sobrecarga oral com fenilalanina
Miscelânea
- Início na infância (6-7 anos) - Defeito na síntese de BH₄ - Resposta favorável à L-dopa sem efeitos colaterais - Resposta favorável à BH₄ (se disponível) - Flutuação diurna (agravamento pela noite e melhora pela manhã, após o sono) que geralmente diminui com idade e progressão da doença - Os sintomas pioram com fadiga e exercícios - Curso clínico relacionado à idade - Predominância feminina (4:1) - Heterogeneidade clínica e genética - Possível herança autossômica recessiva com início precoce - Hiperfenilalaninemia autossômica recessiva dependente de BH₄, um distúrbio alélico com um fenótipo mais grave

Fonte: OMIM (2022) e Furukawa (2019), adaptado.

Onde: BH₄: tetrahydrobiopterina; LCR: líquido cefalorraquidiano; 5-HIAA: ácido 5-hidroxi-indolacético; GTPCH 1: Enzima Guanosina Trifosfato Ciclodrolase 1; L-dopa: levodopa.

3.2.3.4 Aconselhamento genético

Em seu documento de revisão sobre a DYT5a, Furukawa (2019) recomenda esclarecer o status genético de parentes mais velhos de um indivíduo afetado, aparentemente assintomáticos e em risco, e de parentes mais jovens, a fim de identificar o mais cedo possível aqueles que se beneficiariam com o início imediato do tratamento. Entretanto, o autor ressalta que **o teste genético molecular não pode ser usado para prever a ocorrência de sintomas, idade de início, gravidade e tipo de sintomas, ou a taxa de progressão da doença no processo de avaliação de membros da família heterozigotos para uma variante patogênica de *GCH1*** (Furukawa Y, 2019).

Como a DYT5a é herdada de forma autossômica dominante, **indivíduos afetados comumente têm um dos pais afetado com essa DRD** ou por parkinsonismo de início adulto causado por uma variante patogênica de *GCH1* **e cada filho de um indivíduo com DYT/PARK-*GCH1* AD tem 50% de chance de herdar a variante patogênica. Todavia,** devido à penetrância incompleta relacionada ao sexo (maior penetrância em mulheres), **não é possível prever se descendentes com uma variante patogênica *GCH1* desenvolverão sintomas.**

Ainda segundo Furukawa (2019), se a variante patogênica encontrada no probando não puder ser detectada no DNA leucocitário de nenhum dos pais, possíveis explicações incluem uma variante patogênica nova no probando ou mosaicismos da linhagem germinativa em um dos pais. Embora teoricamente possível, nenhum caso de um probando herdando uma variante patogênica de um pai com mosaicismos germinativos foi relatado (Furukawa Y, 2019).

Se os pais foram testados para a variante patogênica *GCH1* identificada no probando e essa não puder ser detectada no DNA de células salivares de nenhum dos pais, o risco para irmãos de herdar a variante é estimado em 1% por causa da possibilidade teórica de mosaicismos da linha germinativa parental (Rahbari R et al., 2016). Já, se os pais não foram testados para a variante patogênica *GCH1*, mas não são afetados clinicamente, os irmãos estão ainda em risco aumentado para DRD deficiente em GTPCH 1 devido à possibilidade de penetrância reduzida em um pai, início tardio dos sintomas em um dos pais, ou a possibilidade teórica de mosaicismos da linha germinativa parental (Furukawa Y, 2019).

O planejamento familiar antes da gravidez deve ser o momento ideal para determinação do risco genético e discussão da disponibilidade de testes pré-natais. Esse aconselhamento genético deve ser oferecido a adultos jovens afetados ou em risco.

Um armazenamento de DNA dos indivíduos afetados em banco para possível uso futuro pode ser interessante, pois é provável que a metodologia de testagem e compreensão científica dos genes, variantes alélicas e doenças melhorem no futuro.

3.2.4 Aspectos fisiopatológicos

Desde a década de 90, exames anatomopatológicos têm contribuído para elucidação dos processos envolvidos na DYT5.

Estudo anteriormente citado de Nygaard et al. (1993b) descreveu em pacientes com DRD diminuição do conteúdo de melanina na substância negra, com contagem e morfologia de células neuronais normais, sugerindo uma redução no desenvolvimento do número de terminações nervosas dopaminérgicas no corpo estriado.

No ano seguinte, Rajput et al., em exame neuropatológico de um paciente com DRD também encontraram números normais de neurônios hipopigmentados, porém com níveis reduzidos de dopamina na substância negra, bem como atividade normal de TH e níveis normais de proteína TH na substância negra. No corpo estriado, não houve evidência de processo degenerativo, mas de redução da dopamina (8% de controle no putâmen e 18% de controle no caudado) e redução da proteína e atividade TH. Os autores, à época, concluíram que a capacidade de síntese de dopamina prejudicada ou uma arborização reduzida dos terminais de dopamina estriatais poderiam ser a fisiopatologia subjacente no DRD (Rajput AH et al., 1994). O estudo deste último grupo de pesquisadores associado a outros posteriores de mesma natureza demonstrou uma população normal de células com redução de melanina e nenhuma evidência de formação de corpos de Lewy na substância negra de quatro indivíduos com DRD deficiente em GTPCH 1 e de um indivíduo assintomático com uma variante patogênica *GCH1* (Rajput AH et al., 1994; Furukawa Y et al., 1999; Furukawa Y et al., 2002; Gröttsch H et al., 2002; Wider C et al., 2008 e Segawa M., 2013).

Ainda em 1994, **Ichinose et al. permitiram aventar a razão para a predominância feminina na DRD e para a variação diurna dos sintomas. Os autores detectaram maiores atividades de GTPCH 1 em homens do que em mulheres e que as flutuações diurnas características desse distúrbio poderiam ser explicadas pela meia-vida relativamente curta da BH₄.** Assim, os pacientes poderiam sintetizar BH₄ a uma taxa insuficiente para compensar o consumo do cofator durante o dia, levando ao agravamento dos sintomas à noite.

Cinco anos mais tarde, Furukawa et al. publicaram relato de exame neuropatológico de dois pacientes com DRD deficiente de GTPCH1, no qual encontraram uma diminuição substancial na BH₄ cerebral, neopterinina cerebral reduzida e baixos níveis da proteína TH, provavelmente secundárias à deficiência de BH₄ (Furukawa Y et al., 1999). Mais especificamente, por meio de autópsia, os níveis de biopterina e neopterinina no putâmen foram substancialmente mais baixos nesses pacientes (em média 84% e 62% menores, respectivamente) do que em controles normais pareados por idade. A porção caudal do putâmen foi a subdivisão estriatal mais afetada pela perda de dopamina (-88%). Embora os níveis no estriado da proteína dopa descarboxilase, do transportador de dopamina e do transportador de monoamina vesicular estivessem normais, os níveis proteicos da TH estavam marcadamente diminuídos no putâmen (> -97%) (Furukawa Y et al., 1999). Esses achados bioquímicos sugerem que na DRD deficiente em GTPCH 1 a redução de dopamina no estriado é causada pela diminuição da atividade de TH resultante de uma baixa no nível de cofator BH₄ e perda real de proteína TH, sem perda do terminal nervoso. Essa redução da proteína TH no estriado pode ser causada pelo efeito regulatório diminuído da BH₄ no nível de estado estacionário das moléculas de TH (Furukawa Y et al., 1999; Sumi-Ichinose C et al., 2001; Furukawa Y et al., 2002 e Sumi-Ichinose C et al., 2005).

Em um indivíduo assintomático com uma variante patogênica *GCH1*, um decréscimo dos níveis de biopterina e neopterinina (-82% e -57%) no putâmen também ocorreu em paralelo com dois indivíduos sintomáticos que foram autopsiados (Furukawa Y et al., 2002). Todavia, os níveis de proteína TH e dopamina no putâmen caudal (-52% e -44%) não foram tão gravemente afetados como nos sintomáticos. Consistente com outros dados cerebrais post-mortem sugerindo que uma perda de dopamina estriatal maior que 60-80% é necessária para que os sintomas motores evidentes ocorram (Furukawa Y, 2003 e Furukawa Y, 2004), a redução máxima de 44% de dopamina no corpo estriado do indivíduo assintomático com a variante patogênica *GCH1* não foi suficiente para produzir quaisquer sintomas de DRD deficiente em GTPCH 1. Anos mais tarde, níveis no estriado dos marcadores de serotonina (serotonina, proteína TPH, proteína transportadora de serotonina) (Kish SJ et al., 2008) foram encontrados normais na DRD deficiente em GTPCH 1 (Furukawa Y et al., 2016).

Em revisão detalhada da DRD clássica, Segawa et al. (2003) apresentaram evidências de neuroimagem, neurofisiologia e bioquímicas para confirmar essa preservação normal da estrutura dos neurônios dopaminérgicos nigroestriais. **Os achados reforçaram que a diminuição da dopamina estriatal e de TH eram a principal patologia da DRD autossômica dominante.**

Assim, o mesmo Segawa (2010), em mais uma importante publicação, apontou que devido à mutação heterozigótica da *DYT/PARK-GCH1* AD, a deficiência parcial de BH₄ afetava a TH de forma bastante seletiva e causava diminuição de TH nos terminais dos neurônios de dopamina nigroestriatal, projetando-se para os receptores D1 no estriossomo, as vias diretas estriatais e o núcleo subtalâmico, e os receptores D4 do trato tuberoinfundibular (Segawa M, 2010).

Dentre outras detecções, Segawa (2010) relatou, como referência, que as atividades de TH no terminal, que são altas na primeira infância, diminuem exponencialmente até estagnarem em torno dos vinte e poucos anos, além de mostrarem oscilação circadiana. Na *DYT/PARK-GCH1* AD, a TH segue essas variações com cerca de 20% dos níveis normais e com o desenvolvimento de sintomas clínicos aparentes característicos de acordo com a idade: no período fetal tardio até a primeira infância, através da falha na morfogênese dos neurônios de dopamina na substância negra da via estriossomo-substância nigra pars compacta; na infância, em torno dos seis anos, a distonia postural se dá pelas vias diretas D1 e a saída descendente dos gânglios da base (Segawa M, 2010). **A flutuação diurna que é aparente na infância diminui seu grau com a idade; a deficiência de TH no terminal do núcleo subtalâmico causa distonia de ação por volta dos oito anos, tremor postural por volta de dez anos e distonia focal na idade adulta (Segawa M, 2010).** Assim, os casos de início adulto na família com distonia de ação começam com câimbra do escritor, torcicolo ou hipertonía rígida generalizada com tremor, mas não apresentam distonia postural. Ademais, essa **deficiência de TH nos receptores D4 também justifica a estagnação do comprimento do corpo na infância.** Por fim, segundo esse proeminente autor, a distonia de ação depende do locus da mutação e é um distúrbio excitatório; já a distonia postural, um distúrbio inibitório. Entretanto, **como a deficiência de TH no terminal não causa alterações morfológicas ou processos degenerativos, a L-dopa apresentaria efeitos favoráveis sem qualquer relação com a duração da doença** (Segawa M, 2010).

Três anos mais tarde, achados consistentes de dopamina reduzida em coloração histoquímica nos terminais do neurônio dopaminérgico nigroestriatal de pacientes com DRD autopsiados também foram relatados por estudo do mesmo autor (Segawa M, 2013).

No mesmo ano, interessante estudo de Ichinose et al. (2013) em camundongos, partindo do entendimento de que defeitos genéticos em um alelo do *GCH1* podem resultar em DRD devido à deficiência parcial de BH₄, explorou o controle transcricional desse gene, analisando sua via de sinalização. Comparando camundongos selvagens, cujos níveis de

dopamina e proteína TH foram acentuada e concomitantemente aumentados a partir do nascimento, com outros dois tipos de camundongos transgênicos deficientes em biopterina, cujos aumentos de dopamina e TH foram abolidos e que exibiam distúrbios motores com pequenas diferenças, Ichinose et al. (2013) sugeriram que o desenvolvimento da manifestação de sintomas psicomotores na deficiência de BH₄ pode ser atribuível pelo menos parcialmente à alta dependência do desenvolvimento dopaminérgico sobre a disponibilidade de BH₄.

3.3 Sintomatologia não motora em distonias, com ênfase na DYT/PARK-*GCH1* AD

Essa revisão de literatura está apresentada como resultado no item **6.1 Artigo de revisão - “Sintomatologia não motora na doença de Segawa autossômica dominante: uma revisão histórica”**.

Pela relevância da publicação síntese de Antelmi et al. (2015) para a presente tese, os artigos selecionados por esses autores estão sistematizados no Quadro 2.

Quadro 2: Sintomas não motores na distonia responsiva à dopamina: dados na literatura selecionados pela revisão de Antelmi et al., (2015)

(continua)

Artigo	Tipo de Estudo	População	Métodos	Achados
Nitschke et al., <i>J Neurol Neurosurg Psychiatry</i> 1998	Série de casos	3 mulheres com DRD geneticamente confirmada de uma mesma família	Questionários para função cognitiva: WAIS; WCST	Em todos os pacientes, anormalidades cognitivas sutis, as quais melhoraram depois do tratamento com L-dopa
Hahn et al., <i>Arch Neurol</i> 2001	Série de casos	13 pacientes com DRD geneticamente confirmada de uma mesma família	Obtenção da história, BDI, STAI, MOCI	# 6 sintomas psiquiátricos # 4 depressão # 1 TOC # 6 ansiedade # 6 surdez (cl clinicamente reportadas)
Van Hove et al., <i>J Neurol Neurosurg Psychiatry</i> 2006	Série de casos	18 pacientes com DRD genética ou bioquimicamente confirmada de 3 diferentes famílias	Entrevista estruturada por um psiquiatra, usando SCID-I/P, Versão 2.0, em 16 pacientes Em 2 pacientes, história psiquiátrica foi baseada em registros clínicos, PSQI, ESS, PSG, and MSLT.	44% depressão (grave em 28%) 22% TOC 22% ansiedade ESS normal PSG normal #5 tendinites recorrentes
Nagata et al., <i>Mov Disord</i> 2007	Relato de caso	Uma mulher de 20 anos de idade com DRD comprovada bioquimicamente	WAIS-R, HDS-R, MMSE	Anormalidades cognitivas leves: IQ: 44 HDS-R: 22 MMSE: 23
Venna et al., <i>N Eng J Med</i> 2006	Relato de caso	Uma mulher de 19 anos de idade com DRD comprovada geneticamente	Obtenção da história	Instabilidade emocional intermitente e humor deprimido
Trender-Gerhard et al., <i>J Neurol Neurosurg Psychiatry</i> 2009	Série de casos	34 pacientes com DRD comprovada geneticamente (32 pacientes de 16 famílias diferentes e 2 casos isolados)	Obtenção da história	# 12 humor deprimido # 6 depressão grave # 4 RLS
Dale et al., <i>Develop Med Child Neurol</i> 2010	Série de casos	3 pacientes com DRD confirmada geneticamente	Obtenção da história e diagnóstico psiquiátrico	# 2 depressão maior

(conclusão)

Artigo	Tipo de Estudo	População	Métodos	Achados
López-Laso et al., <i>J Neurol</i> 2011	Série de casos	14 pacientes com DRD confirmada genética ou bioquimicamente de 2 famílias diferentes	Questionários: BDI; STAI; BIS-11; OSQ; PSG WAIS-III; CDI; STAI para crianças; MFF-20; WPPSI; WISC-R	# 7 impulsividade # 1 ansiedade # 9 IQ de borderline a prejuízo leve # 4 de 7 distúrbios de sono (anamnésico, principalmente insônia e sono interrompido) # 2 de 7 sonambulismo (anamnésico)
Ling et al., <i>Mov Disord</i> 2011	Série de casos	4 pacientes com DRD confirmada geneticamente da mesma família	Obtenção da história, 1 paciente PSG	# 4 depressão # 4 migrânea # 1 ataque do pânico # 4 RLS # 1 de 1 PLM na PSG com índice de despertar aumentado
Tadik et al., <i>Arch Neurol</i> 2012	Estudo caso-controle	23 pacientes com DRD confirmada geneticamente	BDI	6 casos (32%) reportaram 1 ou mais NMF, entre depressão, ansiedade, e migrânea
Bruggemann et al., <i>Parkinsons Related Disord</i> 2014	Estudo caso-controle	23 pacientes com DRD confirmada geneticamente	Questionários: BDI; STAI; ESS; SSS; FEPS-II; WHO-Qol BREF; # 6 F PSG	# 2 de 6: latência de sono aumentada # 5 de 6: latência REM aumentada # 2 de 6: eficiência de sono reduzida # 1 PLM > 5 (com RLS)
Lin et al., <i>J Chil Neurol</i> 2014	Relato de caso	Um homem de 14 anos de idade com DRD comprovada geneticamente	Obtenção da história, Teste laboratorial, e de imagem	Baixos GH e estatura, os quais normalizaram depois da L-dopa

Fonte: Antelmi E et al., 2015.

Onde: BDI: Inventário de Depressão de Beck; BIS-11: Escala de Impulsividade de Barratt 11; CDI: Inventário de Depressão Infantil; DRD: distonia responsiva à dopamina; ESS: Escala de Sonolência de Epworth; F: female; FEPS-II: Questionário para avaliar traços de personalidade específicos de pessoas com problemas de sono; GH: hormônio do crescimento; HDS-R: Escala de Demência de Hasegawa Revisada; IQ: Quociente de Inteligência; MFF-20: Teste de Correspondência de Figuras Familiares - 20; MMSE: Exame de Estado Mini-Mental; MOCI: Maudsley Obsessivo-Compulsivo; MSLT: Teste de Latência de Sono Múltiplo; NMF: características não motoras; OSQ: Questionário de Sono de Oviedo; PLM: movimentos periódicos dos membros; PSG: polissonografia; PSQI: Índice de Qualidade de Sono de Pittsburgh; RLS: Síndrome de Pernas Inquietas; SCID-I/P: Entrevista Clínica Estruturada para Distúrbios Eixo I do DSM-IV; SSS: Escala de Sonolência de Stanford; STAI: Inventário de Ansiedade Traço-Estado; TOC: transtorno obsessivo compulsivo; WAIS: Escala de Inteligência de Adulto de Wechsler; WAIS-R: Escala de Inteligência de Adulto de Wechsler Revisada; WAIS-III: Escala de Inteligência de Adulto de Wechsler Versão III; WCST: versão modificada de Nelson do Wisconsin Card Sorting Test; WHO-Qol BREF: versão de 26 itens do questionário da Organização Mundial da Saúde; WISC-R: Escala de Inteligência de Wechsler pra Crianças - Revisado; WPPSI: Escalas de Inteligência de Pré-escola e Primárias de Wechsler

3.4 Gestação na DYT/PARK-*GCH1* AD

Mediante a ocorrência da gestação em duas mulheres com DRD acompanhadas nesse projeto, também foram efetivadas pesquisas bibliográficas na base de dados PubMed/NCBI dos termos ((Segawa[Title/Abstract]) OR (Dopa-responsive Dystonia[Title/Abstract])) AND (Pregnancy[Title/Abstract]) em 16/09/2021 e 16/02/2022, resultando em apenas cinco artigos com textos completos, nos últimos dez anos, em inglês. Desses, dois artigos abordavam teste genético pré-natal para a DRD (Nedelea F et al., 2018 e Zhang W et al., 2017), um era a já citada revisão de Furukawa (2019) sobre DRD deficiente de GTPCH 1, outro se tratava de revisão da literatura sobre a doença de Parkinson na gestação (Young C et al., 2020) e o último abordava o papel do *GCH1* e da BH₄ no desenvolvimento embrionário (Douglas G et al., 2015).

Entretanto, desde 2009, Trender-Gerhard et al. já relatavam a evolução favorável das gestações ocorridas em mulheres com a DYT/PARK-*GCH1* AD. **Em 20 gestações de 12 mulheres, a L-dopa foi continuada sem efeito adverso na maioria.** Duas mulheres experimentaram remissão do quadro, resultando em redução ou interrupção da terapia e duas mulheres relataram piora leve da distonia, sendo o aumento na dose necessário em uma delas. **Não foram identificadas anormalidades fetais** (Trender-Gerhard I et al., 2009).

A opinião de Watanabe (2012), ao apresentar um bom resultado obstétrico na sétima paciente com DYT/PARK-*GCH1* AD reportada pelo autor, reforçou proposta de preferencialmente utilizar monoterapia com L-dopa durante a gravidez e puerpério. Dentre as seis pacientes com nove gestações anteriormente acompanhadas, cinco permaneceram assintomáticas com L-dopa, enquanto a gestante que não recebeu o tratamento apresentou piora dos sintomas e natimorto. Dessas nove gestações, uma monoterapia com L-dopa foi realizada em seis, todas com bons resultados obstétricos; a única mulher recebendo terapia combinada teve dois abortos consecutivos e, posteriormente, recebeu monoterapia com L-dopa durante sua terceira gravidez, resultando em um bebê saudável (Watanabe T et al., 2009). À época, a monoterapia com L-dopa e não a terapia combinada foi sugerida como tratamento de escolha, uma vez que a carbidopa aumentaria a concentração de L-dopa em órgãos, o que poderia estar associado ao aborto relatado (Nomoto M et al., 1997). No entanto, conforme Watanabe et al. (2009), os abortos espontâneos durante a terapia combinada poderiam ter sido apenas coincidência.

Dez anos após Trender-Gerhard et al., a robusta revisão dessa DRD por **Furukawa (2019)** também indicou que a terapia com L-dopa é usualmente continuada durante a gravidez sem efeitos adversos na maioria dos casos. Os períodos perinatal e pós-natal são descritos como normais, assim como o desenvolvimento motor inicial.

Mediante a escassez de estudos com apropriação do tema gravidez na doença de Segawa, a análise de uma recente revisão de Young et al. (2020) enfocada no manejo de gestantes com doença de Parkinson apontava que ainda não existiam, de momento, diretrizes clínicas padronizadas até para essa temática mais frequente. **Nessa revisão, de maneira peculiar, dentre as 148 gestações identificadas em 31 estudos, 21 haviam ocorrido em DRDs e 32 em SPI, mediante tratamento com L-dopa**, e os achados comuns para o manejo sugerido incluíram a preferência pela monoterapia com L-dopa (não disponível comumente no Brasil) e o parto normal, salvo contraindicação por outras causas obstétricas (Young C et al., 2020). Nessa síntese, das 109 gestações expostas à L-dopa cujos resultados estavam disponíveis, 83% resultaram em nascidos vivos ($n = 91$), 8% terminaram eletivamente ($n = 9$) e 9% resultaram em aborto espontâneo ($n = 9$), **estando as perdas fetais dentro dos parâmetros de 10 a 24% encontrados na população em geral** (National Institute for Health and Care Excellence – UK, 2018). **Todavia, nenhuma dessas mulheres amamentou no período pós-parto devido às preocupações referentes ao impacto do uso da medicação oral.** A esse respeito, além dos efeitos inibitórios da L-dopa sobre a síntese de prolactina sugerirem a supressão da lactação, as decisões relacionadas à amamentação foram avaliadas pelo autor como complexas pela limitada informação referente ao risco potencial da medicação para os bebês, embora as concentrações de L-dopa no plasma e no leite materno em um estudo único tenha estimado o nível de exposição como baixo (0,016-0,023 mg/kg/dia) (Thulin PC et al., 1998).

Outra revisão sistemática do mesmo ano também com o enfoque na abordagem da doença de Parkinson identificou 20 estudos com um total de 38 gestantes e 53 gestações (Olivola S et al., 2020). Que pese o fato de que para o *Food and Drug Administration* americano todas as medicações anti-parkinsonianas serem contraindicadas durante a gestação e classificadas como categoria C para a gravidez (devido à falta de evidência humana ou animal no que se refere às consequências para o desenvolvimento fetal), também para esses autores, **a L-dopa ainda permanece como a melhor opção terapêutica em termos de segurança e eficácia para essas gestantes** (Olivola S et al., 2020). Essa revisão ressalta que a despeito de alguns estudos em animais (Staples RE, 1973 e Theiss E, 1971) demonstrarem que elevadas doses de L-dopa em monoterapia ou combinada com inibidores periféricos de

dopa-descarboxilase possam levar ao retardo do crescimento intrauterino ou efeitos teratogênicos como malformação do sistema circulatório e malformação do esqueleto (Hagell P, 1998), **artigos diversos sugeriram bom perfil de segurança no uso de L-dopa em gestantes** (Golbe LI, 1987; Allain H et al, 1989; Ball MC, 1995; Cook DG, 1985; Gershanik OS, 1986; Shulman LM, 2000; Campos-Souza RN et al., 2008). **Sabe-se que a L-dopa atravessa a placenta, alcançando tecidos fetais** (Merchant CA et al., 1994); **já os coadjuvantes carbidopa e benserazida são encontrados em altas concentrações no cordão umbilical, mas em concentrações muito baixas no tecido fetal, indicando que a placenta exerce uma barreira de defesa** (Staples RE, 1973; Theiss E, 1971 e Merchant CA et al., 1994). Assim, ainda que dois casos de aborto no primeiro trimestre (Gershanik OS, 1986 e Robottom BJ, 2008) e um de osteomalácia tenham sido relatados com o uso da L-dopa em monoterapia ou em combinação (Hagell P, 1998), os achados dessa revisão também corroboram a perspectiva de que **a reposição de baixas doses de L-dopa, comumente necessária na DYT/PARK-*GCH1* AD, não esteja associada a efeitos deletérios na gestação e no feto.**

Por fim, no que tange ao diagnóstico pré-natal e aos cuidados com a gravidez, que pese o contexto apresentado na presente tese, relato de caso de Nedelea et al. (2018) sugeriu que o risco de recorrência de doenças genéticas conhecidas em famílias afetadas deveria ser avaliado idealmente no momento pré-concepcional. Esses autores destacaram a importância de uma abordagem multidisciplinar no contexto de novas técnicas de diagnóstico, ao registrarem a história de uma gestante de 32 anos que procurou aconselhamento sobre diagnóstico genético invasivo de DRD com 12 semanas de gestação, em sua segunda gravidez, após ter tido um filho com a distonia diagnosticada durante primeiro ano de vida da criança com base em achados bioquímicos (não comum na DYT/PARK-*GCH1* AD). Mediante raciocínio clínico, o exame de sequenciamento de próxima geração do irmão afetado identificou mutações de ambos os genes *GCH1* e *TH*, enquanto a mãe estava grávida novamente (Nedelea F et al., 2018). Assim, o processo de decisão sobre qual teste genético deveria ser efetivado foi fortemente correlacionado com o fenótipo clínico e o teste foi realizado por amniocentese na 18ª semana de gestação (Nedelea F et al., 2018). Aspectos operacionais sobre esse tema estão destacados no item 3.2.3.4 sobre aconselhamento genético.

3.4.1 Síndrome de pernas inquietas em gestação com DYT/PARK-*GCH1* AD

A ocorrência de SPI em ambas as gestantes com DRD acompanhadas nesse projeto também propiciou uma pesquisa na base de dados PubMed/NCBI dos termos ((Segawa[Title/Abstract]) OR (Dopa-responsive Dystonia[Title/Abstract])) AND (Restless leg syndrome[Title/Abstract]). Essa pesquisa revelou um único artigo científico disponível na mesma data anteriormente referida. Trata-se da já citada revisão da literatura de Young et al. (2020) sobre o manejo de doença de Parkinson durante gestação, por meio da qual, dentre as 148 gestações identificadas em 31 estudos, 32 haviam ocorrido em pacientes com SPI, em uso de L-dopa. Entretanto, síntese prévia desse artigo no item anterior registra que essa publicação sequer aborda diretamente a ocorrência de SPI em gestantes com DRD (Young C et al., 2020). Assim, procedeu-se a uma revisão bibliográfica mais focada na SPI e seus desafios de manejo clínico durante a gestação, a qual totalizou 27 artigos disponíveis nos últimos dez anos em português, espanhol e inglês na base de dados PubMed/NCBI ao se pesquisar os termos (Restless leg syndrome [Title/Abstract]) AND (Pregnancy[Title/Abstract])).

3.4.1.1 Síndrome de pernas inquietas

A SPI, ou doença de Willis-Ekbom, se caracteriza por sensações desagradáveis nas pernas que ocorrem tipicamente antes do início do sono, causando um desejo quase irresistível de mover as pernas (American Sleep Disorders Association Diagnostic Classification Steering Committee, 2005). Trata-se, portanto, de um distúrbio neurológico sensoriomotor que interrompe o sono, também sendo analisada dentre os distúrbios que afetam o ciclo sono-vigília, os quais resultam em queixas frequentes na gravidez (Grover A, 2015).

Cinco características requeridas para o diagnóstico da SPI se encontram resumidas no quadro a seguir:

Quadro 3: Resumo das características para o diagnóstico da síndrome de pernas inquietas conforme Grupo de Estudo Internacional da Síndrome de Pernas Inquietas

Características
A urgência em se mover as pernas (e outras partes do corpo), usualmente acompanhada ou causada por sensações desagradáveis nas pernas;
O surgimento ou agravamento dessas sensações desagradáveis e da urgência para se mover, durante períodos de descanso ou inatividade, tais como repouso ou estar sentado;
A urgência para se mover e sensações desagradáveis parcialmente ou totalmente aliviadas pelo movimento, tais como andar, efeito esse mantido durante a atividade;
A piora da urgência para se mover e das sensações desagradáveis durante a tarde/noite ou apenas ocorrendo nessas partes do dia e
Afastadas responsabilidades exclusivas dessas características serem causadas por outras condições médicas ou comportamentais, tais como mialgia, edema das pernas, estase venosa, artrite e desconforto posicional que podem mimetizar os sintomas descritos.

Fonte: International Restless Legs Syndrome Study Group, 2022 (adaptado).

Comorbidades como distúrbio de déficit de atenção e hiperatividade, ansiedade, depressão, insônia e o tratamento de complicações psiquiátricas com diversos medicamentos psicotrópicos são fatores importantes que podem induzir e piorar os sintomas da SPI (Tachibana N, 2015 e Vlasie A et al., 2022).

No que se refere à etiologia, **evidências sugerem que a SPI resulte de uma deficiência de ferro cerebral regional e/ou fatores genéticos específicos que perturbam a neurotransmissão de dopamina nas áreas subcorticais do cérebro** (Vlasie A et al., 2022). **A atuação dos fármacos sobre um fenótipo bem definido e a diminuição dos receptores D2 no corpo estriado são importantes argumentos que suportam a disfunção da transmissão de dopamina como uma base fisiopatológica para a SPI** (Vlasie A et al., 2022). **Há uma associação direta da deficiência de ferro com uma redução da atividade dos receptores D2, uma vez que a suplementação oral de ferro se mostrou eficiente no alívio dos sintomas de SPI. Assim, para autores diversos, o principal tratamento para**

SPI é representado pelos bem tolerados agonistas dopaminérgicos, embora benefícios reais também tenham sido relatados com o uso de pramipexol, ropinirol e rotigotina, cujos dados de segurança durante a gravidez ainda são limitados e sem provas suficientes para um consenso (Briggs GG, 2011; Dostal M et al., 2013 e Mucchiut M et al, 2004).

Ekbom e Norlander já direcionavam para essa tese da deficiência de ferro na SPI, apoiada por achados epidemiológicos como uma prevalência nove vezes maior dessa síndrome em uma população com anemia por deficiência de ferro do que na população em geral ou o risco aumentado de SPI em todas as condições que comprometem o status do ferro, como na gravidez (Allen RP, 2015 e Allen RP et al., 2015). Ainda que a maioria dos pacientes com SPI não apresente indício de deficiência de ferro periférica, o que se sugere é uma deficiência de ferro cerebral, documentada por estudos que descobriram baixa ferritina do LCR em pacientes com SPI (Earley CJ et al., 2000 e Mizuno S et al., 2005). **Na prática, mediante as limitações para a dosagem da ferritina no LCR, se os níveis séricos de ferritina forem $\leq 75 \mu\text{g/l}$ ou a transferrina e capacidade de ligação de ferro $< 20\%$, se torna imperativo administrar terapia de ferro oral, uma vez que o transporte de oxigênio é ferro-dependente e nesse contexto surgem hipóxia e desmielinização; a ativação de vias hipóxicas aumentaria a atividade dopaminérgica (Allen RP, 2015 e Vlasie A et al., 2022).** Em outra abordagem, Stiasny-Kolster et al. (2004) recomendam a reposição do ferro caso a razão da ferritina sérica medida em $\mu\text{g/l}$ seja menor que a idade do paciente. A administração intravenosa de ferro pode ser considerada nos casos refratários durante o segundo ou terceiro trimestre de gravidez e no período pós-parto, quando a administração de ferro via oral falhar e os valores de ferritina forem $< 30 \text{ mg/L}$ (Dodel R et al., 2010).

Outros autores apontam que a genética pode desempenhar um papel na etiologia (Montplaisir J et al., 1997). Igualmente, a disponibilidade de transportadores de serotonina no tronco cerebral poderia também contribuir para a doença; quanto menos transportadores de serotonina, maior é a transmissão de serotonina no cérebro, o que exacerba os sintomas da SPI (Jhoo JH et al. 2010).

Uma escala internacional de classificação da gravidade da SPI composta por dez questões tem sido amplamente proposta por meio de um questionário autoaplicável, com uma pontuação entre 0 e 40 (Walters AS et al., 2003). Com tradução e validação no Brasil, uma pontuação entre 0 e 10 corresponde a graduação leve; entre 10 e 20, moderada; entre 20 e 30, grave; e mais de 30, a graduação muito grave (Masuko AH et al, 2008).

Referente ao tratamento, intervenções não farmacológicas e farmacológicas apresentam níveis variados de resultado, com a suplementação de ferro e a terapia

dopaminérgica sendo mais eficazes em casos mais graves e formas resistentes de SPI (Cotter PE, 2015 e Allen RP et al, 2018). A terapia dopaminérgica, com a L-dopa ou múltiplos agentes dopaminérgicos, tem se mostrado efetiva e, como exposto, principal escolha; a L-dopa é bem tolerada em indivíduos com SPI, não sendo comum a discinesia induzida como nos pacientes com doença de Parkinson, que pesem os riscos de recaída (pela L-dopa ter curta meia-vida) e desenvolvimento de tolerância (Vlasie A et al., 2022).

Todavia, atualmente, a L-dopa tem se estabelecido como mais efetiva apenas nos casos de SPI com sintomas intermitentes, especialmente por causa da grande possibilidade de aumento dos sintomas em frequência e gravidade, com consequente aumento das doses (Cotter PE, 2006 e Allen RP, 1996). Como o aumento da atividade de dopamina leva a uma regulação natural “para baixo”, tanto no receptor quanto no nível intracelular, e como a dopamina tem um claro ritmo circadiano, aumentando pela manhã e diminuindo à tarde/noite, nessas circunstâncias, a resposta pós-sináptica na SPI é adequada para o período diurno, mas exagerada para o noturno. Isso resulta em um déficit dopaminérgico noturno, apesar do excedente global de dopamina, cursando com excitação e alerta pela manhã, o que impede a sonolência esperada de um sono fragmentado na SPI (Allen RP, 2015). Assim, a proposta plausível de administrar uma dose baixa de dopamina à noite pode propiciar um alívio aparente para o paciente, mas aumentar a consequente regulação para baixo da dopamina, piorando os sintomas da SPI. Essa tolerância inicial pode então resultar na necessidade de doses crescentes para o mesmo efeito, resultando no fenômeno da “aumentação” e agravando a patologia subjacente; o ajuste do sistema para aumentar as doses de dopamina, em última análise, piora os sintomas da SPI, com o paciente lutando contra sintomas diurnos e dependente de medicação para evitar a retirada (Allen RP, 2015 e Trifu SC, 2020). O uso de medicamentos de longa ação como rotigotina transdérmica, assim como baixas doses de medicação, podem reduzir o risco dessa aumentação debilitante, uma limitação terapêutica da dopamina como primeira linha para a SPI (Oertel W et al., 2011).

Já uma terapia medicamentosa relacionada à ciclicidade do sono deve ser administrada preferencialmente no início da noite, ou dividida uma parte do início da noite e outra um pouco mais tarde, objetivando melhoria na qualidade do sono e o controle do fenômeno de agravamento noturno. O clonazepam e outros recursos farmacológicos como a gabapentina também podem ser indicados para o tratamento dos sintomas álgicos na SPI (Buchfuhrer MJ, 2012).

Síndrome de pernas inquietas em gestação

A SPI é o mais comum distúrbio do movimento que afeta a gestação, sendo a gravidez também um fator de risco para a própria SPI (Grover A, 2015). Na gestação, a sua prevalência foi estimada em 12-20% por Ekbom (1960) e Goodman (1988), mas pode variar entre 1-30% (Ekbom KA, 1960; Goodman JD, 1988 e Khan M et al., 2018). Quando a SPI ocorre durante a gravidez, é classificada como transitória ou secundária.

A SPI é um fator de risco durante a gravidez por desenvolver circunstâncias como insônia (com sonolência diurna excessiva, mau funcionamento diurno e má qualidade do sono, que se constituem em fatores de risco para prematuridade), complicações no parto e distúrbios de humor (com aumento do risco de depressão perinatal) (Garbazza C, 2018; Dunietz GI et al., 2017; Okun ML, 2011 e Wesström J et al., 2014).

Durante a gestação, além da coadjuvante deficiência de ferro, alterações hormonais também poderiam se constituir em fatores precipitantes para os sintomas da SPI. A progesterona é conhecida por aumentar a atividade neuronal e a sensibilidade do centro respiratório ao dióxido de carbono e essa hiperexcitabilidade causaria SPI. **A prolactina, secretada durante a gravidez, que tem a mesma ritmicidade circadiana que os sintomas da SPI, diminui a ação da dopamina, podendo levar ao aumento desses sintomas (hipótese de insuficiência dopaminérgica).** Alterações hormonais como uma possível causa de SPI na gestação também são apoiadas pela constatação de que após o parto os sintomas da SPI desaparecem na maioria dos pacientes (Grover A, 2015).

Em gestantes, o tratamento da SPI deve ser inicialmente não farmacológico, incluindo atividades físicas de moderada intensidade, redução da exposição à cafeína e ao tabaco, higiene do sono, alongamento e massagem nos membros inferiores, meias elásticas de compressão e banhos quentes (Vlasie A et al., 2022; Garbazza C, 2018 e Grover A, 2015). Se intervenções farmacológicas forem necessárias, os medicamentos devem ser usados na menor dose eficaz e pelo menor tempo possível (Garbazza C, 2018). A suplementação oral de ferro pode observar as recomendações anteriormente propostas. Se necessária, a combinação carbidopa/L-dopa pode ser usada em uma dose diária ideal de 20/100 a 50/200mg, com a preferência por uma fórmula de uso prolongado para reduzir a tolerância. No entanto, para Briggs (2011), a combinação de L-dopa com benserazida deveria ser evitada devido a possíveis efeitos adversos da benserazida no desenvolvimento do esqueleto fetal. Outros fármacos como benzodiazepínicos (clonazepam em baixas doses, durante o segundo e terceiro

trimestres da gestação e lactação), gabapentina, opioides (oxicodona após o primeiro trimestre de gestação e tramadol durante a lactação) e clonidina (de insuficiente evidência) podem ser considerados para gestantes que não tenham deficiência de ferro ou folato, ou não respondam à terapia de reposição (Grover A, 2015 e Picchietti DL et al. 2015). **Devido à inibição da prolactina pelos agonistas dopaminérgicos o aleitamento materno geralmente não é sustentado; entretanto esse aspecto é reversível com a interrupção dessa medicação** (Picchietti DL et al. 2015 e Prosperetti C, 2015).

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Ampliar o conhecimento das manifestações clínico-laboratoriais da DYT/PARK-*GCH1* AD, com ênfase em seus SNM, contribuindo para definir sua penetrância incompleta, a relevância do uso de L-dopa/outras psicofármacos em seu fenótipo e estratégias mais efetivas de cuidado, por meio de estudos propedêuticos em família afetada e da gestão de casos de seus indivíduos diagnosticados.

4.2 Objetivos específicos

Estudo 1 (artigo)

- Realizar uma revisão histórica da sintomatologia não motora na doença de Segawa autossômica dominante.

Estudo 2 (artigo)

- Definir a penetrância incompleta da DYT/PARK-*GCH1* AD na família estudada, considerando a relevância da L-dopa/outras psicofármacos nessas manifestações.

Estudo 3 (artigo)

- Realizar investigação de AAs e neurotransmissores relacionados aos SNM da DYT/PARK-*GCH1* AD nos grupos de familiares com e sem a mutação identificada para conhecimento do perfil bioquímico.
- Inferir sobre possíveis relações entre os resultados da avaliação bioquímica e os resultados da avaliação dos distúrbios neuropsiquiátricos e do sono já disponibilizados em mestrado afim (Alves Júnior AC, 2017).

Estudos 4 (artigo) e 5 (corpo da tese)

- Aplicar a gestão de casos em familiares com o diagnóstico de DYT/PARK-*GCH1* AD, incluindo gestantes em uso da L-dopa e indivíduos com SPI, propiciando o desenvolvimento

da tecnologia “Gestão de Vidas Raras” (GVR) para a sistematização da assistência, identificação de problemas, implementação de planos de cuidado individualizado e monitoramento de resultados de grupo de indivíduos afetados.

Estudo 5 (corpo da tese)

- Realizar investigação do transtorno misto de ansiedade-depressão, por meio da aplicação do Módulo Z do M.I.N.I. PLUS – Mini International Neuropsychiatric Interview Plus (BRAZILIAN VERSION 5.0.0.), e da SPI, conforme critérios diagnósticos afins, nos grupos estudados.

5 PACIENTES E MÉTODOS

Em continuidade aos métodos propostos no mestrado do mesmo autor (Alves Júnior AC, 2017), nessa família acometida pela DYT/PARK-*GCH1* AD (Souza CP et al., 2008) se propôs inicialmente a ampliação de estudo do tipo vida real observacional, não intervencional, analítico, transversal e comparativo dos indivíduos dispostos em grupos caso e controle intrafamiliar. Todavia, considerou-se no doutorado a análise de novas variáveis, como a utilização de psicofármacos, em especial a L-dopa e antidepressivos, a ocorrência da SPI e do transtorno misto de ansiedade-depressão, e novas ferramentas, como as avaliações bioquímicas. Adicionalmente, familiares com o diagnóstico da DYT/PARK-*GCH1* AD foram acompanhados em um estudo de vida real do tipo coorte longitudinal, prospectiva, por meio da tecnologia de gestão de casos, aqui adaptada como tecnologia “Gestão de Vidas Raras” (GVR).

O conteúdo descrito a seguir enfoca aspectos das ferramentas e análises utilizadas na presente tese não suficientemente abordados dentro dos respectivos artigos científicos resultantes. Algumas descrições metodológicas também utilizadas durante o projeto de mestrado podem ser incluídas, e devidamente identificadas, quando pertinentes para melhor elucidação.

5.1 Grupos amostrais

As gerações da família única estudada residiam em sua maior parte na mesorregião do Campo das Vertentes, Minas Gerais, de onde alguns familiares migraram especialmente para a capital mineira. Nessa mesorregião, os familiares pertenciam primariamente ao município de Barroso, cidade que remonta aos bandeirantes portugueses que percorriam a região no século XVIII. Há registros de que membros da família estudada fizeram parte da Comissão Emancipadora do município na década de 1950, quando o município apresentava cerca de 3.000 habitantes. Mais recentemente, observou-se um expressivo crescimento da cidade com o advento da indústria do cimento, com uma população estimada de cerca de 20.000 habitantes em 2014 (Prefeitura Municipal de Barroso, 2023). Em menor escala, o município histórico vizinho de São João Del Rei também contribuiu para os familiares da amostra.

Os grupos iniciais para esse projeto de pesquisa foram constituídos dentre os indivíduos dessa família, caracterizada por favoráveis recursos socioeconômicos se

comparados à média brasileira, que, de momento, apresentavam avaliação genética quanto à ocorrência ou não da mutação (Souza CP et al., 2008). O amplo heredograma familiar, atualizado ao longo desse projeto e abordando praticamente cinco gerações, apresentava caracterização conforme ANEXO B.

O caso índice dessa família, identificado por Dra. Eugenia Ribeiro Valadares e descrito por Souza et al. (2008), se trata de uma adolescente que teve seu diagnóstico correto aos 13 anos de idade, mas com sintomatologia de limitante distonia dos membros inferiores desde um ano de vida, evidenciando o subdiagnóstico de casos da DYT/PARK-*GCH1* AD na infância (Bianca S, 2006).

De um total de 55 familiares investigados por ocasião do diagnóstico familiar inicial, 19 (34,5%) apresentavam a mutação IVS5+3insT no *GCH1*. Destes, 15 (78,9%) eram mulheres, sendo nove delas sintomáticas (60,0%); dentre os quatro indivíduos do sexo masculino, havia apenas um sintomático (25%) (Souza CP et al., 2008). Infelizmente, nessa família, considerável parte dos indivíduos com sintomas motores já havia sido submetida à tenotomia nos membros inferiores por falta de diagnóstico correto.

Como alguns resultados do mestrado afim foram pareados com resultados das avaliações deste doutorado, registra-se a constituição dos grupos estudados. Assim, após convite aos indivíduos geneticamente testados que residiam em Minas Gerais, o grupo caso havia sido formado pela totalidade dos 17 pacientes disponíveis com confirmação genética de DYT/PARK-*GCH1* AD. Já o grupo controle foi constituído por 21 indivíduos não portadores da mutação que aceitaram participar dos principais testes efetivados (Alves Júnior AC, 2017).

Para a maioria dos estudos referentes à presente tese de doutorado, por disponibilidade dos participantes, o grupo caso foi formado pelos mesmos 17 pacientes anteriores confirmados geneticamente para DYT/PARK-*GCH1* AD, variando entre 16-23 indivíduos em algumas avaliações. Já o grupo controle para os estudos deste doutorado variou entre 12-21 integrantes. As particularidades quanto a constituição desses números amostrais estão expostas nos artigos e estudo elaborados.

No que se refere à gestão de casos, ou GVR, essa tecnologia foi ofertada no decorrer do doutorado a 23 familiares diagnosticados com DYT/PARK-*GCH1* AD, sendo 18 (78,26%) indivíduos com a confirmação genética para a variante, incluindo duas gestantes, e 5 (21,74%) familiares com diagnóstico clínico (estudo parental compatível mais DRD).

5.2 Revisão histórica da sintomatologia não motora na DYT/PARK-GCH1 AD

A pesquisa à plataforma de busca de livre acesso PubMed/NCBI incluiu artigos do período 2010-2022 e foi enriquecida com outros relevantes para a redação, os quais foram dispostos por meio de uma apresentação cronológica. O método está detalhadamente descrito no item **6.1 Artigo de revisão - “Sintomatologia não motora na doença de Segawa autossômica dominante: uma revisão histórica”**.

5.3 Avaliação laboratorial

Conforme descrito no item 6.3 (Artigo: “Altered amino acids and melatonin in individuals with autosomal dominant Segawa syndrome: impact of levodopa use and relation to non-motor symptoms”), efetivaram-se as seguintes dosagens séricas nos grupos pesquisados: principais AAs (incluindo fenilalanina, tirosina e triptofano, destaques para a temática deste projeto); relação fenilalanina/tirosina; serotonina e melatonina diurna/noturna.

Para a coleta das amostras de sangue, os participantes foram convidados a comparecer a um laboratório específico em jejum e atentos a não ingerirem nas últimas 24 horas algumas comidas que contêm quantidades substanciais de serotonina, como abacates, bananas, café, ameixas, tomates, nozes, assim como algumas medicações (ex: aspirina e nicotina).

A identificação quantitativa dos AAs séricos especificados, realizada em laboratório privado de referência, foi obtida em papel filtro por cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography* ou HPLC), método *in house*, pós conservação do plasma por EDTA (do inglês, *Ethylenediamine tetraacetic acid*). O tempo de jejum mínimo observado foi de 12 horas e volume mínimo recomendável de 0,2 ml. As amostras foram centrifugadas, separadas e congeladas a -25 °C imediatamente após a coleta, sendo analisadas dentro do prazo de conservação máxima de até 14 dias. Nenhuma amostra foi incluída entre os critérios de rejeição, a saber, amostra hemolisada, com fibrina, descongelada ou sérica. Os valores de referência dos AAs investigados foram expressos em nmol/ml e se apresentam no Quadro 4, conforme variação por faixa etária:

Quadro 4: Valores de referência dos aminoácidos séricos pesquisados para adolescentes e adultos, em nmol/ml

Aminoácidos	2 a 17 anos de idade	Adultos
ácido aspártico	1 a 24	1 a 25
Ácido glutâmico	5 a 150	10 a 131
Asparagina	23 a 112	35 a 74
Histidina	41 a 125	60 a 109
Serina	69 a 187	58 a 181
Glutamina	254 a 823	205 a 756
Arginina	10 a 140	15 a 128
Tirosina	24 a 115	34 a 112
Alanina	152 a 547	177 a 583
Triptofano	0 a 79	10 a 140
Metionina	7 a 47	10 a 42
Valina	74 a 321	119 a 336
Fenilalanina	26 a 91	35 a 85
Isoleucina	22 a 107	30 a 108
Leucina	49 a 216	72 a 201

Fonte: Laboratório de processamento privado.

A dosagem de serotonina se deu mediante coleta em soro sanguíneo, em jejum obrigatório de oito horas, com volume mínimo de 1,5 mL, cuja amostra foi conservada entre 0 e -10 °C por menos de 20 dias até a análise. A análise foi realizada pelo método de HPLC (método *in house*) também por laboratório privado de referência. Nenhuma amostra foi incluída entre os critérios de rejeição, a saber, hemólise ou amostra descongelada. Os resultados foram expressos em ng/ml, tendo valores de referência de 30 a 200 ng/ml.

Por limitações operacionais, o presente estudo possibilitou as dosagens plasmáticas de melatonina diurna (às 08:00h am) e noturna (entre 00:00h e 02:00h am) dos participantes despertos em ambiente laboratorial. Foi utilizada técnica de imunoensaio enzimático por ELISA competitivo para a determinação quantitativa de melatonina direta em soro e plasma humanos (Melatonin ELISA Kit MBS5389745, Fitzgerald Industries International, Massachusetts – United States of America), pós-conservação por EDTA e heparina, e observados os cuidados usuais para a punção venosa. Observou-se o cuidado de preservar a integridade química da amostra de sangue desde o momento da coleta até ao momento da análise. Foram evitadas amostras hemolíticas, ictéricas ou lipêmicas. Recomendou-se que amostras que apresentassem turvação fossem centrifugadas antes do teste para a remoção das partículas de matéria. Os cuidados de armazenamento e estabilidade recomendados pelo fabricante foram observados.

Os valores foram expressos em pg/ml, sem um valor de referência fornecido pelo kit utilizado e pelo laboratório processador da análise; entretanto, o kit utilizado detectava amostras entre 10-400 pg/ml.

5.4 Estimativa do influxo cerebral de aminoácidos

A fim de inferir sobre uma possível ocorrência de concentrações diferentes de AAs no sistema nervoso central dos grupos de indivíduos com e sem a variante genética, mediante as dosagens séricas dos AAs pesquisados e restrição de acesso a outras tecnologias, se propôs estabelecer uma relação entre os valores periféricos dos principais AAs de interesse para esse projeto e seus influxos cerebrais estimados. O método de estimativa utilizado está descrito no item 6.3 Artigo: “*Altered amino acids and melatonin in individuals with autosomal dominant Segawa syndrome: impact of levodopa use and relation to non-motor symptoms*”, no sub-item “*Patients and Methods*”.

5.5 Investigação de transtorno misto de ansiedade-depressão

Mediante os resultados obtidos na dissertação de mestrado de Alves Júnior (2017), se propôs a aplicação do Módulo Z do M.I.N.I. PLUS (BRAZILIAN VERSION 5.0.0.) para investigação do transtorno misto de ansiedade-depressão nos grupos estudados (ANEXO C).

5.6 Investigação da síndrome de pernas inquietas

A partir de presunções biológicas plausíveis descritas no item “3.4.1.1 Síndrome de pernas inquietas”, que apontam interfaces entre alguns aspectos clínico-fisiopatológicos das síndromes de pernas inquietas e de Segawa e do relato de ocorrência da SPI em indivíduos com a DRD acompanhados nesse projeto, com impacto potencial em qualidade de vida, estabeleceu-se um estudo comparativo de prevalência da SPI entre os grupos com e sem o diagnóstico da DYT/PARK-*GCH1* AD. Para a definição diagnóstica de SPI foram requeridos os critérios sugeridos pelo Grupo de Estudo Internacional da Síndrome de Pernas Inquietas, apresentados no Quadro 3 do item supracitado.

5.7 Acompanhamento dos indivíduos com DYT/PARK-*GCH1* AD: gestão de casos

As condições de saúde podem ser definidas como as circunstâncias na saúde das pessoas que se apresentam de forma mais ou menos persistentes e que exigem respostas sociais reativas ou proativas, episódicas ou contínuas e fragmentadas ou integradas, dos sistemas de atenção à saúde, dos profissionais de saúde e das pessoas usuárias (Mendes EV, 2019). A categoria condição de saúde é fundamental na atenção à saúde porque só se agrega valor para as pessoas nos sistemas de atenção à saúde quando se enfrenta uma condição de saúde por meio de um ciclo completo de atendimento (Porter ME, 2007). Se as condições agudas de saúde são comumente abordadas por sistemas reativos, medicocêntricos e usuários passivos (pouco interativos em sua condição), para a abordagem das condições crônicas de saúde tal desenho é sabidamente ineficaz.

Assim, **para o doutorado, mediante o entendimento da DYT/PARK-*GCH1* AD como condição crônica de saúde, se propôs um monitoramento do cuidado a esses indivíduos baseado na gestão de casos, aqui desenvolvida de forma contextualizada e**

nomeada como tecnologia “Gestão de Vidas Raras” (GVR). A gestão de casos (*case management*) é uma das tecnologias leves utilizadas por modelos de cuidados a indivíduos com condições crônicas de saúde, conforme conceituação a seguir:

Gestão de caso é o processo cooperativo que se desenvolve entre um profissional gestor de caso e uma pessoa portadora de uma condição de saúde muito complexa e sua rede de suporte para planejar, monitorar e avaliar opções de cuidados e de coordenação da atenção à saúde, de acordo com as necessidades da pessoa e com o objetivo de propiciar uma atenção de qualidade, humanizada e capaz de aumentar a capacidade funcional e de preservar autonomia individual e familiar (Powell SK, 2019).

A gestão de casos objetiva, dentre outros: advogar as necessidades e as expectativas das pessoas usuárias; prover o serviço certo à pessoa certa; aumentar a qualidade do cuidado; e diminuir a fragmentação da atenção à saúde (Mendes EV, 2019). Assim, o gestor de caso exercita a advocacia da pessoa portadora de uma condição crônica muito complexa, de sua família e de sua rede de suporte social, defendendo seus interesses; empoderando a pessoa para o seu autocuidado; facilitando a comunicação com os prestadores de serviços; e coordenando o cuidado em toda a rede de atenção à saúde (Mullaly CB, 1998).

O processo da gestão de casos envolve as seguintes etapas (Powell SK, 2019 e Alliota SL, 2001): a seleção do caso (na presente tese, os indivíduos com a condição crônica complexa DYT/PARK-*GCH1* AD, especialmente gestantes, idosos, crianças, indivíduos com maior complexidade e comorbidades, polifarmácia e baixa adesão); a identificação dos problemas (com foco em entrevista motivacional e avaliação da capacidade para o autocuidado) e a elaboração/implementação/monitoramento do plano de cuidado individualizado (com a participação do indivíduo e familiares, a definição de metas e intervenções para alcançar os objetivos, e o acompanhamento presencial ou virtual dos resultados).

Na presente tese, essa tecnologia foi realizada principalmente em formato *hands-on*, em que o gestor de caso, além das funções de coordenação, mobilização de recursos e monitoramento, executou, diretamente, alguns cuidados clínicos (Mullaly CB, 1998). Em virtude da distância geográfica entre o gestor de caso e os indivíduos acompanhados e de parte do acompanhamento das pessoas acometidas ter se dado no contexto pandêmico da Covid-19, com restrições sociais e econômicas, a telessaúde foi uma importante ferramenta. Intervenções presenciais e virtuais (via telefone, serviços de comunicação por vídeo e aplicativo multiplataforma de mensagens instantâneas/chamadas de voz para smartphones)

foram regularmente efetivadas, conforme plano de cuidado individualizado compatível com a complexidade de cada indivíduo. Ressalta-se que, por ocasião da avaliação inicial, foi ofertado cuidado presencial a todos os familiares beneficiados.

Sabe-se que a gestão de casos aumenta a satisfação das pessoas usuárias e de suas famílias; estimula a adesão aos cuidados prescritos nas diretrizes clínicas; reduz os efeitos adversos das intervenções médicas e melhora a comunicação entre os profissionais de saúde, as pessoas usuárias dos serviços e suas famílias. Evidências de boa qualidade mostram que essa tecnologia apresenta resultados sanitários e econômicos positivos (Vetter MJ et al, 2004; Boaden R et al., 2005 e Gensichen J et al., 2011).

A tecnologia GVR aplicada aos familiares com DYT/PARK-GCH1 se embasou na utilização de ferramentas sistematizadas e portanto replicáveis, sendo as principais descritas a seguir, consoantes às necessidades clínico-investigativas mais relevantes.

5.7.1 Inventário de Depressão de Beck

Esse inventário, criado por Aaron Beck e colaboradores em 1961, consiste em um questionário autoadministrado com itens de múltipla escolha, apresentados em escala de Likert. Atualmente, esse instrumento é um dos mais utilizados para detectar sintomas depressivos e medir a gravidade de episódios depressivos em todo o mundo em uma variedade de contextos clínicos e de pesquisa (Gomes-Oliveira MH et al, 2012). Essa ferramenta representou um marco ao considerar as cognições depressivas, ou seja, os próprios pensamentos dos pacientes, como as alterações psicopatológicas mais importantes para a mensuração do quadro clínico de depressão (Beck AT et al, 1982).

Esse inventário avalia com eficiência a depressão em indivíduos de 13 a 80 anos, a partir de sintomas que poderiam ter ocorrido nos últimos 15 dias. Existem três versões da escala: a atual, BDI-II (ANEXO D), aplicada neste estudo, foi reformulada por Beck e colaboradores para incluir os principais critérios clínicos para diagnosticar um episódio depressivo maior, de acordo com Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – 4ª edição da Associação Psiquiátrica Americana (1994). Ainda que desenhado como um instrumento de rastreio e não como ferramenta diagnóstica psiquiátrica (por não envolver avaliação clínica), esse inventário pode ser ocasionalmente utilizado por profissionais de saúde para se obter um rápido diagnóstico (Gorestein C et al, 2011).

O BDI-II reflete a abordagem bifatorial da depressão, considerando-a como tendo dois componentes: o afetivo (humor) e o físico ou "somático" (por exemplo, perda de apetite). Assim, o BDI-II pode ser dividido em duas sub-escalas, que podem contribuir para determinar a causa primária da depressão do indivíduo, e são moderadamente correlacionadas a 0,57, o que sugere que os aspectos físicos e psicológicos da depressão são relacionados ao invés de completamente distintos.

O BDI-II é pontuado mediante a soma das respostas para 21 itens. Cada item é avaliado segundo uma escala de zero a três pontos, sendo a pontuação máxima de 63.

Como esse instrumento foi utilizado por vezes com o objetivo de rastreamento, o limiar para o ponto de corte rebaixado foi selecionado, a fim de minimizar os falsos-negativos, ou seja, aumentar a sensibilidade do teste, conforme sugestão do próprio manual (Gorestein C et al, 2011). Assim, as categorias de intensidade de uma possível depressão foram relacionadas à pontuação total, conforme Quadro 5.

Quadro 5: Categorização da intensidade de possível depressão a partir da pontuação total obtida no Inventário de Depressão de Beck - II

Pontuação total	Intensidade de possível depressão
0-13	Sem depressão/mínima
14-19	Leve
20-28	Moderada
29-63	Grave

Fonte: Gorestein C et al, 2011 (adaptado).

5.7.2 Avaliação semiestruturada de anergia, abulia e apatia

Considerando as funções não motoras da dopamina (também abordadas no item 6.5.5 Discussão e conclusões, do estudo sobre a gestão de casos) e a DYT/PARK-*GCH1* AD como um distúrbio ocasionado e responsivo a esse neurotransmissor, um questionário semiestruturado para detecção de anergia, abulia e apatia foi elaborado e aplicado aos indivíduos monitorados regularmente, conforme definição dos termos apresentados no quadro a seguir:

Quadro 6: Definição de anergia, abulia e apatia

Estado	Definição
Anergia	“Se sente sem forças ou que perdeu as forças?”
Abulia	“Se sente sem vontade, sem iniciativa ou motivação?”
Apatia	“Se sente indiferente (insensível), sem emoção (sem sentimento), ou sem entusiasmo?”

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.7.3 Escala de Impulsividade de Barratt 11

Para a avaliação da impulsividade, a Escala de Impulsividade de Barratt 11 (BIS-11), por sua comprovada utilidade para a análise psiquiátrica em nível global e validação para o cotidiano brasileiro, foi aplicada aos indivíduos com o diagnóstico da DRD (Malloy-Diniz LF et al., 2010) (ANEXO E).

A BIS-11 é uma escala autoavaliativa composta por 30 itens, classificados de acordo com uma escala do tipo Likert de quatro pontos, que variam de um = raramente ou nunca até quatro = quase sempre/sempre. A escala classifica indivíduos com pontuação < 52 como muito controlados, entre 52-71 pontos com limites normais de impulsividade e ≥ 72 como altamente impulsivos (Malloy-Diniz LF et al., 2010). Além de um escore global, a BIS-11 permite o cálculo de escores parciais referentes a três subdomínios da impulsividade: a impulsividade motora (itens 2, 3, 4, 16, 17, 19, 21, 22, 23, 25 e 30), atencional (itens 6, 5, 9, 11, 20, 24, 26, 28) e por não planejamento (itens 1, 7, 8, 10, 12, 13, 14, 15, 18, 27, 29) (Malloy-Diniz LF et al., 2010).

5.7.4 Avaliação do impacto motor da DYT/PARK-GCH1 AD

De acordo com a impressão clínica, grau de deficiência e dependência nas atividades diárias, a proposta de Kim R (2016) de classificação do resultado motor do tratamento dos indivíduos com DYT/PARK-GCH1 AD anteriormente descrita foi utilizada, conforme quadro a seguir:

Quadro 7: Classificação do resultado motor do tratamento dos indivíduos com DYT/PARK-GCH1 AD

Classificação	Critério
Excelente	melhora notável após o tratamento adequado, que resulta em atividades habituais sem assistência
Bom-regular	melhora parcial ou moderada, que pode resultar em atividades habituais com alguma ajuda
Ruim	melhora muito pequena ou nenhuma, apesar do tratamento adequado, que resulta em incapacidade grave ou um estado acamado

Fonte: Kim R, 2016.

5.7.5 Escala de Graduação para a Síndrome de Pernas Inquietas do Grupo de Estudo Internacional da Síndrome de Pernas Inquietas

A escala internacional de classificação da gravidade da SPI do Grupo de Estudo Internacional da Síndrome de Pernas Inquietas, composta por dez questões autoaplicáveis, foi utilizada na ocorrência desse diagnóstico. Maiores detalhes dessa escala apresentada no ANEXO F podem ser obtidos no item 3.4.1.1 Síndrome de pernas inquietas.

5.8 Banco de dados e análises estatísticas

O banco de dados e análise estatística foram efetivados por meio do software R (The R Foundation, Vienna – Austria). Um nível de erro Tipo I $\alpha = 0,05$ foi considerado para todas as análises. Considerando o pequeno tamanho amostral, os testes não paramétricos de Wilcoxon e de Wilcoxon ajustado para o sexo e idade foram preferidos ao teste t de Student no caso de variáveis numéricas e o teste exato de Fisher foi aplicado aos dados categóricos, ao invés de χ^2 . Embora as amostras dos grupos Segawa e controle fossem consideravelmente pareadas por sexo e idade, essas covariáveis foram corrigidas por regressão linear, pois poderiam atuar como fatores de confusão na análise de algumas variáveis.

A correlação entre variáveis numéricas foi calculada baseada na correlação de Pearson para variáveis normalmente distribuídas e na correlação de Spearman quando pelo menos uma

das variáveis apresentava distribuição não Gaussiana. A análise de associação envolvendo pelo menos uma variável categórica foi realizada por meio do teste Phi. A gaussianidade foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilks.

As diferenças na correlação ou associação entre os grupos estudados ao comparar pares de variáveis foram investigadas, depois de avaliar se a correlação ou associação era significativa em cada grupo separado, por meio do teste t (transformado para escore z) e do teste Phi. Se uma variável era binária e outra numérica, a diferença na correlação e no *effect size* (e-size) foi analisada. Nesse caso, a correlação Spearman entre a variável numérica e a variável binária categórica convertida para numérica foi calculada para cada grupo, e a diferença entre elas foi testada usando teste t sobre os escores z transformados.

Para comparar os e-sizes, a diferença de Hedge foi utilizada, ajustada para viés de pequenas amostras. Se as amostras não eram todas normais, se utilizou o teste de *effect size* de Cliff.

Para a detecção de associação linear entre duas variáveis, o teste estatístico F (F-statistic) foi utilizado para com dois graus de liberdade (DF).

5.9 Aspectos éticos e gestão de riscos

O projeto desta presente tese foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (CAAE: 06803312.8.0000.5149) (ANEXO G) e realizado mediante assinatura dos devidos “Termos de Consentimento Livre e Esclarecido” pelos participantes, apresentados na dissertação de mestrado (Alves Júnior AC, 2017).

Os exames séricos propostos foram considerados relativamente não invasivos ao organismo e todos os outros exames objetivos citados não foram invasivos e não envolveram riscos significativos à saúde. Para a gestão dos riscos na coleta das amostras laboratoriais decidiu-se pela presença de um médico pesquisador, em ambiente de coleta adequado, e observação de todos os cuidados, como o uso de materiais descartáveis.

6 RESULTADOS

6.1 Artigo de revisão - “Sintomatologia não motora na doença de Segawa autossômica dominante: uma revisão histórica”

(Artigo submetido em 02/02/2023 sob o número 44351, conforme quesitos editoriais, à revista Scientia Medica, indexada ao Web of Science - ISI. Submissão disponível em URL: <https://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/scientiamedica/authorDashboard/submission/44351>)

SCIENTIA MEDICA

Seção: Artigo de Revisão Histórica

Sintomatologia não motora na doença de Segawa autossômica dominante: uma revisão
histórica

Non-motor symptomatology in autosomal dominant Segawa disease: a historical review

Nomes dos autores, ORCID, e-mails e afiliação:

Ailton Cezário Alves Júnior, 0000-0001-6645-613X ^a, cartonjunior@hotmail.com and
Eugenia Ribeiro Valadares, 0000-0001-8263-3300 ^a, eugeniavaladares@gmail.com

^a School of Medicine, Federal University of Minas Gerais, Graduate Program in Child and Adolescent Health, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

Fontes de financiamento e conflitos de interesse:

Este trabalho não foi apoiado por nenhuma fonte de financiamento. O conteúdo deste artigo não foi influenciado por patrocinadores. Os autores declaram que não apresentam conflitos de interesse relevantes para este trabalho.

Resumo

Introdução: A rara síndrome de distonia dopa-responsiva causada pela variante autossômica dominante no gene da guanosina trifosfato ciclohidrolase 1 foi descrita por Masaya Segawa há 50 anos. Possíveis sintomas não motores a ela associados ainda são alvo de controvérsia e registros limitados. Presunções biológicas pautadas no papel da dopamina e de outros neurotransmissores envolvidos, como a serotonina, permitiriam aventar a hipótese de que seus sintomas motores, como os distúrbios de postura e locomoção de aparecimento na infância ou adolescência com variação diurna, podem ser acompanhados de distúrbios depressivos e outros não motores. Assim, esses últimos poderiam constituir o fenótipo dessa síndrome e impactar a análise de sua penetrância e manejo clínico.

Objetivos: Esta revisão histórica sintetiza os principais artigos contributivos para a análise dessa hipótese.

Métodos: A presente revisão pesquisou artigos sobre essa sintomatologia não motora no período de 2010-2022 na plataforma de busca de livre acesso *PubMed/National Center for Biotechnology Information (NCBI)*, os quais foram enriquecidos com outros relevantes e dispostos por meio de uma apresentação cronologicamente ampliada.

Resultados: A busca na plataforma citada resultou em apenas cinco artigos principais. Que pesem possíveis vieses, como a frequente não consideração nos participantes da variável

tratamento farmacológico, nos artigos elencados, os sintomas depressivos foram alvo de maior destaque.

Conclusão: A necessidade de que novos estudos aprofundem a hipótese de que a penetrância incompleta dessa distonia seja maior do que a habitualmente descrita se estabelece, considerando os sintomas não motores especialmente depressivos e no contexto da reposição terapêutica de levodopa nos indivíduos acometidos por essa enfermidade.

Palavras-chave: Distúrbios Distônicos. Transtornos Mentais. Transtornos do Sono-Vigília.

Abstract

Introduction: The rare dopa-responsive dystonia syndrome caused by an autosomal dominant variant in the guanosine triphosphate cyclohydrolase 1 gene was described by Masaya Segawa 50 years ago. Possible non-motor symptoms associated with it are still the subject of controversy and limited records. Biological assumptions based on the role of dopamine and other neurotransmitters involved, such as serotonin, would allow the hypothesis that its motor symptoms, such as posture and locomotion disorders that appear in childhood or adolescence with diurnal variation, may be accompanied by depressive disorders and other non-motors. Thus, the latter could constitute the phenotype of this syndrome and impact the analysis of its penetrance and clinical management.

Objectives: This historical review summarizes the main contributory articles for the analysis of this hypothesis.

Methods: The present review searched for articles on this non-motor symptomatology in the period 2010-2022 in the open access search platform PubMed/National Center for Biotechnology Information (NCBI), which were enriched with other relevant ones and arranged through a presentation chronologically expanded.

Results: The search on the aforementioned platform resulted in only five main articles. Despite possible biases, such as the frequent non-consideration of the pharmacological treatment variable among the participants, in the listed articles, depressive symptoms were the target of greater prominence.

Conclusion: The need for further studies to deepen the hypothesis that the incomplete penetrance of this dystonia is greater than that usually described is established, considering non-motor symptoms, especially depressive ones, and in the context of therapeutic replacement of levodopa in individuals affected by this disease.

Keywords: Dystonic Disorders. Autosomal Dominant Familial Dystonia. Mental Disorders. Sleep Wake Disorders.

Introdução

Há meio século a síndrome de Segawa foi descrita como uma distonia progressiva hereditária com variação diurna.¹ Posteriormente renomeada por Nygaard (1988) como distonia responsiva à dopamina (DRD),² esta síndrome também tem sido identificada por distonia 5, ou, em sua herança genética mais comum, síndrome de Segawa autossômica dominante e, mais recentemente, síndrome de distonia dopa-responsiva causada pela variante

no gene da guanosina trifosfato ciclohidrolase 1 autossômica dominante (DYT/PARK-*GCH1* AD).³

Classicamente, a DYT/PARK-*GCH1* AD é caracterizada pelo aparecimento na infância ou adolescência de distúrbios de postura e locomoção motora com a citada variação diurna, ocorrência simultânea ou tardia de parkinsonismo e uma resposta excelente a baixas doses de levodopa (L-dopa).⁴ Na infância, as manifestações clínicas da DYT/PARK-*GCH1* AD comumente têm início com distonia nos membros inferiores, proporcionando, por vezes, o diagnóstico equivocado de paralisia cerebral atípica.⁵

Que pese a DYT/PARK-*GCH1* AD ainda ser subdiagnosticada, trata-se de uma doença rara.^{6,7} Também nomeada por doença de Segawa, essa DRD é causada por mutações heterozigóticas no gene da guanosina trifosfato ciclohidrolase 1, símbolo do gene aprovado por Hugo Gene Nomenclature Committee (HGNC) *GCH1*.⁸ O transcrito completo desse gene codifica a enzima guanosina trifosfato ciclohidrolase 1 (GTPCH 1), a qual é um cofator para tirosina hidroxilase e regula a síntese de tetrahydrobiopterina. A tetrahydrobiopterina é um cofator essencial para as hidroxilases que convertem os aminoácidos fenilalanina, triptofano, e tirosina em, respectivamente, tirosina, serotonina e L-dopa.

O diagnóstico de DYT/PARK-*GCH1* AD é estabelecido em um probando pela identificação de uma variante patogênica heterozigótica em *GCH1* em testes genéticos moleculares.⁹ Havendo a suspeição e sem variantes patogênicas *GCH1* identificáveis, testes bioquímicos podem ser necessários. Entretanto, especialmente em contextos com recursos escassos, o diagnóstico dos pacientes com sintomas motores comumente baseia-se na rápida melhora da distonia com uso de doses baixas de L-dopa.

A DYT/PARK-*GCH1* AD caracteriza-se na literatura por apresentar expressividade muito variável e uma baixa penetrância relacionada ao gênero: estima-se que mulheres sejam duas a quatro vezes mais afetadas do que os homens.

Entretanto, esta narrativa histórica da literatura científica demonstra que presunções biológicas e registros de diversos autores reforçam a hipótese de que possíveis sintomas não motores (SNM) efetivamente configurem o fenótipo da DYT/PARK-*GCH1* AD, o que poderia impactar a análise de sua penetrância e seu manejo clínico. Mediante os limitados estudos afins sobre a temática e a variabilidade de seus resultados, esta revisão objetiva trazer luz a essa discussão.

Métodos

Em setembro de 2022 foi realizada pesquisa à plataforma *PubMed/National Center for Biotechnology Information* (NCBI), a qual compreende a base *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*, utilizando-se os descritores ((*Segawa disease*[Title/Abstract]) OR (*Segawa syndrome*[Title/Abstract])) OR (*Dopa-responsive dystonia*[Title/Abstract]).

Considerando que o termo “*Dystonia Dopa-responsive*” foi introduzido nessa plataforma em 2010 e que uma importante produção bibliográfica sobre o tema foi observada no par de anos subsequente, o filtro de pesquisa dos últimos dez anos (2012-2022) revelou a supressão de um considerável número de artigos do início da década passada (muitos dos quais significativos, como um dos artigos seminais do próprio pesquisador Masaya Segawa). Assim, se optou para fins históricos por uma busca para o período ampliado 2010-2022.

Adicionalmente, para enriquecimento desta revisão e visando seu registro histórico, outros artigos relevantes sobre SNM em distonias e, especialmente em doença de Segawa, foram apresentados dentro de um marco cronológico ampliado.

Resultados da seleção

A busca com os descritores informados, referente à temática ampliada da doença de Segawa, identificou 583 artigos em toda a base, já apontando para limitada produção científica. Mediante o filtro de busca dos últimos 12 anos, 245 publicações foram encontradas, das quais 234 em língua inglesa ou espanhola e 229 com texto completo. Os demais filtros apresentados (tipologia de artigo e títulos/resumos relacionados à temática pesquisada) geraram um número de 109 artigos estudados em sua íntegra. Desses, preponderaram nessa ordem reportes de casos (com ênfase nas mutações genéticas mapeadas); revisões ou abordagens mais generalizadas sobre as DRD/distonias/distúrbios do movimento, e estudos sobre genótipo/fenótipo/fisiopatologia das DRD e distonias (com enfoque em sintomas motores). Em menor escala, apresentaram-se artigos sobre manejo clínico das DRD/distonias/distonia 5. De momento, apenas cinco artigos (4,59%) se referiam à abordagem da SNM da distonia 5/outras distonias (com uma revisão): Antelmi et al. (2015), Baskaran (2018), Tadic et al. (2012), Wang (2018) e Hertenstein et al. (2016).¹⁰⁻¹⁴ Para a classificação desses artigos nas tipificações citadas se registra que, ainda que um artigo pudesse ser selecionado para mais de um grupo, esta obedeceu à análise convencional da subtemática de maior interesse, sendo, cada artigo classificado apenas uma vez.

Os demais artigos adicionados contribuíram mediante uma breve análise geral dos SNM em distonias e, em seguida, uma análise cronológica desses sintomas ampliada a este século especificamente na DYT/PARK-*GCH1* AD.

Conteúdo da revisão

Sintomatologia não motora em distonias

O estudo de SNM em distonias nos últimos anos é pautado por presunções biologicamente plausíveis e resultados controversos.

Lee e Jeon (2014) apontaram que a própria definição de DRD historicamente elaborada abordava apenas as características motoras da doença (parkinsonismo e distonia).¹⁵ Entretanto, esses autores já se atentavam para relatos de fenótipos extranigrais atípicos em DRD, embora justificassem essas observações como coincidências, não causais e atribuíveis a vieses metodológicos.¹⁵

No ano seguinte, revisão de Antelmi (2015) apontou que os SNM estavam sendo cada vez mais reconhecidos como uma característica importante de diferentes distúrbios do movimento, como a doença de Parkinson ou a distonia primária.^{10,16,17}

Peall KJ et al. (2015) por meio de importante busca sistemática avançaram ao concluir que os SNM formavam um componente integral do fenótipo de distonia, tradicionalmente considerada um distúrbio hipercinético do movimento puro.¹⁸ Dentre os 95 artigos por eles identificados, os sintomas psiquiátricos foram os mais comumente

pesquisados, sendo a ansiedade, a depressão e o transtorno obsessivo-compulsivo os mais frequentes. A deficiência cognitiva envolveu déficits globais ou dificuldades isoladas em domínios específicos. Segundo esses autores, os distúrbios do sono foram mais comuns nas DRDs.¹⁸

No mesmo sentido, a revisão sistemática de Hertenstein et al. (2016) com 18 estudos sobre o sono em 708 pacientes com distonia primária (distonia focal, distonia de torção e DRD) apontou que o distúrbio do sono estava associado a sintomas depressivos e a frequência e duração dos movimentos distônicos marcadamente reduzidas durante esse período.¹⁴

Uma percepção mais contraditória foi compartilhada em ampla abordagem mais recente, na revisão de Weissbach et al. (2022).¹⁹ Esses autores constataram que nos casos de DRD analisados os sintomas psiquiátricos como depressão, ansiedade, distúrbios do sono e anormalidades comportamentais foram raramente relatados. Isso lhes pareceu intrigante à medida que a tetrahidrobiopterina é um cofator para a enzima triptofano hidroxilase, que catalisa a síntese de serotonina, cujos níveis diminuídos foram associados à comorbidades psiquiátricas, como depressão.²⁰ Weissbach e colaboradores ressaltaram a possibilidade de falta de diagnóstico dessas comorbidades psiquiátricas e consequente tratamento medicamentoso adequado.¹⁹

Sintomatologia não motora na síndrome de Segawa autossômica dominante

Na primeira década dos anos 2.000

O novo século foi um marco na publicação de estudos que indicaram a associação relevante e/ou subestimada entre manifestações psiquiátricas e de distúrbios do sono e alterações dos neurotransmissores envolvidos.

Em família única afetada por uma mutação no *GCH1*, o pioneirismo de Hahn et al. (2001) detalhou uma alta prevalência de depressão (quatro de 11 familiares com a mutação) e ansiedade (seis de 11).²¹ Dentre esses 11, apenas dois membros eram assintomáticos; os nove restantes apresentavam uma gama de fenótipos clínicos, incluindo distonia, torcicolo, reflexos tendinosos profundos e rápidos e parkinsonismo responsivo à L-dopa. Uma surdez clínica foi encontrada em metade dos afetados. O pai do probando tinha uma longa história de ansiedade e depressão e a família tinha vários membros com sintomas psiquiátricos, incluindo depressão, ansiedade, traços obsessivo-compulsivos e transtornos alimentares.²¹ Com base na análise do líquido cefalorraquidiano, Hahn et al. (2001) sugeriram que a mutação pudesse produzir um defeito na biossíntese de dopamina, serotonina e norepinefrina cerebral, contribuindo para manifestações psiquiátricas, e concluíram que a gama de características neuropsiquiátricas poderia estar relacionada à mutação no *GCH1*, devendo ser incluída em seus critérios diagnósticos.²¹

Cinco anos mais tarde, Van Hove et al. (2006) encontraram prevalências mais elevadas de transtorno depressivo maior, particularmente recorrente, e de transtorno obsessivo compulsivo em três famílias com deficiência de GTPCH 1 do que na população em geral.⁵ Os transtornos do sono pareceram ocorrer com maior frequência, acometendo um pouco mais da metade desses pacientes, incluindo dificuldade do início e manutenção do sono, sonolência excessiva e pesadelos frequentes.⁵ Adicionalmente, esses autores observaram que pacientes com DRD e sintomas psiquiátricos poderiam cursar com uma síndrome motora grave, mas comumente atípica e de início tardio. Entretanto, esses pacientes responderam bem à medicação serotoninérgica e à reposição de L-dopa.⁵

Dois anos mais tarde, Souza et al. (2008) avaliaram uma família com diagnóstico de doença de Segawa por mutação IVS5+3insT no *GCH1*.²² Dados preliminares da avaliação de seis pacientes apoiaram a suspeição de mais elevadas taxas de prevalência de ansiedade, distímia, depressão e transtornos do sono nesse grupo do que as esperadas na população em geral.²²

Em estudo de longo prazo com 34 pacientes com a distonia 5, Trender-Gerhard et al. (2009) também revelaram uma elevada frequência de episódios recorrentes de distúrbio depressivo, seja mudanças de humor não-reativas (35,29%) ou depressão maior (17,65%).²³ Por outro lado, crises de pânico e transtorno obsessivo-compulsivo estavam presentes cada qual em apenas um (2,94%) dos 34 indivíduos, respectivamente.²³

Da segunda década dos anos 2000 aos anos atuais

A partir dos achados da década anterior, López-Laso et al. (2011) valorizaram a publicação de um fenótipo clínico expandido dessa DRD,²⁴ o qual já registrava manifestações psiquiátricas como depressão, ansiedade, transtorno obsessivo-compulsivo, alterações graves de humor e distúrbios do sono.^{5,21,23,25} Quatorze indivíduos com DRD autossômica dominante (sete adultos e sete menores de duas diferentes famílias) foram submetidos a uma avaliação clínica estruturada com entrevistas baseadas no Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – 4ª edição e aplicação de instrumentos subjetivos, como o Inventário de Depressão de Beck e o Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh.²⁴ Esses autores encontraram prevalências de depressão, ansiedade e sintomas obsessivo-compulsivos similares às da população geral. Por sua vez, todos os adultos apresentaram impulsividade em escala específica, mesmo apresentando média de idade bastante jovial. Como nove indivíduos

tiveram um quociente intelectual entre limítrofe e deficiência mental leve (distúrbios do sono foram encontrados em quatro indivíduos, especialmente insuficiência do sono em adultos e sonambulismo), sugeriu-se que comprometimento cognitivo e impulsividade em adultos pudessem estar associados à doença de Segawa.²⁴

A partir de então, estudos com números amostrais e desenhos mais robustos começaram a ser publicados. Tadic et al. (2012), em amplo trabalho de revisão com pouco mais de uma centena de artigos e 352 pacientes sintomáticos com DRD e mutações heterozigóticas no *GCH1*, além de uma coorte piloto de 23 pacientes ambulatoriais, destacaram que mesmo com idades médias de início dos sintomas de 11,6 anos na literatura e 9,4 anos no estudo piloto e longos atrasos médios no diagnóstico, dentre 70 pacientes cuja informação sobre SNM foi obtida na literatura, 34% apresentaram depressão, 19% ansiedade e 9% transtorno obsessivo-compulsivo.¹² Tais percentuais foram considerados elevados se comparados à população em geral e mesmo a pacientes com doença de Parkinson.^{26,27} Na coorte piloto, seis casos (32%) relataram um ou mais SNM, incluindo depressão e enxaqueca; todos os pacientes desse estudo piloto foram tratados com medicação dopaminérgica e relataram SNM durante o tratamento.¹²

Nesse ínterim, vieses dos limitados estudos anteriores sobre SNM nessa DRD foram apontados. Lee e Jeon (2014) questionaram taxas significativamente mais elevadas de depressão maior em grupos de indivíduos de alguns estudos em função de possíveis fatores genéticos intrafamiliares independentes da deficiência de GTPCH 1.¹⁵

Assim, Brüggemann (2014), um dos coautores do grupo de Tadic, liderou um estudo agora com grupo caso (23 pacientes com DRD) e grupo controle (26 indivíduos saudáveis), o qual não confirmou as impressões clínicas e presunções biologicamente plausíveis de uma frequência aumentada de SNM na DRD.²⁸ Nesse estudo, depressão, ansiedade e a qualidade

média do sono, assim como outros indicadores relacionados a esse, foram semelhantes entre os grupos.²⁸ Dentre os seis pacientes submetidos à polissonografia, quatro apresentaram aumento nos despertares espontâneos. Segundo os autores, uma queda na qualidade de vida esteve associada apenas ao declínio da condição física dos indivíduos investigados. Similarmente, a insuficiência do sono e sintomas depressivos, mas não ansiosos, foram associados à menor qualidade de vida.²⁸ **Todavia, se destaca que, como em estudos anteriores, esses pacientes estavam em terapia estável com L-dopa.**

Os vieses e percepções contraditórias fomentaram o mais importante estudo de revisão sobre SNM em DRD deficiente em GTPCH 1, realizado por Antelmi et al (2015), a partir de 12 artigos disponíveis no MEDLINE (com comprovada mutação em *GCH1*) entre 1971 a 2015.¹⁰ Desses, dez (83,33%) eram relato ou série de caso(s), com número amostral máximo de 34 indivíduos; os dois outros eram os já citados estudos de Tadik et al., 2012 e Bruggemann et al., 2014,^{12,28} os quais compartilhavam os mesmos 23 casos dessa DRD.¹⁰ A metodologia básica desses 12 artigos fundamentou-se na anamnese e realização de questionários e/ou entrevistas estruturadas afins.

Para Antelmi et al. (2015), mediante as múltiplas funções da tetrahydrobiopterina, também foi razoável presumir que na DRD por deficiência de GTPCH 1 autossômica dominante outros sistemas, além do motor, estariam prejudicados.¹⁰ Igualmente para esses autores, se registrou a percepção de que até o momento os SNM têm sido negligenciados e muito poucos e contrastantes dados estão atualmente disponíveis sobre o assunto.¹⁰

Antelmi e colaboradores encontraram relatos de depressão, comprometimento sutil da qualidade do sono entre diferentes coortes e debates sobre a ocorrência de distúrbios do movimento relacionados ao sono e alteração da função cognitiva, classicamente considerada normal.¹⁰

No que se refere ao sono em DRD, Antelmi e colaboradores (2015) julgaram os dados como insuficientes,¹⁰ incluindo os resultados do par de estudos de polissonografia em pacientes com DRD geneticamente comprovados.^{5,28} Sobre possível disfunção cognitiva leve, esses autores também concluíram sobre a existência de alguns poucos estudos não claramente conclusivos.¹⁰

Entretanto, dentre os distúrbios neuropsiquiátricos que podem fazer parte do espectro dos SNM na DRD, para esses autores a depressão pareceu ser particularmente frequente.¹⁰ **No que se refere especialmente aos sintomas depressivos, esses autores apontaram que estudos prospectivos considerando a gravidade do perfil bioquímico e fenótipos associados eram necessários e que se deveria esclarecer se a L-dopa poderia ser útil como primeira abordagem.**¹⁰

Adicionalmente, houve poucos dados sobre uma possível associação de DRD com impulsividade, ambas apoiadas por anormalidades bioquímicas.^{24,29-32}

Assim como Lee (2014), Antelmi et al. (2015) destacaram vieses em muitos dos estudos de investigação de sintomas psiquiátricos em indivíduos com DRD.^{15,10} Nem todos os pacientes com DRD apresentam sintomas psiquiátricos e estudos em outras populações indicam que um fator de vulnerabilidade específico pode contribuir para a expressão de sintomas psiquiátricos em combinação com a depleção de serotonina.³³ Isso posto, se presumiria que outros fatores desencadeantes pudessem ser necessários para a depressão em pacientes com DRD. Por outro lado, Antelmi et al. (2015) observaram que os SNM eram frequentemente reportados como parte do espectro clínico de outros distúrbios de neurotransmissores, ao mimetizar doenças categorizadas como DRD-plus,¹⁰ o que provavelmente estaria relacionado ao comprometimento mais grave dos neurônios serotoninérgicos.¹⁵

Antelmi e colaboradores (2015) concluíram sua revisão sugerindo que estudos em coortes maiores e em pacientes virgens de tratamento eram necessários para elucidar a extensão e tratamento dos SNM em DRDs.¹⁰

Posteriormente à Antelmi e colaboradores, Timmers et al (2017), introduziram seu artigo destacando que nos pacientes com DRD a ocorrência de SNM era esperada.³⁴ Esse grupo encontrou uma maior prevalência ao longo da vida de distúrbios psiquiátricos (61% vs. 29%, $p < 0.05$) e sonolência diurna em uma coorte de adultos holandeses acometidos pela DRD deficiente em GTPCH 1, mas não em crianças, utilizando controles pareados.³⁴ Em particular, as frequências de ansiedade generalizada e agorafobia eram maiores nos pacientes com DRD (ambas 29% vs. 4%, $p < 0.05$). Esses também pontuaram significativamente mais alto na Escala de Sonolência Diurna de Epworth do que os controles (11.2 vs 5.7, $p < 0.05$). Por fim, os pacientes adultos tiveram pontuações significativamente menores no componente mental do Questionário de Qualidade de Vida relacionada à Saúde do que os seus controles (47 vs. 54, $p < 0.05$), principalmente associadas a uma pior qualidade de sono.³⁴ Apesar do bom controle da distonia, os 28 pacientes (18 adultos e dez crianças de dez famílias) apresentaram elevadas prevalências de SNM, sugerindo possível envolvimento de mecanismos serotoninérgicos.³⁴

Em 2018, Baskaran relatou o caso de uma menina com DRD que, mesmo com a melhora dos seus sintomas motores, permaneceu com dificuldades neuropsicológicas.¹¹ Desde bebê, essa menina apresentou dificuldades para a amamentação, distonia e atraso de desenvolvimento. Pós-diagnóstico bioquímico da DRD no líquido, aos 21 meses a lactente iniciou L-dopa com uma resposta motora excelente. Aos sete anos de idade, a criança apresentava dificuldade de atenção importante e variável, e comportamento explosivo. A velocidade psicomotora estava lentificada e a memória de trabalho, a atenção seletiva visual e os aspectos executivos da atenção estavam prejudicados.¹¹ Como destaque, se registrou a

incapacidade de se certificar de que essas alterações não motoras estivessem de fato relacionadas à DRD, além da importância de uma avaliação neuropsicológica para o manejo desses casos.

No mesmo ano, Wang (2018) relatou o manejo exitoso de um jovem de 20 anos de idade com psicose e diagnóstico de provável DRD estabelecido aos 11 anos de idade pelo quadro clínico e teste terapêutico positivo com L-dopa, após mais de dois anos de progressivo distúrbio de marcha.¹³ Aos 15 anos de idade, o paciente foi acometido por um distúrbio esquizoafetivo do tipo bipolar, acompanhado por várias hospitalizações, história de tentativas de autoextermínio, overdose de medicamentos e trauma. Após obtenção de controle com uma pequena titulação de risperidona, o autor afirma não poder excluir a possibilidade dos sintomas psicóticos serem secundários à DRD, embora também considere a pequena possibilidade de uma psicose induzida por L-dopa descrita em pacientes com doença de Parkinson, uma vez que a medicação foi descontinuada e o paciente permaneceu com os sintomas psiquiátricos relatados.^{13,35,36,37} Wang (2018) finalizou destacando a necessidade de mais pesquisas sobre SNM na DRD,¹³ o que também foi evidenciado por Furukawa (2019) ao concluir que os relatos da frequência de SNM em indivíduos com DRD deficiente em GTPCH 1 permanecem conflitantes.⁹

Discussão

Dentre os distúrbios pediátricos, a DYT/PARK-*GCH1* AD pode ser classificada como hereditária e atribuível a alterações da síntese de neurotransmissores (Pearl PL, 2004).³⁸ Embora o papel do metabolismo alterado da dopamina na disfunção motora desta DRD seja conhecido e reversível, as consequências das deficiências de síntese desse e de outros

neurotransmissores envolvidos na patogênese de possíveis SNM nessa DRD, como serotonina e noradrenalina, ainda recebem atenção limitada.

Que pesem estudos como o de López-Laso et al. (2011) e Brüggemann et al. (2014) não terem confirmado a hipótese de uma frequência aumentada de SNM nessa DRD,^{24,28} nesses e nos demais estudos a maior parte ou todos os participantes utilizavam L-dopa, o que deve ser considerado como um importante viés na análise dos seus resultados.

Para Antelmi et al. (2015) a suposição de que sistemas não motores nessa DRD estariam prejudicados é razoável.¹⁰ Também para Tadic et al. (2012) e Timmers et al. (2017),^{12,34} os SNM podem estar sendo negligenciados e/ou muito poucos dados contrastantes estão disponíveis sobre o assunto.^{5,9,21}

A partir de estudos de uma família numerosa, a penetrância da DYT/PARK-*GCH1* AD inicialmente publicada era em torno de 30%, considerando apenas os sintomas motores de maior expressão. Se abordados também os sintomas de menor expressão, como a distonia periférica, conforme estudos clínicos e moleculares em cinco famílias com DRD não relacionadas entre si, essa penetrância era de 42% a 62%.^{1,39,40}

Baseado na análise sistemática de Weissbach et al. (2022), dentre os portadores de mutação relacionada à DYT/PARK-*GCH1* AD, os indivíduos assintomáticos totalizaram aproximadamente 25% (151 de 639), resultando em uma penetrância de 75%.¹⁹ Esses autores registraram especialmente sintomas motores nessa análise, mas consideraram alguns poucos achados de SNM, tais como atraso de desenvolvimento global, distúrbios do sono e comprometimento cognitivo.¹⁹ Para esse grupo, essa penetrância também estaria dentro da ampla gama de valores relatados anteriormente por outros autores (estimados em 38% a 85%), por meio de estudos em uma ou poucas famílias.^{41,42} Entretanto, Weissbach et al. (2022) justificaram que devido ao viés para identificar e reportar os casos sintomáticos

portadores da variante genética, a penetrância dessa população não poderia ser diretamente calculada a partir desses números, sendo provavelmente mais baixa.¹⁹

De forma sintética, dentre os SNM na DRD, os depressivos parecem continuar a merecer particular destaque.¹⁰ Conforme Antelmi et al (2015)¹⁰ e presunções biológicas afins, mediante a análise de que os estudos publicados foram retrospectivos (e, maiormente, relatos ou série de casos) e realizados em participantes em uso de L-dopa, esta revisão histórica também compartilha o enfoque de que novos estudos prospectivos deveriam esclarecer a atuação da reposição de L-dopa na primeira abordagem a esses sintomas depressivos.

Conclusões

Mediante os limitados estudos afins e a variabilidade de seus resultados, os achados desta revisão histórica apontam para a necessidade de que novos estudos aprofundem a hipótese de que a penetrância incompleta da DYT/PARK-*GCH1* AD seja maior do que a habitualmente descrita, especialmente em função de SNM, como os depressivos. Esses estudos devem considerar o contexto da reposição terapêutica de L-dopa nos indivíduos acometidos por essa DRD.

Informação de contato do autor correspondente: Ailton Cezário Alves Júnior. Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil. Av. Alfredo Balena 190, Belo Horizonte, 30130100, Minas Gerais, Brasil. Phone: 55-31-986750180. E-mail: cartonjunior@hotmail.com

Minicurrículo: formação acadêmica e profissional

Ailton Cezário Alves Júnior. Graduado em Medicina pela Universidade Federal de Minas Gerais. Mestre em Ciências da Saúde / Saúde da Criança e do Adolescente pela Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais.

Eugênia Ribeiro Valadares. Graduada em Medicina pela Universidade Federal de Minas Gerais. Doutorado em Medicina pela Johannes Gutenberg Universitat Mainz (Alemanha), revalidado como doutorado em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Pós-doutorados na Universidade de Viena (Austria) e na Universidade de Freiburg (Alemanha).

Referências

1. Segawa M, Ohmi K, Itoh S, Aoyama M, Hayakawa H. Childhood basal ganglia disease with marked response to L-Dopa: hereditary progressive basal ganglia disease with marked diurnal fluctuation. *Shinryo*. 1972;24:667-72.
2. Nygaard TG, Marsden CD, Duvoisin RC. Dopa responsive dystonia. *Adv Neurol*. 1988;50:377–84.
3. Marras C, Lang A, van de Warrenburg BP, Sue CM, Tabrizi SJ, Bertram L et al. Nomenclature of genetic movement disorders: recommendations of the international Parkinson and movement disorder society task force. *Mov Disord* 2016; 31(4): 436–457.

4. Segawa M. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. *Brain Dev.* 2000;22(1):S65-80.
5. Van Hove JL, Steyaert J, Matthijs G, Legius E, Theys P, Wevers R et al. Expanded motor and psychiatric phenotype in autosomal dominant Segawa syndrome due to GTP cyclohydrolase deficiency. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2006;77(1):18-23.
6. Hagenah J, Saunders-Pullman R, Hedrich k, Kabacki K, Habermann K, Wiegers K et al. High mutation rate in dopa-responsive dystonia: detection with comprehensive GCHI screening. *Neurology.* 2005;64:908-11.
7. Orphanet: The portal for rare diseases and orphan drugs. INSERM. (2022). Dopa-responsive dystonia [publicação online]. Disponível em [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=484&Disease_Disease_Search_diseaseType=ORPHA&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=255&Krankheite\(n\)/Krankheitsgruppe=DYT5&title=DYT5&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=484&Disease_Disease_Search_diseaseType=ORPHA&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=255&Krankheite(n)/Krankheitsgruppe=DYT5&title=DYT5&search=Disease_Search_Simple). Acesso em 10 jan 2022.
8. HGNC – Hugo Gene Nomenclature Committee. (2022). Symbol report for GCH1. [publicação online]. Disponível em https://www.genenames.org/data/gene-symbol-report/#!/hgnc_id/4193. Acesso em 05 jan 2022.
9. Furukawa Y. GTP cyclohydrolase 1-deficient dopa-responsive dystonia. 2002 Feb 21 [updated 2019 Jan 24]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2020.
10. Antelmi E, Stamelou M, Liguori R, Bhatia KP. Nonmotor symptoms in dopa-responsive dystonia. *Mov Disord Clin Pract.* 2015 Jul 22;2(4):347-56. doi: 10.1002/mdc3.12211.

11. Baskaran D, Khan A, Hussain N. Neuropsychological difficulties associated with dopa responsive dystonia. *J Pediatr Neurosci*. 2018 Jan-Mar;13(1):100-2.
12. Tadic V, Kasten M, Brüggemann N, Stiller S, Hagenah J, Klein C. Dopa-responsive dystonia revisited: diagnostic delay, residual signs, and nonmotor signs. *Arch Neurol*. 2012 Dec;69(12):1558-62.
13. Wang M, Sison JI. Management of psychosis in a patient with probable dopa-responsive dystonia. *Case Rep Psychiatry*. 2018 Jun 14;2018:8040491.
14. Hertenstein E, Tang NK, Bernstein CJ, Nissen C, Underwood MR, Sandhu HK. Sleep in patients with primary dystonia: A systematic review on the state of research and perspectives. *Sleep Med Rev*. 2016 Apr;26:95-107. doi: 10.1016/j.smrv.2015.04.004. Epub 2015 May 9.
15. Lee WW, Jeon BS. Clinical spectrum of dopa-responsive dystonia and related disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2014;14:461-74.
16. Chaudhuri KR, Odin P, Antonini A, Martinez-Martin P. Parkinson's disease: the non-motor issues. *Parkinsonism Relat Disord*. 2011;17:717–23.
17. Stamelou M, Edwards MJ, Hallett M, Bhatia KP. The non-motor syndrome of primary dystonia: clinical and pathophysiological implications. *Brain*. 2012;135:1668–81.
18. Peall KJ, Kuiper A, de Koning TJ, Tijssen MA. Non-motor symptoms in genetically defined dystonia: homogenous groups require systematic assessment. *Parkinsonism Relat Disord*. 2015 Sep;21(9):1031-40.
19. Weissbach A, Pauly MG, Herzog R, Hahn L, Halmans S, Hamami F et al. Relationship of genotype, phenotype, and treatment in dopa-responsive dystonia: MDSGene Review. *Mov Disord*. 2022 Feb;37(2):237-52.

20. Jacobsen JP, Siesser WB, Sachs BD, Peterson S, Cools MJ, Setola V et al. Deficient serotonin neurotransmission and depression-like serotonin biomarker alterations in tryptophan hydroxylase 2 (Tph2) loss-of-function mice. *Mol Psychiatry*. 2012;17(7):694–704.
21. Hahn H, Trant MR, Brownstein MJ, Harper RA, Milstien S, Butler IJ. Neurologic and psychiatric manifestations in a family with a mutation in exon 2 of the guanosine triphosphate-cyclohydrolase gene. *Arch Neurol*. 2001;58(5):749–55.
22. Souza CP, Valadares ER, Trindade ALC, Rocha VL, Oliveira LR, Godard ALB. Mutation in intron5 of GTP cyclohydrolase 1 gene causes dopa-responsive dystonia (Segawa syndrome) in a Brazilian family. *Genet Mol Res*. 2008;7(3):687-94.
23. Trender-Gerhard I, Sweeney MG, Schwingenschuh P, Mir P, Edwards MJ, Gerhard A et al. Autosomal-dominant GTPCH1-deficient DRD: clinical characteristics and long-term outcome of 34 patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009;80:839-45.
24. López-Laso E, Sánchez-Raya A, Moriana JA, Martínez-Gual E, Camino-León R, Mateos-González ME et al. Neuropsychiatric symptoms and intelligence quotient in autosomal dominant Segawa disease. *J Neurol*. 2011;258(12):2155-62. Epub 2011 May 10.
25. Venna N, Sims KB, Grant PE. Case records of the Massachusetts General Hospital. Case 26–2006. A 19-year-old woman with difficulty walking. *N Engl J Med*. 2006;355:831–9.
26. Leentjens AF, Dujardin K, Marsh L, Richard IH, Starkstein SE, Martinez-Martin P. Anxiety rating scales in Parkinson's disease: a validation study of the Hamilton anxiety rating scale, the Beck anxiety inventory, and the hospital anxiety and depression scale. *Mov Disord*. 2011;26(3):407-15.
27. Reijnders JS, . A systematic review of prevalence studies of depression in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2008;23(2):183-9, quiz 313.

28. Brüggemann N, Stiller S, Tadic V, Kasten M, Münchau A, Graf J et al. Non-motor phenotype of dopa-responsive dystonia and quality of life assessment. *Parkinsonism Relat Disord.* 2014;20(4):428-31. doi: 10.1016/j.parkreldis.2013.12.014. Epub 2014 Jan 9.
29. Duman R. The neurochemistry of mood disorders: preclinical studies. In: Charney D, Nestler E, Bunney B, eds. *Neurobiology of Mental Illness*. New York: Oxford University Press; 1999:333–47.
30. Brunello N, Mendlewicz J, Kasper S, Leonard B, Montgomery S, Nelson J et al. The role of noradrenaline and selective noradrenaline reuptake inhibition in depression. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2002;12:461–75.
31. Pattij T, Vanderschuren LJ. The neuropharmacology of impulsive behaviour. *Trends Pharmacol Sci.* 2008;29:192–9.
32. Segawa M, Nomura Y, Nishiyama N. Autosomal dominant guanosine triphosphate cyclohydrolase I deficiency (Segawa disease). *Ann Neurol.* 2003;54:S32-S45.
33. Smith KA, Fairburn GG, Cowen PJ. Relapse of depression after rapid depletion of tryptophan. *Lancet.* 1997;349:915–9.
34. Timmers ER, Kuiper A, Smit M, Bartels AL, Kamphuis DJ, Wolf NI et al. Non-motor symptoms and quality of life in dopa-responsive dystonia patients. *Parkinsonism Relat Disord.* 2017 Dec;45:57-62. doi: 10.1016/j.parkreldis.2017.10.005. Epub 2017 Oct 10.
35. Beaulieu-Boire I, Lang AE. Behavioral effects of levodopa. *Mov Disord.* 2015 Jan;30(1):90-102. doi: 10.1002/mds.26121. Epub 2014 Dec 9.

36. Maier F, Merkl J, Ellereit AL, Lewis CJ, Eggers C, Pedrosa DJ et al. Hypomania and mania related to dopamine replacement therapy in Parkinson's Disease. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2014; 20(4):421–7.
37. Kehagia AA. Neuropsychiatric symptoms in Parkinson's disease: Beyond complications. *Frontiers in Psychiatry*. 2016. vol. 7.
38. Pearl PL, Wallis DD, Gibson KM. Pediatric neurotransmitter diseases. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2004 Mar;4(2):147-52.
39. Jan MM. Misdiagnoses in children with dopa-responsive dystonia. *Pediatr Neurol*. 2004;31(4):298-303.
40. Nishiyama N, Yukishita S, Hagiwara H, Kakimoto S, Nomura Y, Segawa M. Gene mutation in hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation (HPD), strictly defined dopa-responsive dystonia. *Brain Dev*. 2000;22:S102-6.
41. Ichinose H, Ohye T, Takahashi E, Seki N, Hori T, Segawa M et al. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation caused by mutations in the GTP cyclohydrolase I gene. *Nat Genet*. 1994;8:236–42.
42. Nygaard TG, Trugman JM, de Yebenes JG, Fahn S. Dopa-responsive dystonia: the spectrum of clinical manifestations in a large North American family. *Neurology*. 1990 Jan;40(1):66-9. doi: 10.1212/wnl.40.1.66.

6.2 Artigo: “Neuropsychiatric and sleep study in autosomal dominant dopa-responsive dystonia”*

(Artigo original publicado em 18/04/2022, conforme quesitos editoriais, na revista *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, indexada ao Web of Science - ISI, PubMed/Medline e outros. Disponível em URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35782624/>)

(*) Registra-se que este artigo é apenas parcialmente resultado do mestrado do mesmo autor. As análises secundárias das variáveis medicamentosas e clínicas determinantes para definir a penetrância incompleta da *DYT/PARK-GCH1* AD em 88,20% na família estudada (como o uso de L-dopa e antidepressivos), assim como a análise de possíveis associações entre essas variáveis citadas, somente foram programadas para o doutorado. Tais análises estão parcialmente expressas neste artigo em itens como *Results 3.7 Medication use and relationship with studied symptoms* e *Table 5 Contingency of participants and p-value, by categorical variables of Major Depressive Episodes and some experiment groups, according MINI/MINI PLUS and medication use*.



Contents lists available at ScienceDirect

Molecular Genetics and Metabolism Reports

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ymgmr

Neuropsychiatric and sleep study in autosomal dominant dopa-responsive dystonia

Ailton C. Alves Júnior^a, Maurício V. Daker^b, Alexei M.C. Machado^{c,g}, Alan S. Luna^d, Dirceu C. Valladares Neto^e, Eugenia R. Valadares^{f,*}^a Federal University of Minas Gerais, School of Medicine, Graduate Program in Child and Adolescent Health, Av. Prof. Alfredo Balena, 190 – Sala 503, Belo Horizonte Cep: 30130-100, Minas Gerais, Brazil^b Federal University of Minas Gerais, School of Medicine, Department of Mental Health, Av. Prof. Alfredo Balena, 190 – Sala 235, Belo Horizonte Cep: 30130-100, Minas Gerais, Brazil^c Federal University of Minas Gerais, School of Medicine, Department of Anatomy and Image, Av. Prof. Alfredo Balena, 190 – Sala 179, Belo Horizonte Cep: 30130-100, Minas Gerais, Brazil^d Federal University of Minas Gerais, School of Medicine, Graduate Program in Child and Adolescent Health, Av. Prof. Alfredo Balena, 190 – Sala 503, Belo Horizonte Cep: 30130-100, Minas Gerais, Brazil^e Clínica do Sono, Alameda do Ingá, 780, Vale do Sereno, Nova Lima Cep: 34006-042, Minas Gerais, Brazil^f Federal University of Minas Gerais, School of Medicine, Graduate Program in Child and Adolescent Health, Av. Prof. Alfredo Balena, 190 – Sala 503, Belo Horizonte Cep: 30130-100, Minas Gerais, Brazil^g Pontifical Catholic University of Minas Gerais, Graduate Program in Informatics, Av. Itai, 525, Dom Cabral, Belo Horizonte Cep: 30535012, Minas Gerais, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Dystonia, Dopa-responsive
Autosomal dominant familial dystonia
Autosomal dominant GCH1 deficiency
Dystonic disorders
Sleep-wake disorders
Mental disorders

ABSTRACT

Introduction: Although the diurnal fluctuation of motor dysfunction, reversible with small doses of dopamine, is a cornerstone for the phenotype of the autosomal dominant Segawa syndrome, the non-motor symptoms of this neurotransmitter deficiency have still received limited attention.**Objective:** This study aims to evaluate non-motor symptoms of this dopa-responsive dystonia through an intra-familial comparative cross-sectional study.**Methods:** Seventeen individuals with a c.IVS5 + 3insT (c.626 + 3insT) variation in the GTP cyclohydrolase-1 gene (*GCH1*, HGNC: 4193) and 34 intrafamilial controls were studied using the Beck Depression Inventory-II, the Wiener Matrizen Test 2, the Epworth Sleepiness Scale, the Pittsburgh Sleep Quality Index, the MINI/MINI PLUS Questionnaires, the World Health Organization Quality of Life – BREF Instrument and a drug use assessment questionnaire.**Results:** No significant difference was found between the groups in the prevalence of sleep disorders and in cognitive function. Nevertheless, generalized anxiety disorder ($p = 0.050$) and attention-deficit/hyperactivity disorder in childhood ($p = 0.011$) were observed only in individuals without the molecular variation. The group with the *GCH1* variation presented a worse perception about how safe they feel in their daily lives ($p = 0.034$), less satisfaction with themselves ($p = 0.049$) and with their relationships ($p = 0.029$), and a higher prevalence of past major depressive episodes before use of L-Dopa ($p = 0.046$).**Conclusion:** Low dopamine could have been protective against generalized anxiety disorder and attention-deficit/hyperactivity disorder in childhood in Segawa group individuals. The prevalence of depression was higher in individuals with the molecular variant prior to the L-Dopa treatment. Considering it, the penetrance estimates for

Abbreviations: ADHD CHD, Attention deficit/hyperactivity disorder in childhood.; BDI-II, Beck Depression Inventory – II.; BH4, Tetrahydrobiopterin cofactor.; DRD, Dopa-responsive dystonia.; DYT/PARK-*GCH1*, Dopa-responsive dystonia syndrome caused by GTP cyclohydrolase-1 gene variation.; DYT5a, Autosomal dominant Segawa syndrome.; ESS, Epworth Sleepiness Scale.; GAD, Generalized Anxiety Disorder.; *GCH1*, The official gene symbol approved by the HGNC for GTP cyclohydrolase-1 gene.; GTP Cyclohydrolase-1, guanosine triphosphate cyclohydrolase-1 enzyme.; HGNC 4193, HGNC ID for gene of the GTP cyclohydrolase-1.; L-Dopa, Levodopa.; MDE, Major depressive episode.; MDE PAST, Past major depressive episode.; MINI/MINI PLUS, Mini International Neuropsychiatric Interview.; NMS, non-motor symptoms.; NSG, Non-Segawa group.; PSQI, Pittsburgh Sleep Quality Index.; SG, Segawa group.; WHOQOL-BREF, World Health Organization Quality of Life – BREF instrument.; WMT-2, Vienna Matrix Test 2.

* Corresponding author at: Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil, Av. Alfredo Balena 190 – Sala 503, Belo Horizonte Cep 30130-100, Minas Gerais, Brazil.

E-mail address: eugenia@medicina.ufmg.br (E.R. Valadares).

<https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2022.100870>

Received 25 February 2022; Received in revised form 10 April 2022; Accepted 11 April 2022

Available online 18 April 2022

2214-4269/© 2022 The Authors. Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

the variant carriers increased from 58.8% to up to 88% in this large studied family. Additionally, neuropsychiatric tests of all individuals with a molecular diagnosis in an affected family are a valuable instrument for its clinical management.

1. Introduction

The dopa-responsive dystonia (DRD) caused by the autosomal dominant variant in the guanosine triphosphate cyclohydrolase-1 gene (currently identified as autosomal dominant DYT/PARK-*GCH1*) is mainly characterized by the appearance of posture and motor locomotion disturbances with marked diurnal variation in childhood or adolescence and a simultaneous or late occurrence of parkinsonism [1–3]. Also known as Segawa syndrome or DYT5a dystonia (OMIM # 128230), its motor symptoms treated with low dosages of levodopa (L-Dopa) have an excellent response in a period of a few weeks [2,4]. It is a rare disease, with around 1–9 cases per million people [5,6].

The variations in the gene of the GTP cyclohydrolase-1 (guanosine triphosphate cyclohydrolase-1), EC 3.5.4.16, symbol *GCH1*, HGNC: 4193, located at the chromosome 14q22.1-q22.2, lead to a deficiency of this enzyme, one of the responsible for the conversion of GTP to tetrahydrobiopterin (BH4). BH4 is a cofactor for the aromatic amino acid hydroxylases (phenylalanine-4-hydroxylase, tyrosine-3-hydroxylase, and tryptophan-5-hydroxylase) to produce tyrosine, dopamine, and serotonin.

The autosomal dominant DYT/PARK-*GCH1* has variable expressivity and, based on a recent systematic review, asymptomatic individuals totaled approximately 25% (151 of 639 mutation carriers), resulting indirectly in penetrance of 75%; however, these authors argue that the population penetrance can be lower [7].

Nowadays, the autosomal dominant DYT/PARK-*GCH1* is still under-diagnosed, which is also associated with the fact that many signs and symptoms are not severe enough to motivate the patients to seek clinical assistance [8–10].

Equally, although the role of altered dopamine metabolism in motor dysfunction in this DRD is known and reversible, the consequences of synthesis deficiencies of this and other neurotransmitters involved in the pathogenesis of possible non-motor symptoms (NMS) in this disease, like serotonin and noradrenaline, have still received limited attention. Antelmi et al. (2015) state that, given the numerous functions of the BH4 cofactor, it is also reasonable to assume that in autosomal dominant DYT/PARK-*GCH1*, other systems, in addition to the motor, would be impaired [11]. Also, for these and other authors, such as Tadic et al. (2012) and Timmers et al. (2017), NMS may be being neglected, and/or very few and contrasting data are currently available on the subject [11–16].

This study aims to improve the knowledge about NMS of autosomal dominant DYT/PARK-*GCH1* by comparing the prevalence of some neuropsychiatric and sleep disorders in individuals with this DRD to their not molecularly affected relatives. The penetrance of this disease may be higher than published previously.

2. Materials and methods

The sample of this comparative cross-sectional study with case and control groups was initially composed of 63 individuals taken from a single Brazilian family. Nineteen members (30.2%) had a c.IVS5 + 3insT (c.626 + 3insT) variation in the splicing regulatory element of the *GCH1* gene, according to a previous genetic study [17]. Among the carriers of the variation, 15 (78.9%) were females, 9 of them with motor symptoms, and 4 (21.1%) males, only one of them with motor symptoms [17]. Since that initial study, four individuals died (2 carriers – 1 male and one female – and two non-carriers). Additionally, the other three non-carrier individuals were excluded from the sample because they moved to distant locations. These facts represented an exclusion of 7 of the 63

possible study participants.

After enrollment of the 56 individuals (17 carriers and 39 non-carriers), five non-carriers did not complete the assessment and were excluded. Thus, the case group was composed of 17 carriers and the control group of 34 non-carriers. The Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais approved the study (number 06803312.8.0000.5149), performed between March 2016 and November 2017. Signed informed consent was obtained from all participants.

Only assessment instruments in the Brazilian Portuguese language were considered. The World Health Organization Quality of Life – BREF instrument (WHOQOL-BREF) was used to analyze the quality of life [18]. A neuropsychiatric evaluation was performed by two mental-health professionals who applied the Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI) version 5.0 and the adapted W module of the MINI PLUS 5.0.0 (June 2001) for the diagnostic investigation of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder [19]. In order to investigate major depressive episodes, questionnaires inquired about current, past, and recurrent events. The mental-health professionals were unaware of the interviewees' condition regarding the presence of the variation. The Beck Depression Inventory-II (BDI-II) was selected to detect depressive symptoms and to measure the severity of these episodes, using a lower cut-off threshold to increase sensitivity [20,21]. The non-verbal Vienna Matrix Test 2 (WMT-2) was used for the intellectual evaluation of the participants with the Table of Standards for 14–69 years, free time, regardless of education level and the classification of the percentile for the interpretation of the gross results [22].

For the subjective evaluation of sleep disorders, the Epworth Sleepiness Scale (ESS) and the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) were applied [23,24]. The higher the total score was in ESS (0–24), the higher was the level of daytime sleepiness of the self-assessment, and the scores above 10 suggested the diagnosis of excessive daytime sleepiness [25]. The PSQI, also self-applicable, stratified the individual as a “good sleeper” (if overall score up to 5) or “bad sleeper” (overall score greater than 5), through 7 components assessed in the previous month [24].

A brief structured assessment of the history of chronic medication use was also applied to the participants, mainly specifying the use of L-Dopa, antidepressants, anxiolytics, and other psychoactive drugs.

For the WHOQOL-BREF and the assessment of medication use, 51 participants answered the questionnaires. The Non-Segawa group (NSG) was composed of 23 females and 11 males ($N = 34$), with a mean(s.d.) age of 41.0(17.5) years, and the called Segawa group (SG) was composed of 14 females and three males ($N = 17$), with a mean(s.d.) age of 48.9(18.4) years. For the MINI, BDI-II, ESS, and PSQI instruments, 38 participants answered the questionnaires: 12 females and nine males for the NSG ($N = 21$), with a mean(s.d.) age of 43.2(19.4) years; the SG kept the same previous member composition. For the WMT-2 instrument, participants older than 69 years were excluded so that the sample ($N = 31$) was composed of 10 females and seven males in the NSG, with a mean(s.d.) age of 39.9(15.8) years and 12 females and two males in the SG, with a mean(s.d.) age of 44.4(17.0) years.

Statistical analysis was performed using the R software version 3.3.3. Considering that the size of the samples was too small to characterize their distribution, the nonparametric tests of Wilcoxon and Wilcoxon adjusted for age and sex were preferred to Student's *t*-test in the case of numeric variables, and Fisher's exact test was applied to categorical data. Although the Segawa and control samples were considerably matched for sex and age, these covariates were corrected using linear regression, as they could act as confounders in the analysis of depression and quality of life. A Type I error level $\alpha = 0.05$ was considered for all

analyses.

3. Results

3.1. Assessment of quality of life

The overall quality of life expressed as a 0–100 score presented a mean (s.d.) of 70.6 (19.9) and 72.1 (15.0), respectively, for the NSG and SG, with no significant difference between groups after adjustment ($p = 0.425$). Nevertheless, the Wilcoxon test adjusted for age and sex revealed statistically significant differences between these groups in the following variables that were measured in a scale from 1 to 5 (Table 1):

- Question 3 – “In the past two weeks, to what extent did you feel that (physical) pain prevented you from doing what you needed to do?” although both mean scores closer to the response option “a little”;
- Question 4 – “In the past two weeks, how much did you need any medical treatment to execute functions in your daily life?” whose mean score in SG was closer to the response option “a moderate amount” and in NSG closer to the option “a little”;
- Question 8 – “In the past two weeks, how safe did you feel in your daily life?” whose mean score in SG was closer to the response option “a moderate amount” and in NSG closer to the option “very much”;
- Question 19 – “In the past two weeks, how satisfied were you with yourself?” whose mean score in SG was equivalent to “neither satisfied nor dissatisfied” and in NSG closer to “satisfied.”

Additionally, the unadjusted Wilcoxon test indicated a difference for question 20, “How satisfied are you with your personal relationships?”, with a mean value of 3.5 in SG (“neither satisfied nor dissatisfied”) and 3.9 in NSG (“satisfied”), different at $p = 0.029$. However, the statistical significance decreased after correction for sex and age. This adjusted analysis also revealed a significant difference in the “Physical Domain” item of the questionnaire, scored on a scale of 0–100. These differences are summarized in Table 1.

3.2. Neuropsychiatric evaluation by MINI/MINI PLUS

Fisher’s exact test showed statistically significant differences between the groups in the variables past major depressive episode (MDE PAST), generalized anxiety disorder (GAD), and attention-deficit/hyperactivity disorder in childhood (ADHD CHD) (see Table 2). For these last two variables, there was no occurrence in SG.

3.3. Evaluation of depression by the BDI – II

No significant differences between groups were observed concerning the affective component, physical component, and the gross score of the BDI-II test. Gross scores (13.24 for SG and 13.52 for NSG) meant borderline values between possible “no depression/minimal depression” (0–13) and possible “mild depression” (14–19). A contingency table of

Table 1

Average (standard deviation) of the variables with statistically significant differences between the Non-Segawa and Segawa groups for the WHOQOL-BREF Instrument Analysis performed with the Wilcoxon test adjusted for age and sex.

Variable	NSG (N = 34)	SG (N = 17)	p-value
Question 3	2.3 (1.04)	1.9 (0.78)	0.045
Question 4	2.4 (1.10)	3.2 (0.97)	0.022
Question 8	3.7 (0.81)	3.1 (1.03)	0.034
Question 19	3.7 (0.84)	3.1 (0.93)	0.049
Physical domain	68.5 (2.3)	59.2 (2.1)	0.036

Abbreviations: WHOQOL-BREF, World Health Organization Quality of Life – BREF instrument; NSG, Non-Segawa group; SG, Segawa group.

Table 2

Frequency and prevalence of neuropsychiatric disorders with statistically significant differences between the Non-Segawa and Segawa groups suggested by MINI/MINI PLUS.

Disorder	NSG (N = 21)	SG (N = 17)	p-value
MDE PAST	5 (23.8%)	10 (58.8%)	0.046
GAD	5 (23.8%)	0 (0%)	0.050
ADHD CHD	7 (33.3%)	0 (0%)	0.011

Abbreviations: MINI, Mini International Neuropsychiatric Interview; NSG, Non-Segawa group; SG, Segawa group; MDE PAST, Past major depressive episode; GAD, Generalized Anxiety Disorder; ADHD CHD, Attention deficit/hyperactivity disorder in childhood.

the gross scores suggested a prevalence of 41.2% for depressive symptoms (mild, moderate, or severe) in the SG vs. 42.9% in the NSG (Table 3).

3.4. Cognitive evaluation using WMT-2

On a 0–18 scale, the mean gross score for the total sample was 10.8, with a mean percentile degree of 50.9 and an average performance rate (level III). The mean (s.d.) percentile was 52.7(33.2) for NSG and 48.6 (27.6) for SG. No significant difference was observed in the scores obtained by WMT-2. In the NSG, 29.4% of the respondents presented a “below average” or “extremely low” performance rating (percentile ≤ 25) vs. 14.3% in SG.

3.5. Subjective assessment of daytime sleepiness

The mean gross score of the total sample in the ESS was 10.1, with a median of 11.0, and these values were considered borderline for an abnormal sleep score (> 10). The means (s.d.) for the evaluated variables did not vary significantly, including the gross score (10.3(4.8) for NSG and 9.8(4.0) for SG). The prevalence of abnormal sleep scales showing excessive daytime sleepiness in NSG and SG were 57.1% and 47.1%, respectively, and the participants were rated using the level of daytime sleepiness, according to Table 4.

3.6. Sleep quality assessment

For the whole sample, the mean value for variable C1 (subjective quality of sleep) was 1.1, classifying self-assessed individuals as having a very good subjective quality of sleep. However, the overall mean PSQI score for all interviewed participants was 7.6 (7.7(4.7) in NSG vs. 7.4 (3.0) in SG) on a 0–21 scale, which means that the interviewees self-rated themselves as having poor sleep quality (score > 5) in the month prior to their evaluation. 58.8% of GS participants and 82.4% of NSG participants were classified as “poor sleepers”.

3.7. Medication use and relationship with studied symptoms

The use of antidepressant drugs, as the selective serotonin reuptake inhibitors, occurred without statistically significant differences between the 34 NSG members and the 17 SG individuals (8 individuals in the NSG

Table 3

Frequency (percentage) for each category of the gross score used in the BDI – II inventory test.

Category	NSG (N = 21)	SG (N = 17)	Total
0–13 (No/Minimum depression)	12 (57.1%)	10 (58.8%)	22 (57.9%)
14–19 (Mild depression)	4 (19.1%)	2 (11.8%)	6 (15.8%)
20–28 (Moderate depression)	2 (9.5%)	5 (29.4%)	7 (18.4%)
29–63 (Severe depression)	3 (14.3%)	0 (0%)	3 (7.9%)

Abbreviations: BDI – II, Beck Depression Inventory – II; NSG, Non-Segawa group; SG Segawa group.

Table 4
Frequency (percentage) for each category of daytime sleepiness used in ESS.

Daytime sleepiness category (gross score range)	NSG (N = 21)	SG (N = 17)	Total
Lower normal (0–5)	5 (23.8%)	3 (17.6%)	8 (21.1%)
Higher normal (6–10)	4 (19.1%)	6 (35.3%)	10 (26.3%)
Mild excessive (11–12)	7 (33.3%)	3 (17.7%)	10 (26.3%)
Moderate excessive (13–15)	2 (9.5%)	4 (23.5%)	6 (15.8%)
Severe excessive (16–24)	3 (14.3%)	1 (5.9%)	4 (10.5%)

Abbreviations: ESS, Epworth Sleepiness Scale; NSG, Non-Segawa group; SG Segawa group.

vs. 5 in the SG, $p = 0.738$), as well as the use of anxiolytics, like benzodiazepines (5 individuals in the NSG vs. 5 in the SG, $p = 0.269$) and the use of psychoactive drugs other than those mentioned, as biperiden, topiramate, melatonin, and pramipexole (4 individuals in the NSG vs. 4 in SG, $p = 0.416$).

Among the 17 SG members, 10 had motor symptoms (which would mean a penetrance of 58.8%), and 9 used L-Dopa for major motor symptoms (one patient not medicated with L-Dopa had a peripheral motor symptom, observed while washing dishes). In the SG, antidepressant drugs were used by 2 (22.2%) of the nine patients that used L-Dopa vs. 3 (37.5%) of the eight individuals that did not use L-Dopa ($p = 0.620$). None of the 34 individuals of the NSG used L-Dopa.

Finally, only 2 (11.8%) of the 17 SG individuals did not use L-Dopa or antidepressants or were diagnosed with a current, recurrent or past major depressive episode. Table 5 shows some statistical analyses of categorical variables related to depression based on the distribution of the participants into subgroups selected by type of informed psychoactive medication.

Table 5
Contingency of participants and p -value, by categorical variables of Major Depressive Episodes and some experiment groups, according MINI/MINI PLUS and medication use.

Categorical variable (with levels, N/Y:)	Experiment groups		p-value
MDE PAST	NON-LDOPA	LDOPA	0.436
	N 19	4	
MDE PAST	NSG	SG NON-LDOPA	0.083
	Y 10	5	
MDE CURR	NSG	SG LDOPA	0.082
	N 16	3	
MDE CURR	NSG	SG NON-LDOPA	0.112
	Y 5	5	
MDE RECURR	NSG	SG LDOPA	0.164
	N 5	9	
MDE PAST	NSG	SG LDOPA	0.115
	Y 3	0	
	NSG	SG NON-LDOPA	0.164
	N 19	5	
	NSG	SG LDOPA	0.115
	Y 2	3	
	NSG	SG LDOPA	0.115
	N 17	4	
	NSG	SG LDOPA	0.115
	Y 4	4	
	NSG	SG LDOPA	0.115
	N 16	4	
	NSG	SG LDOPA	0.115
	Y 5	5	

Abbreviations: MINI, Mini International Neuropsychiatric Interview; N, No; Y, Yes; MDE PAST, Past major depressive episode; NON-LDOPA, Participants that did not use L-Dopa; LDOPA, Participants that used L-Dopa; NSG, Non-Segawa group; SG NON-LDOPA, Segawa group participants that did not use L-Dopa; MDE CURR, Current major depressive episode; MDE RECURR, Recurrent major depressive episode; SG LDOPA, Segawa group participants that used L-Dopa.

4. Discussion

The extension and severity of symptoms are pretty broad in individuals with *GCH1* variation. This variability indicates that other factors, including environmental, can modify the genetic action, influencing the expression of symptoms [26].

The availability of homogeneous samples is a problem in studying rare familial diseases. Brüggemann et al. opted to study the NMS of autosomal dominant DYT/PARK-*GCH1* using non-familial case and control groups in order to reduce the influence of intrafamilial factors that were independent of GTP cyclohydrolase-1 deficiency and could affect the results [27]. In that work, Brüggemann et al. did not confirm the clinical impressions and biologically plausible assumptions of an increased frequency of NMS in DRD, although, as in most studies, the patients were on stable L-Dopa therapy [27].

In the present work, however, the intrafamilial pairing of the groups was chosen to provide to both groups the most similar family factors, genetic profiles (except on the specific studied *GCH1* variation), and environmental variables. Therefore, the differences in prevalence for the studied events would be more likely to be associated with the autosomal dominant DYT/PARK-*GCH1* variation.

The present study did not detect impairment of intellectual capacity in this DRD through the analysis of the WMT-2, which is different from the findings of López-Laso et al. [28]. Also, as stated by Furukawa (2019), although reports on the frequency of NMS in these individuals remain conflicting, in general, intellectual and cognitive function is typical in individuals with DYT/PARK-*GCH1* [12].

In the present work, statistically significant differences in the prevalence of some non-motor disorders or circumstances were found between the surveyed groups. Individuals with the genetic variation had in WHOQOL-BREF a worse perception of how safe they felt in their daily lives ($p = 0.034$) and less satisfaction with themselves ($p = 0.049$) and with their relationships ($p = 0.029$); in SG, a higher prevalence of past major depressive episodes in the MINI/MINI PLUS (58.8% in SG vs. 23.8%, $p = 0.046$) was detected, especially before the beginning of L-Dopa administration.

Data analysis of major depressive episodes (MDE) in Table 5, considering different subgroups based on the use of psychoactive medications, allows exciting discussions.

Comparing the frequency of MDE PAST between the subgroup of Segawa patients who used L-Dopa and the remaining group of all the participants who did not use this drug (including individuals from the NSG), no statistically significant difference was detected in the occurrence of MDE PAST (p -value 0.436), as detected when comparing the occurrence of MDE PAST between SG and NSG (p -value 0.046). This finding suggests that, for the evaluation of this categorical variable, it is not the use of L-Dopa but rather the genetic variation that is statistically associated with a higher occurrence of MDE PAST. Objectively, among 8 SG individuals (seven with no NMS), who were not using L-Dopa, 5 (62.5%) had MDE PAST detected by the analysis.

Even if not statistically significant, the comparison of the MDE PAST frequency between the SG individuals who did not use L-Dopa and the NSG individuals is also noteworthy ($p = 0.083$). In this case, only 5 of the 21 NSG individuals had MDE PAST, suggesting a possible association between genetic variation and MDE PAST.

Concerning current (CURR) and recurrent (RECURR) MDE, the analyses of these participant subgroups in Table 5 also provide a similar discussion, even though their p -values were slightly above 0.050, which may have been affected by the limited size of the available sample.

Comparing the frequency of CURR MDE between the SG individuals who did not use L-Dopa and the subgroup of individuals with the variation who used the drug, all 9 participants who used L-Dopa did not present criteria for CURR MDE. In contrast, 3 (37.5%) of the eight individuals with the genetic variation without using the drug received this diagnosis ($p = 0.032$). This association could suggest the possibility of a protective effect of L-Dopa replacement against CURR MDE in the

studied individuals with the genetic variation.

Analyzing the frequencies of CURR and RECURR MDE between the SG individuals who did not use L-Dopa and NSG individuals (therefore, without the genetic variation), *p*-values were respectively 0.112 and 0.164. As the use of antidepressant drugs occurred without statistically significant differences between these groups, if sample sizes were more extensive, such analysis could even be closer to a statistically significant association, featuring a higher occurrence of these MDE with the genetic variation in the studied patients (50.0% of the SG members who did not use L-Dopa had RECURR MDE, vs. 19.0% of the NSG individuals). In this sense, it also corroborates the finding that comparing individuals from the NSG and the SG who used L-Dopa, the Fisher's Exact Test presented a *p*-value of 1 for the CURR and RECURR MDE variables, but a value of 0.115 for the MDE PAST (55.5% of the nine individuals with the variation that used L-Dopa had MDE PAST vs. 23.8% of the NSG individuals). This could suggest that L-Dopa replacement at low doses would be adequate for the control of motor symptoms and the approach of CURR and RECURR MDE in the studied individuals with genetic variation. The association could be plausible, as this supposed protective effect against depressive episodes was not observed in the MDE PAST analysis that refers to the period prior to L-Dopa use by individuals with autosomal dominant DYT/PARK-*GCH1*. This possibility should target future investigations, especially in other families with larger sample sizes.

Tadic et al. (2012) published a comprehensive review with results from 352 symptomatic DRD patients, heterozygous mutations in *GCH1*, and a pilot cohort of 23 outpatients [13]. Among 70 patients whose information on non-motor signs was obtained in the literature, 34% had depression, which also seemed high for those authors compared to the general population and even patients with Parkinson's disease [13]. In the pilot cohort study, 6 cases (32%) reported one or more non-motor signs, including depression and migraine, and all patients in that pilot study were treated with dopaminergic medication and reported NMS during treatment [13].

According to Antelmi's review on NMS in DYT/PARK-*GCH1*, neuropsychiatric features, and, particularly, depression, were reported in almost all available cohort studies [11,14,15,28]. As highlighted by Antelmi (2015), biochemical basis, together with the fact that sometimes they may precede motor signs or maybe the only clinical manifestation, would support that they are a primary feature [14,15]. Nevertheless, for Antelmi, some bias also needed to be considered, and future studies could be enlightening [11].

On the other hand, Timmers et al. (2017), after also highlighting that in DRD patients the occurrence of NMS is expected, found a higher lifetime prevalence of psychiatric disorders (61% vs. 29%, $p < 0.05$) and daytime sleepiness (11.2 vs. 5.7, $p < 0.05$) in a cohort of Dutch adults with DYT/PARK-*GCH1*, but not in children, compared to matched controls [16]. For those authors, in particular, the frequencies of generalized anxiety and agoraphobia were higher in patients with DRD (both 29% vs. 4%, $p < 0.05$), and adult patients had significantly lower scores on the mental component of the Health-Related Quality of Life Questionnaire than controls (47 vs. 54, $p < 0.05$), primarily associated with poorer sleep quality [16]. Data from 28 patients (18 adults and ten children from 10 families) contributed to that study, which suggested the possible involvement of serotonergic mechanisms [16].

The present study suggested in both groups a high prevalence of excessive daytime somnolence (47.1% for SG vs. 57.1%, $p < 0.05$) and poor sleep quality, even slightly above the cut-off point for such classification (in 58.8% of SG vs. 82.4%), despite the high percentage of these individuals using L-Dopa for the dystonia and/or other psychoactive drugs. A high prevalence of current depressive symptoms in BDI-II also was detected in both groups (41.2% in SG vs. 42.9%). Nevertheless, generalized anxiety disorder (23.8%, $p = 0.050$) and attention-deficit/hyperactivity disorder in childhood (33.3%, $p = 0.011$) occurred exclusively in relatives without the variation. This finding can suggest more resilience to these disorders in the studied SG or a bias due to the greater use of

psychoactive drugs in family members with the variation, although there is no statistically significant difference in this use, except L-Dopa in low dosages.

It is postulated that dopamine acts as an important facilitator of discriminative learning of the stimuli that represent safety and threat to individuals [29]. Therefore, genetic dopamine depletions, such as those determined in autosomal dominant DYT/PARK-*GCH1* and occurring prior to the individual's conditioning to the dopamine replacement stimulus, would be able to completely stop the acquisition of responses to conditioned threats [30–33]. This would function as a “protective factor” or resilience for anxiety disorders. In addition, reducing the excitatory effects of dopamine in these individuals would be a potential justification for the lower prevalence of this disorder in the SG since reduced dopamine would also result in the reduction of adrenaline and noradrenaline, known as stimulants involved in anxiety.

A study by Del Campo et al. pointed out that the leading cause of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder may be related to the structural neuroanatomical differences in the reduced gray matter of the limbic and frontostriatal-cerebellar networks of the affected individuals and not to the altered availability of D2/D3 dopaminergic receptors or endogenous dopamine levels [34].

In the study of López-Laso et al. on neuropsychiatric symptoms of 14 outpatients with DRD from 2 families, impulsivity was detected exclusively in the seven adult individuals in the sample, regardless of L-Dopa replacement therapy, what happened in four of those seven [28].

By applying the adapted W component of MINI PLUS, all seven diagnosed childhood Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder cases occurred in NSG individuals. As no SG participant had been treated with L-Dopa in childhood, it should be possible to postulate that low dopamine can protect the SG children against the Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder, what was not seen in similar publication.

In an anterior study of this large family, considering only motor symptoms, the disease penetrance was 52.6% (10/19 patients) [17]; currently, the penetrance according to this criterion is 58.8%, as 10 SG patients had these symptoms in 17. However, as only 2 of the 17 SG members did not use L-Dopa for motor symptoms or antidepressants or were diagnosed with a current, recurrent, or past major depressive episode, it is suggested that autosomal dominant DYT/PARK-*GCH1* penetrance can indirectly reach 88.2% in this SG, considering the association of major depressive episode as part of the NMS minimally.

This study has limitations, and some biases can be postulated by selecting tools that may not be considered diagnostic, by the subjectivity of a self-assessment, and by the selection of intrafamilial groups. The limited sample size, characteristic of rare diseases, was also highlighted as a restraining factor. Additionally, for ethical reasons, the evaluations were carried out without interrupting the use of ongoing medications by the studied individuals.

Further studies are suggested with neurotransmitter dosages and clinical examination to investigate other evidence in these individuals. Considering the medication use and the simultaneity of different control groups from and outside the family, case-control studies with a more significant sample number could also be elucidative.

5. Conclusions

Due to the possibility that only NMS may occur in a family member affected by the *GCH1* variation, the recommendation to carry out diagnostic studies to investigate the variation in all the individuals of the family under risk is reinforced, especially in those who have no motor symptoms. Considering the association of at least a major depressive episode as part of the NMS, it is suggested that autosomal dominant DYT/PARK-*GCH1* penetrance may reach 88% in this family, compared to the prior penetrance estimated in 58.8%, considering only motor symptoms (10 in 17 individuals with the variant). Additionally, neuropsychiatric tests of all individuals with a molecular diagnosis in an affected family seem to be relevant to adequate clinical management.

Ethical compliance statement

The Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais approved the study, under the number 06303312.8.0000.5149, performed between March 2016 and November 2017, following the ethical standards laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments.

Signed informed consent was obtained from all participants according to the approval of the Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais. Proof of informed consent is available upon request.

Data access and responsibility

All research data are available at the Federal University of Minas Gerais archives upon reasonable request to the corresponding author. The correspondent author takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

Authors' contributions

All co-authors have been substantially involved in the study and/or preparation of the manuscript. Each author (by his/her initials) is listed beneath this information, and his/her specific roles in the project and manuscript preparations are identified by number and letter.

1. Research project: A. Conception, B. Organization, C. Execution (Data Collection);
2. Statistical Analysis: A. Design, B. Execution, C. Review and Critique;
3. Manuscript Preparation: A. Writing of the first draft, B. Review and Critique;

ACAJ: 1A, 1B, 1C, 2A, 2B, 2C, 3A, 3B; MVD: 1A, 1C, 3A, 3B; AMCM: 1A, 2A, 2B, 2C, 3A, 3B; ASL: 1C, 2B, 3B; DCVN: 1A, 3B; ERV: 1A, 1B, 1C, 2A, 2B, 2C, 3A, 3B.

All authors read and approved the final manuscript.

Disclosures

Funding Agency and Conflict of Interest:

This work was partly supported by the Laboratory of Inborn Errors of Metabolism of the School of Medicine of the Federal University of Minas Gerais – Brazil. Dr. Valadares was the chief of this laboratory during the time of this research. Other sponsors have not influenced the content of the article. The supporting source had no role in the study design, collection, analysis, and interpretation of data, [1–34] writing of the report, and any involvement or restrictions regarding the submission of the report for publication. The authors declare no conflicts of interest relevant to this work.

Acknowledgments

To the N. family, that touched us with their noble life with difficulties and strengths.

References

- [1] C. Marras, A. Lang, B.P. van de Warrenburg, et al., Nomenclature of genetic movement disorders: recommendations of the international Parkinson and movement disorder society task force, *Mov. Disord.* 31 (4) (2016) 436–457.
- [2] M. Segawa, Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation, *Brain Dev.* 22 (Suppl. 1) (2000) S65–S80.
- [3] T.G. Nygaard, H. Takahashi, G.A. Heiman, B.J. Snow, S. Fahn, D.B. Calne, Long-term treatment response and fluorodopa positron emission tomographic scanning of parkinsonism in a family with dopa-responsive dystonia, *Ann. Neurol.* 32 (5) (1992) 603–608.
- [4] M. Segawa, K. Ohmi, S. Itoh, M. Aoyama, H. Hayakawa, Childhood basal ganglia disease with marked response to L-Dopa: hereditary progressive basal ganglia disease with marked diurnal fluctuation, *Shinryo* 24 (1972) 667–672.
- [5] J. Hagenah, R. Saunders-Pullman, K. Hedrich, et al., High mutation rate in dopa-responsive dystonia: detection with comprehensive GCHI screening, *Neurology* 64 (2005) 908–911.
- [6] Orphanet, The portal for rare diseases and orphan drugs (2022), in: Dopa-Responsive Dystonia, INSERM, 2022 [Accessed on 10 January, 2022]. Available at: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=484&Disease_Search_diseaseType=ORPHA&Disease_Search_diseaseGroup=255&Krankheite\(n\)/Krankheitsgruppe=DYT5&title=DYT5&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=484&Disease_Search_diseaseType=ORPHA&Disease_Search_diseaseGroup=255&Krankheite(n)/Krankheitsgruppe=DYT5&title=DYT5&search=Disease_Search_Simple).
- [7] A. Weissbach, M.G. Pauly, R. Herzog, et al., Relationship of genotype, phenotype, and treatment in dopa-responsive dystonia: MDSGene review, *Mov. Disord.* (2021 Dec 15), <https://doi.org/10.1002/mds.28874>. Online ahead of print.
- [8] N.H. Blau, F. Georg, Congenital Neurotransmitter Disorders - A Clinical Approach, Nova Science Publishers Inc, US, New York, NY, 2015.
- [9] N. Malek, N. Fletcher, E. Newman, Diagnosing dopamine-responsive dystonias, *Pract. Neurol.* 15 (2015) 340–345.
- [10] S. Bianca, M. Bianca, A new deletion in autosomal dominant guanosine triphosphate cyclohydrolase I deficiency gene - Segawa disease, *J. Neural Transm.* 113 (2006) 159–162.
- [11] E. Antelmi, M. Stamelou, R. Liguori, K.P. Bathia, Nonmotor symptoms in dopa-responsive dystonia, *Mov. Disord. Clin. Pract.* 2 (4) (2015 Jul 22) 347–356, <https://doi.org/10.1002/mdc3.12211>.
- [12] Y. Furukawa, in: M.P. Adam, H.H. Ardinger, R.A. Pagon, S.E. Wallace, Bean LJH, K. Stephens, A. Amemiya (Eds.), GTP Cyclohydrolase 1-Deficient Dopa-Responsive Dystonia, GeneReviews® [Internet], University of Washington, Seattle, Seattle (WA), 2002 Feb 21, pp. 1993–2020 [updated 2019 Jan 24].
- [13] V. Tadic, M. Kasten, N. Brüggemann, S. Stiller, J. Hagenah, C. Klein, Dopa-responsive dystonia revisited: diagnostic delay, residual signs, and nonmotor signs, *Arch. Neurol.* 69 (12) (2012 Dec) 1558–1562, <https://doi.org/10.1001/archneurol.2012.574>.
- [14] H. Hahn, M.R. Trant, M.J. Brownstein, R.A. Harper, S. Milshtien, L.J. Butler, Neurologic and psychiatric manifestations in a family with a mutation in exon 2 of the guanosine triphosphate-cyclohydrolase gene, *Arch. Neurol.* 58 (5) (2001) 749–755.
- [15] J.L.K. Van Hove, J. Steyaert, G. Matthijs, et al., Expanded motor and psychiatric phenotype in autosomal dominant Segawa syndrome due to GTP cyclohydrolase deficiency, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 77 (1) (2006) 18–23.
- [16] E.R. Timmers, A. Kuiper, M. Smit, A.L. Bartels, D.J. Kamphuis, N.I. Wolf, et al., Non-motor symptoms and quality of life in dopa-responsive dystonia patients, *Parkinsonism Relat. Disord.* 45 (2017 Dec) 57–62, <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2017.10.005> (Epub 2017 Oct 10).
- [17] C.P. Souza, E.R. Valadares, A.L.C. Trindade, V.L. Rocha, L.R. Oliveira, A.L. B. Godard, Mutation in intron5 of GTP cyclohydrolase 1 gene causes dopa-responsive dystonia (Segawa syndrome) in a Brazilian family, *Genet. Mol. Res.* 7 (3) (2008) 687–694.
- [18] World Health Organization Programme on Mental Health, WHOQOL User Manual, WHO, Geneva, 2012.
- [19] D.V. Sheehan, Y. Lecrubier, K.H. Sheehan, et al., The mini international neuropsychiatric interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10, *J. Clin. Psychiatr.* 59 (20) (1998) 22–33.
- [20] M.H. Gomes-Oliveira, C. Gorenstein, F. Lotufo Neto, L.H. Andrade, Y.P. Wang, Validation of the Brazilian Portuguese version of the Beck depression inventory-II in a community sample, *Rev. Bras. Psiquiatr.* 34 (4) (2012) 389–394.
- [21] A.T. Beck, R.A. Steer, G.K. Brown, Manual for the Beck Depression Inventory – II, Psychological Corporation, San Antonio, TX, 1996.
- [22] A.K. Formann, K. Waldherr, K. Piswanger, Wiener Matrizen - Test 2 (WMT-2): ein Rasch-skaliertes sprachfreier Kurztest zur Erfassung der Intelligenz: manual, Hogrefe Verlagsgesellschaft, Göttingen, 2011.
- [23] M.W. Johns, A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale, *Sleep* 14 (6) (1991) 540–545.
- [24] D.J. Buysse, C.F. Reynolds III, T.H. Monk, S.R. Berman, D.J. Kupfer, The Pittsburgh sleep quality index: a new instrument for psychiatric practice and research, *Psychiatr. Res.* 28 (2) (1989) 193–213.
- [25] M.W. Johns, Sensitivity and specificity of the multiple sleep latency test (MSLT), the maintenance of wakefulness test and the Epworth sleepiness scale: failure of the MSLT as a gold standard, *J. Sleep Res.* 9 (1) (2000) 5–11.
- [26] R. Robinson, G.T. McCarthy, O. Bandmann, M. Dobbie, R. Surtees, N.W. Wood, GTP cyclohydrolase deficiency: intrafamilial variation in clinical phenotype, including levodopa responsiveness, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 66 (1999) 96–99.
- [27] N. Brüggemann, S. Stiller, V. Tadic, et al., Non-motor phenotype of dopa-responsive dystonia and quality of life assessment, *Parkinsonism Relat. Disord.* 20 (4) (2014) 428–431.
- [28] E. López-Laso, A. Sánchez-Raya, J.A. Moriana, et al., Neuropsychiatric symptoms and intelligence quotient in autosomal dominant Segawa disease, *J. Neurol.* 258 (12) (2011) 2155–2162.
- [29] E.S. Bromberg-Martín, M. Matsumoto, O. Hikosaka, Dopamine in motivational control: rewarding, aversive, and alerting, *Neuron* 68 (5) (2010) 815–834.
- [30] J.P. Fadok, T.M. Dickerson, R.D. Palmiter, Dopamine is necessary for cue-dependent fear conditioning, *J. Neurosci.* 29 (36) (2009) 11089–11097.
- [31] Q. Greba, A. Gifkins, L. Kokkinidis, Inhibition of amygdaloid dopamine D2 receptors impairs emotional learning measured with fear-potentiated startle, *Brain Res.* 899 (2001) 218–226.

- [32] F.A. Guarraci, R.J. Frohardt, W.A. Falls, B.S. Kapp, The effects of intra-amygdaloid infusions of a D2 dopamine receptor antagonist on Pavlovian fear conditioning, *Behav. Neurosci.* 114 (3) (2000) 647–651.
- [33] F.A. Guarraci, R.J. Frohardt, S.L. Young, B.S. Kapp, A functional role for dopamine transmission in the amygdala during conditioned fear, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 877 (1999) 732–736.
- [34] N. Del Campo, T.D. Fryer, Y.T. Hong, et al., A positron emission tomography study of nigro-striatal dopaminergic mechanisms underlying attention: implications for ADHD and its treatment, *Brain* 136 (2013) 3252–3270.

6.3 Artigo: “Altered amino acids and melatonin in individuals with autosomal dominant Segawa syndrome: impact of levodopa use and relation to non-motor symptoms”

(Artigo original submetido em 23/04/2023 sob o número JMS-23-06, conforme quesitos editoriais, ao periódico Journal of Medical Screening, indexado Thomson – ISI, PubMed/Medline e outros. Submissão disponível em URL: <https://mc.manuscriptcentral.com/rsm-jms>)

Authors' names, degrees, ORCID and affiliations:

Ailton C. Alves Júnior, MD, MSc, 0000-0001-6645-613X ^a; Alexei M. C. Machado, PhD, 0000-0001-8077-3377 ^b; Frederico Garcia, MD, PhD, 0000-0003-1926-9053 ^c; Marina C. Oliveira, PhD, 0000-0002-7423-9802 ^d; and Eugenia R. Valadares, MD, PhD, 0000-0001-8263-3300 ^e.

^a Universidade Federal de Minas Gerais, School of Medicine, Graduate Program in Child and Adolescent Health. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

^b Universidade Federal de Minas Gerais, School of Medicine, Department of Anatomy and Image; Pontifical Catholic University of Minas Gerais, Graduate Program in Informatics. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

^c Universidade Federal de Minas Gerais, School of Medicine, Department of Mental Health; Center on Vulnerability and Health – NAVES – UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

^d Universidade Federal de Minas Gerais, Nursing School, Immunometabolism, Department of Nutrition. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

^e Universidade Federal de Minas Gerais, School of Medicine, Graduate Program in Child and Adolescent Health. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

Corresponding author's contact information: Eugenia Ribeiro Valadares. Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil. Av. Alfredo Balena 190 – Sala 503, Belo Horizonte, Cep 30130-100, Minas Gerais, Brasil. Phone: 55-31-999528690. E-mail: eugeniavaladares@gmail.com

Authors' contributions:

All co-authors have been substantially involved in the study and/or preparation of the manuscript. Each author (by his/her initials) is listed beneath this information, and his/her specific roles in the project and manuscript preparations are identified by number and letter.

1. Research project: A. Conception, B. Organization, C. Execution (Data Collection);
 2. Statistical Analysis: A. Design, B. Execution, C. Review and Critique;
 3. Manuscript Preparation: A. Writing of the first draft, B. Review and Critique;
- ACAJ: 1A, 1B, 1C, 2A, 2B, 2C, 3A, 3B; FG: 3A, 3B; AMCM: 1A, 2A, 2B, 2C, 3B; MCO: 1C, 3B; ERV: 1A, 1B, 1C, 2A, 2B, 2C, 3A, 3B.

All authors have seen, approved and agreed to co-author the submitted paper.

Disclosures:

Funding Agency and Conflict of Interest

This work was supported by funding from the Laboratory of Inborn Errors of Metabolism of the School of Medicine of the Federal University of Minas Gerais – Brazil. Dr. Valadares was the chief of this laboratory during this research. The supporting source had no role in the study design; collection, analysis, and interpretation of data; writing of the report; and any involvement or restrictions regarding submitting the report for publication. The authors declare no conflicts of interest relevant to this work.

Ethical Compliance Statement

The Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais approved the study, under the number 06803312.8.0000.5149, performed between March 2016 and November 2017, following the ethical standards laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments.

Signed informed consent was obtained from all participants according to the approval of the Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais. Proof of informed consent is available upon request.

Data access and responsibility:

All research data are available at the Federal University of Minas Gerais archives upon reasonable request to the corresponding author. The correspondent author takes responsibility for the data's integrity and the data analysis's accuracy.

Abstract

Objective: The autosomal dominant Segawa syndrome is a complex dopa-responsive dystonia. This study approached a profile of amino acids and neurotransmitters related to this syndrome and its possible non-motor symptoms.

Methods: A cross-sectional study in a large family compared 16-17 individuals with a c.IVS5+3insT (c.626+3insT) variation in the GTP cyclohydrolase-1 gene to 12-14 intrafamilial controls, through serum dosages of the main amino acids (and its estimated cerebral influxes), serotonin, and melatonin. These results were cross-referenced with others related to non-motor symptoms and drug use, from a parallel study.

Results: Compared to control subjects, there was a higher average estimated brain influx of phenylalanine in individuals with genetic variation ($p = 0.015$), also observed in levodopa users ($p = 0.012$). Levodopa users had reduced mean serum tryptophan levels compared to participants with the mutation who did not use it ($p = 0.046$), including subjects with the genetic variation who did not use other psychotropic drugs ($p = 0.039$). Levodopa use was related to lower nocturnal melatonin serum levels, compared to those of individuals with the mutation who were not levodopa users ($p = 0.031$), and was able to change correlations between pairs of variables in similar experiments.

Conclusions: The higher phenylalanine estimated brain influx in individuals with the mutation was suggested as a diagnostic biochemical marker. In affected individuals, the association between levodopa use and lower serum nocturnal melatonin, among others, must be deeper investigated, as its repercussions may include benefits such as melatonin intake for a better quality of life.

Keywords: Dystonia, Dopa-responsive; Autosomal Dominant Familial Dystonia; Amino Acid; Levodopa; Melatonin.

Abbreviations:

AA - Amino acids

AD DYT/PARK-*GCH1* - Autosomal dominant dopa-responsive dystonia syndrome caused by GTP cyclohydrolase-1 gene variation

BDI-II - Beck Depression Inventory – II

BH₄ - Tetrahydrobiopterin cofactor

DRD - Dopa-responsive dystonia

ESS - Epworth Sleepiness Scale

GCH1 - The official gene symbol approved by the HGNC for GTP cyclohydrolase-1 gene

GTP Cyclohydrolase-1 - guanosine triphosphate cyclohydrolase-1 enzyme

LAT1 - Large Neutral Amino Acid Transporter

L-Dopa - Levodopa

MDE - Major depressive episode

NMS – Non-motor symptoms

NSG - Non-Segawa group

PAST MDE - Past major depressive episode

PHE - Phenylalanine

PSQI - Pittsburgh Sleep Quality Index

SG - Segawa group

TRP - Tryptophan

TYR - Tyrosine

Introduction

Segawa syndrome (OMIM # 128230) was first described as a hereditary progressive dystonia with a diurnal variation.¹ Renamed later as dopamine-responsive dystonia (DRD), it has been recently identified as a dopa-responsive dystonia syndrome caused by autosomal dominant variation in the GTP cyclohydrolase-1 gene (AD DYT/PARK-*GCH1*).^{2,3}

This syndrome is ultra-rare,⁴⁻⁷ usually presenting an early onset and motor symptoms highly responsive to low doses of levodopa (L-Dopa) in a few weeks.^{1,8} Additionally, simultaneous or late parkinsonism can be observed.^{9,10}

Hundreds of variations in the gene of the GTP cyclohydrolase-1 (guanosine triphosphate cyclohydrolase-1), symbol *GCH1*, located at chromosome 14q22.2, lead to a deficiency of this enzyme. GTP cyclohydrolase-1 is a GTP convertor into tetrahydrobiopterin (BH₄). BH₄ is a cofactor for the aromatic amino acid hydroxylases involved in the synthesis of tyrosine (TYR), dopamine, and serotonin.¹¹

Deficiencies of TYR-related neurotransmitters, such as dopamine, serotonin and melatonin and their association with L-Dopa treatment in non-motor symptoms (NMS) received limited attention in DRD. Antelmi et al. (2015) stated that, given the numerous functions of the BH₄ cofactor, it is also reasonable to assume that in AD DYT/PARK-*GCH1*, other non-motor systems would be impaired.¹² Also, for Tadic et al. (2012), Timmers et al. (2017) and others, NMS symptoms may be neglected, their data are contrasting, and the impact of L-Dopa treatment should be considered.¹²⁻¹⁷

The AD DYT/PARK-*GCH1* diagnosis is essentially clinical (an L-Dopa therapeutic trial in individuals with motor symptoms), where the preferred molecular tests, or complex biochemical and imaging tests, are unavailable. Nevertheless, assessing a therapeutic trial, especially in asymptomatic individuals for motor and non-motor symptoms, can represent a challenge.

This study investigated a basic screening laboratory strategy related to NMS in this disease. It compared the serum profile of amino acids (AA) (and its estimated cerebral influxes), serotonin, and melatonin between individuals with the mutation and their relatives not molecularly affected in a large family. These results were crossed to others (non-laboratory) related to NMS from a parallel study in the same family.¹⁸ Considering the use of L-Dopa and other psychotropics, the hypothesis is that some statistically significant differences in these comparative analyzes can contribute to the screening and improving the understanding of this syndrome.

Patients and Methods

A parallel study of Alves Júnior et al. (2022) assessed NMS supposedly related to AD DYT/PARK-*GCH1* in 17 individuals with a c.IVS5+3insT (c.626+3insT) variation in the *GCH1* and 21 without the mutation, named respectively as the Segawa group (SG) and Non-Segawa group (NSG).¹⁸ These individuals, from a single affected Brazilian family previously identified by Souza et al. (2008),¹⁹ were assessed by the Brazilian versions of the Mini-

International Neuropsychiatric Interview (MINI) version 5.0, and some adapted modules of the MINI PLUS 5.0.0 (June 2001); the Beck Depression Inventory-II (BDI-II); the Epworth Sleepiness Scale (ESS); and the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI).²⁰⁻²⁴ Chronic medication use (especially L-Dopa, antidepressants, and other psychoactive drugs) was also assessed.¹⁸ The groups were quite homogeneous, with mean(sd) age of 48.9(18.4) for the SG and 43.2(19.4) for the NSG. The number of female participants was 14 (82%) in the SG and 12 (57%) in the NSG.

In this study, serum levels of the main AA were measured for the whole SG, including phenylalanine (PHE), TYR and tryptophan (TRP), as well as the PHE/TYR ratio, serotonin and diurnal melatonin levels. Nevertheless, according to the availability of the participants, the NSG was composed by 14 members. For the nocturnal melatonin, only 16 SG individuals and 12 NSG members collected the samples.

High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), by a validated in-house method performed by a commercial kit of a private laboratory, quantified serum AA and serotonin after plasma conservation. For serum AA, reference values were expressed in nmol/ml, according to age group; for serotonin dosages, the reference values proposed ranged from 30-200 ng/ml.

Plasma melatonin of the awake participants at 08:00 am and between 00:00-02:00 am was measured by a melatonin ELISA Kit MBS5389745 (Fitzgerald Industries International, Massachusetts – United States of America), able to detect direct melatonin in serum and plasma from 10-400 pg/ml, post-preservation by ethylenediamine tetraacetic acid and heparin.

The relationship between the peripheral values of the main AA of interest and their estimated cerebral influxes in the central nervous system was investigated as previous studies have shown that the brain influx of substrates for the cationic (γ^+ ; lysine, arginine, ornithine) and “large neutral” systems (LAT1; glutamine, histidine, isoleucine, leucine, methionine, PHE, threonine, TRP, TYR and valine) operate by similar principles of competitive inhibition.^{25,26}

Substrate competition can be expressed as an *apparent* K_{app} (μM), calculated for each AA as $K_{app} = K_m[1 + \sum_{i=1}^n C_i/K_i]$, where K_m is the classical Michaelis-Menten affinity constant for the AA of interest, C_i is the plasma concentration (μM) for each of the n competitors, and K_i is the classical affinity constant for that competitor (μM).

From AA profile surveyed in plasma, K_{app} values were calculated for each LAT1 substrate, except threonine, that did not constitute an object of specific interest in this research, using published Michaelis–Menten parameters.²⁵ From the obtained K_{app} values the

cerebral influxes (nanomoles per minute per gram of brain tissue) of the identified AA of the concurrent LAT1 group were computed as $Influx = V_{max}C/(K_{app}+C)$, where V_{max} and C are respectively the values of maximum transport velocity (nmol/g min) and plasma concentration (μ M) of each AA.

So, the laboratory results of this study were related to the results of the parallel study of Alves Júnior et al. (2022), which focused, as mentioned, on NMS.¹⁸

Statistics, research ethics and patient consent

Statistical analysis was performed using the R software (The R Foundation, Vienna – Austria). Considering the small sample size, the nonparametric test of Wilcoxon was preferred to Student's t-test in the case of numeric variables, and Fisher's exact test was applied to categorical data instead of χ^2 . Although the samples of SG and NSG were considerably matched for sex and age, these covariates were corrected using linear regression, as they could act as confounders in the analysis of some variables. The correlation between numerical variables was computed based on Pearson's correlation for normally-distributed variables and based on Spearman correlation when at least one of the variables presented non-Gaussian distribution. The association analysis involving at least one categorical variable was performed using the Phi test. Gaussianity was assessed through the Shapiro-Wilks test and a Type I error level $\alpha=0.05$ was considered in all analyses.

While comparing pairs of variables, the differences in correlation or association between SG and NSG were investigated, after evaluating whether the correlation or association was significant in each separate group through the t-test (transformed to z-score) and the Phi test. If one variable was binary and the other numerical, the difference in correlation and effect size (e-size) was analyzed. In this case, the Spearman correlation between the numerical variable and the categorical binary variable converted to numerical was calculated for each group to verify these differences, and the difference between them was tested using the t-test on the transformed z-scores.

For comparing e-sizes, the Hedge difference was used, adjusted for small sample bias. Cliff's effect size test was used if the samples were not all normal.

The Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais approved the study (06803312.8.0000.5149), whose data collection was performed between March 2016 and November 2017. Signed informed consent was obtained from all participants.

Results

The main experiments carried out for SG and NSG in this study did not show significant change in the participants' demographics, compared to the previous study on NMS by Alves Júnior et al. (2022).¹⁸

NSG and SG individuals had similar mean values for all surveyed serum AA, serotonin ($p = 0.835$), daytime melatonin ($p = 0.736$) and nocturnal melatonin ($p = 0.908$).

A p -value of 0.015 (e -size = 0.94) was found specifically for the estimated cerebral influx of PHE, with mean(sd), in nmol/ml, of 11.98(0.8) and 12.71(0.8) for NSG and SG, respectively. For the comparison between NSG ($n = 14$) and SG individuals that used L-Dopa ($n = 9$), the test of different means for this same variable also showed a significant difference with mean(sd) = 11.98(0.8) and 12.84(0.7) respectively (p -value = 0.012 and e -size = 1.16). Similarly, the experiment between the total of individuals who did not use L-Dopa and the L-Dopa users also showed a higher PHE brain estimated concentration in subjects who used L-Dopa (respectively 12.19 and 12.84, $p = 0.040$, e -size = 0.81).

The mean(sd) of PHE/TYR ratio were 1.03(0.2) and 1.11(0.2) for NSG and SG, respectively ($p = 0.296$, e -size = 0.4). For this ratio, comparing the individuals with the genetic variation who used psychotropic drugs other than L-Dopa ($n = 9$) versus individuals with the genetic variation who did not use other psychotropic drugs ($n = 8$), the mean(sd) was 1.03(0.1) and 1.21(0.2), respectively (p -value = 0.045, e -size = 1.09). For the comparison between individuals with the genetic variation who did not use L-Dopa and used other psychotropic drugs ($n = 4$) versus individuals with the genetic variation who used L-Dopa and did not use other psychotropic drugs ($n = 4$), the test of different means for this ratio showed a mean(sd) = 0.99(0.1) and 1.28(0.2), respectively, with a borderline p -value = 0.051 and e -size = 1.92.

For the experiment between SG individuals who did not use L-Dopa and L-Dopa users, the serum means of TRP 62.45(4.6) versus 54.62(9.4) ($p = 0.046$, e -size = -1.04) also showed statistically significant differences.

A comparative analysis between the 20 individuals not using L-Dopa (from the total sample) and the 8 L-Dopa users, for measured nocturnal melatonin, showed that individuals who did not use that dopaminergic agent would be close to having statistically higher nocturnal melatonin levels than the L-Dopa group, with mean(sd) = 160.76(21.7) versus 132.06(49.3) pg/ml, respectively ($p = 0.063$, e -size = -0.91). In this sense, a lower nocturnal

melatonin mean in individuals using L-Dopa was also detected in the comparative analysis between the 8 SG individuals who did not use L-Dopa and the 8 SG individuals who used L-Dopa, now with statistical significance (mean(sd) = 165.79(20.3) versus 132.06(49.3) pg/ml, p-value = 0.031, e-size = -0.9).

Table 1 expresses some other statistically significant differences, or borderline to significance, when comparing the values of serum AA or their brain influxes.

Table 1: Contingency of participants and p-value/e-size, by categorical variables of amino acids dosed in some (sub)groups of experiments, in nmol/ml, according to the use of psychotropic drugs

Variable	Experiment (sub)groups G1(n) x G2(n)	Mean(sd) G1 x G2	p-value/ e-size
PHE	NSG(14) x SG NLDOPA(8)	66.95(11.1) x 74.1(5.6)	0.059/0.75
TYR	SG PSYCH DRUG(9) x SG NPSYCH DRUG(8)	70.53(7.8) x 59.9(12.0)	0.054/-1.07
TYR	SG LDOPA PSYCH DRUG(5) x SG LDOPA NPSYCH DRUG(4)	68.22(9.2) x 52.10(8.3)	0.029 /-1.82
TRP		59.34(8.7) x 48.73(7.1)	0.083/-1.32
INF TYR		4.96(0.6) x 4.13(0.6)	0.085/-1.37
GLU	SG LDOPA PSYCH DRUG(5) x SG NLDOPA NPSYCH DRUG(4)	85.22(32.2) x 46.95(20.0)	0.066/-1.38
GLU	SG NLDOPA PSYCH DRUG(4) x	97.58(30.5) x 46.95(20.0)	0.038 /-1.96
PHE INF	SG NLDOPA NPSYCH DRUG(4)	12.02(0.8) x 13.1(0.6)	0.083/1.49
TRP	SG NLDOPA PSYCH DRUG(4) x SG LDOPA NPSYCH DRUG(4)	64.05(3.0) x 48.73(7.1)	0.016 /-2.81
TYR		73.42(5.2) x 52.10(8.3)	0.007 /-3.08
PHE		72.50(3.7) x 65.58(4.9)	0.069/-1.59
TYR INF	SG LDOPA NPSYCH DRUG(4) x SG NLDOPA NPSYCH DRUG(4)	4.89(0.3) x 4.13(0.6)	0.086/-1.53
TYR		52.10(8.3) x 67.70(10.2)	0.056/1.68
TRP		48.73(7.1) x 60.85(5.7)	0.039 /1.88
PHE		65.58(4.9) x 75.70(7.3)	0.068/1.62
ILE INF		3.56(0.1) x 3.02(0.3)	0.026 /-2.38
LEU INF		12.29(0.3) x 11.56(0.5)	0.042 /-1.92
VAL INF		2.46(0.2) x 2.21(0.1)	0.050 /-1.74

Where: G1: group 1, G2: group 2, n: sample number, sd: standard deviation, NSG: non-Segawa group (individuals without the genetic variation), SG LDOPA: individuals with the genetic variation who used L-Dopa; SG PSYCH DRUG: individuals with the genetic variation who used psychotropic drugs other than L-Dopa, SG NPSYCH DRUG: individuals with the genetic variation who did not use other psychotropic drugs, SG LDOPA PSYCH DRUG: individuals with the genetic variation who used L-Dopa and other psychotropic drugs, SG LDOPA NPSYCH DRUG: individuals with the genetic variation who used L-Dopa and did not use other psychotropic drugs, SG NLDOPA PSYCH DRUG: individuals with the genetic variation who did not use L-Dopa and used other psychotropic drugs, SG NLDOPA NPSYCH DRUG: individuals with the genetic variation who did not use L-Dopa or other psychotropic drugs, INF: estimated brain influx, PHE: phenylalanine, TYR: tyrosine, TRP: tryptophan, GLU: glutamic acid, ILE: isoleucine, LEU: leucine, VAL: valine.

Relevant and statistically significant results ($p \leq 0.05$) of the analysis of correlation/association between pairs of the studied variables, considering all sample, are presented in Table 2.

Table 2: Some correlation/association test between studied variables with $p\text{-value} \leq 0.05$

Status	Variables	n	Mean(sd)	Test	P-value
ASS	DAY MEL and CURR MDE	A = 33, P = 5	156.99(27.2), 184.73(14.2)	t = -3.35	0.007
ASS	DAY MEL and RECURR MDE	A = 28, P = 10	154.34(29.2), 176.42(15.5)	t = -2.74	0.010
CORR	NOCT MEL and DAY MEL	n = 28	-	$\rho = 0.51$	0.006
CORR	TYR and PHE	n = 31	-	r = 0.54	0.002
CORR	TYR and TYR INF	n = 31	-	r = 0.8	0.000
CORR	TRP and PHE	n = 31	-	r = 0.5	0.004
CORR	TRP and TRP INF	n = 31	-	r = 0.57	0.001

Where: n: sample number, A: absent, P: present, sd: standard deviation, ASS: association, CORR: correlation, DAY MEL: daytime melatonin, CURR MDE: current major depressive episode, RECURR MDE: recurrent major depressive episode, NOCT MEL: nocturnal melatonin, TYR: tyrosine, PHE: phenylalanine, INF: estimated brain influx, TRP: tryptophan, r: Pearson correlation, ρ : Spearman correlation.

The most relevant results of the analysis of the correlation/association differences between variables compared for some (sub)groups in experiments with $p\text{-value} \leq 0.05$ are shown in Table 3.

Table 3: Analysis of the correlation/association differences between relevant variables compared for some (sub)groups in experiments with $p\text{-value} \leq 0.05$

(ongoing)

Status	Variables	n	Test	p-value
FOR SG in G1: NSG x G2: SG				
CORR	RECURR MDE and PHE/TYR	17	$\rho = -0.53$	0.029
CORR	PAST MDE and PHE/TYR	17	$\rho = -0.54$	0.026
CORR	PAST MDE and TYR INF	17	$\rho = 0.59$	0.014
CORR	WHOQOL-BREF SCORE and TYR INF	17	$r = -0.53$	0.029
CORR	PSQI and NOCT MEL	16	$\rho = -0.5$	0.046
CORR	DAY MEL and TRP	17	$\rho = 0.58$	0.014
CORR	TYR and TRP	17	$r = 0.56$	0.019
CORR	TYR and PHE	17	$r = 0.53$	0.030
CORR	TYR and TYR INF	17	$r = 0.76$	0.000
CORR	TRP and TRP INF	17	$r = 0.69$	0.002
FOR LDOPA in G1: NLDOPA x G2: LDOPA				
CORR	PAST MDE and TYR INF	9	$\rho = 0.69$	0.039
CORR	WHOQOL-BREF SCORE and NOCT MEL	8	$\rho = 0.74$	0.036
CORR (DIFF)	BDI-II SCORE and PSQI	9	$\rho = 0.88$	0.002
	(Correlation computed for group 1)	29	$\rho = 0.17$ t-test for diff of z transformed correlations	0.008
CORR (DIFF)	BDI-II SCORE and PHE	9	$\rho = 0.73$	0.026
	(Correlation computed for group 1)	22	$r = -0.22$ t-test for diff of z transformed correlations	0.014
CORR	ESS CAT and NOCT MEL	8	$\rho = -0.87$	0.005
CORR (DIFF)	5-HT and PHE INF	9	$r = 0.76$	0.017
	(Correlation computed for group 1)	22	$\rho = -0.03$ t-test for diff of z transformed correlations	0.028
CORR	NOCT MEL and DAY MEL	8	$\rho = 0.76$	0.037
CORR (DIFF)	DAY MEL and TRP	9	$r = 0.78$	0.017
	(Correlation computed for group 1)	22	$r = 0.13$ t-test for diff of z transformed correlations	0.048
CORR	DAY MEL and PHE INF	9	$\rho = -0.72$	0.037
CORR (DIFF)	DAY MEL and TRP INF	9	$\rho = 0.82$	0.011
	(Correlation computed for group 1)	22	$r = 0.05$ t-test for diff of z transformed correlations	0.019
CORR	TYR and TRP	9	$r = 0.67$	0.049
CORR	TYR and TYR INF	9	$r = 0.78$	0.013
CORR	TRP and TRP INF	9	$r = 0.75$	0.021
CORR	PHE INF and TRP INF	9	$r = -0.71$	0.032

				(ongoing)
Status	Variables	n	Test	p-value
G1: NLDOPA x G2: LDOPA				
CORR DIFF	5-HT and NOCT MEL	20	$\rho = 0.19$	0.032
	(Correlation computed for group 1)	8	$\rho = -0.71$	
	(Correlation computed for group 2)		t-test for diff of z transformed correlations	
CORR DIFF	WHOQOL-BREF SCORE and ESS CAT	29	$\rho = 0.33$	0.002
	(Correlation computed for group 1)	9	$\rho = -0.78$	
	(Correlation computed for group 2)		t-test for diff of z transformed correlations	
ASS DIFF	PAST MDE and ESS CAT	29	-0.32	0.037
	(Association computed for group 1)	9	0.55	
	(Association computed for group 2)		Phi test	
ASS DIFF	ESS CAT and PSQI	29	-0.27	0.049
	(Association computed for group 1)	9	0.55	
	(Association computed for group 2)		Phi test	
FOR SG NLDOPA in G1: SG NLDOPA x G2: SG LDOPA				
CORR (DIFF)	PAST MDE and BDI-II SCORE	8	$\rho = 0.85$	0.008
	(Correlation computed for group 2)	9	$\rho = -0.13$	0.024
			t-test for diff of z transformed correlations	
CORR	PAST MDE and PHE	8	$\rho = -0.85$	0.008
CORR	PSQI and NOCT MEL	8	$\rho = -0.73$	0.039
CORR	ESS CAT and PHE/TYR	8	$\rho = 0.73$	0.039
CORR (DIFF)	TYR and TRP INF	8	$r = -0.77$	0.026
	(Correlation computed for group 2)	9	$r = 0.35$	0.023
			t-test for diff of z transformed correlations	
FOR SG LDOPA in G1: SG NLDOPA x G2: SG LDOPA				
CORR	PAST MDE and TYR INF	9	$\rho = 0.69$	0.039
CORR	WHOQOL-BREF SCORE and NOCT MEL	8	$\rho = 0.74$	0.036
CORR (DIFF)	BDI-II SCORE and PSQI	9	$\rho = 0.88$	0.002
	(Correlation computed for group 1)	8	$\rho = -0.17$	0.011
			t-test for diff of z transformed correlations	
CORR (DIFF)	BDI-II SCORE and PHE	9	$\rho = 0.73$	0.026
	(Correlation computed for group 1)	8	$r = -0.59$	0.008
			t-test for diff of z transformed correlations	

(ongoing)				
Status	Variables	n	Test	p-value
CORR (DIFF)	ESS CAT and NOCT MEL	8	$\rho = -0.87$	0.005
	(Correlation computed for group 1)	8	$\rho = 0.06$	
			t-test for diff of z transformed correlations	0.027
CORR	NOCT MEL and DAY MEL	8	$\rho = 0.76$	0.037
CORR	DAY MEL and TRP	9	$\rho = 0.78$	0.017
CORR	DAY MEL and PHE INF	9	$\rho = -0.72$	0.037
CORR (DIFF)	DAY MEL and TRP INF	9	$\rho = 0.82$	0.011
	(Correlation computed for group 1)	8	$r = -0.16$	
			t-test for diff of z transformed correlations	0.025
CORR	TYR and TRP	9	$r = 0.67$	0.049
CORR	PHE INF and TRP INF	9	$r = -0.71$	0.032
G1: SG NLDOPA x G2: SG LDOPA				
CORR DIFF	PSQI and 5-HT	8	$\rho = -0.63$	
	(Correlation computed for group 1)	9	$\rho = 0.48$	
	(Correlation computed for group 2)		t-test for diff of z transformed correlations	0.038
CORR DIFF	ESS CAT and TRP	8	$\rho = 0.85$	
	(Correlation computed for group 1)	9	$\rho = -0.17$	
	(Correlation computed for group 2)		t-test for diff of z transformed correlations	0.002
FOR SG NLDOPA in G1: NSG x G2: SG NLDOPA				
ASS	RECURR MDE and PAST MDE	8	$\Phi = 0.77$	0.024
CORR	PAST MDE and BDI-II SCORE	8	$\rho = 0.85$	0.008
CORR (DIFF)	WHOQOL-BREF PSYCHOD SCORE and PHE	8	$\rho = 0.79$	0.021
	(Correlation computed for group 1)	14	$\rho = -0.05$	
			t-test for diff of z transformed correlations	0.039
CORR	PSQI and NOCT MEL	8	$\rho = -0.73$	0.039
CORR (DIFF)	ESS CAT and PHE/TYR	8	$\rho = 0.73$	0.039
	(Correlation computed for group 1)	14	$\rho = -0.28$	
			t-test for diff of z transformed correlations	0.024
CORR	ESS CAT and TRP	8	$\rho = 0.85$	0.008
CORR (DIFF)	ESS CAT and TYR INF	8	$\rho = -0.85$	0.008
	(Correlation computed for group 1)	14	$\rho = 0.31$	
			t-test for diff of z transformed correlations	0.004
CORR	TYR and TRP INF	8	$r = -0.77$	0.026
FOR NSG in G1: NSG x G2: SG NLDOPA				
CORR	PAST MDE and BDI-II SCORE	21	$\rho = 0.54$	0.012

(ongoing)				
Status	Variables	n	Test	p-value
FOR SG LDOPA in G1: NSG x G2: SG LDOPA				
CORR	PAST MDE and TYR INF	9	$\rho = 0.69$	0.039
CORR	WHOQOL-BREF SCORE and NOCT MEL	8	$\rho = 0.74$	0.036
CORR (DIFF)	BDI-II SCORE and PSQI	9	$\rho = 0.88$	0.002
	(Correlation computed for group 1)	21	$\rho = 0.26$ t-test for diff of z transformed correlations	0.020
CORR (DIFF)	BDI-II SCORE and PHE	9	$\rho = 0.73$	0.026
	(Correlation computed for group 1)	14	$r = -0.14$ t-test for diff of z transformed correlations	0.035
CORR	ESS CAT and NOCT MEL	8	$\rho = -0.87$	0.005
CORR (DIFF)	5-HT and PHE INF	9	$r = 0.76$	0.017
	(Correlation computed for group 1)	14	$r = -0.10$ t-test for diff of z transformed correlations	0.031
CORR	NOCT MEL and DAY MEL	8	$\rho = 0.76$	0.037
CORR (DIFF)	DAY MEL and TRP	9	$\rho = 0.78$	0.017
	(Correlation computed for group 1)	14	$r = 0.03$ t-test for diff of z transformed correlations	0.044
CORR	NOCT MEL and PHE INF	9	$\rho = -0.72$	0.037
CORR (DIFF)	DAY MEL and TRP INF	9	$\rho = 0.82$	0.011
	(Correlation computed for group 1)	14	$r = 0.15$ t-test for diff of z transformed correlations	0.049
CORR	TRP and TRP INF	9	$r = 0.75$	0.021
CORR	PHE INF and TRP INF	9	$r = -0.71$	0.032
FOR SG NLDOPA PSYCH DRUG in G1: SG LDOPA PSYCH DRUG x G2: SG NLDOPA PSYCH DRUG				
CORR (DIFF)	PHE INF and TRP INF	4	$r = 0.99$	0.008
	(Correlation computed for group 1)	5	$r = -0.67$ t-test for diff of z transformed correlations	0.004
FOR SG LDOPA NPSYCH DRUG in G1: SG NLDOPA PSYCH DRUG x G2: SG LDOPA NPSYCH DRUG				
CORR (DIFF)	BDI-II SCORE and PHE INF	4	$r = 0.99$	0.006
	(Correlation computed for group 1)	4	$r = 0.06$ t-test for diff of z transformed correlations	0.047

				(conclusion)
Status	Variables	n	Test	p-value
CORR (DIFF)	NOCT MEL and DAY MEL	4	r = 0.98	0.021
	(Correlation computed for group 1)	4	r = -0.56	
			t-test for diff of z transformed correlations	0.039
CORR	PHE/TYR and TYR INF	4	r = -0.97	0.028
FOR SG LDOPA NPSYCH DRUG in G1: SG LDOPA NPSYCH DRUG x G2: SG NLDOPA NPSYCH DRUG				
CORR (DIFF)	BDI-II SCORE and PHE INF (Correlation computed for group 2)	4	r = 0.99	0.006
		4	r = -0.79	
			t-test for diff of z transformed correlations	0.005
CORR	NOCT MEL and DAY MEL	4	r = 0.98	0.021
CORR	PHE/TYR and TYR INF	4	r = -0.97	0.028
CORR	PHE INF and TRP INF	4	r = -0.97	0.033
FOR SG NLDOPA NPSYCH DRUG in G1: SG LDOPA NPSYCH DRUG x G2: SG NLDOPA NPSYCH DRUG				
CORR	NOCT MEL and DAY MEL	4	r = 0.96	0.041
CORR	PHE and PHE INF	4	r = 1	0.005

Where: n: sample number, SG: Segawa group (individuals with the genetic variation), NSG: non-Segawa group (individuals without the genetic variation), G1: group 1, G2: group 2, CORR: correlation, RECURR MDE: recurrent major depressive episode, PHE/TYR: phenylalanine/tyrosine ratio, PAST MDE: past major depressive episode, TYR: tyrosine, INF: influx, WHOQOL-BREF SCORE: total score of World Health Organization questionnaire of life - BREF instrument, PSQI: Pittsburgh Sleep Quality Index, NOCT MEL: nocturnal melatonin, DAY MEL: daytime melatonin, TRP: tryptophan, PHE: phenylalanine, LDOPA: individuals who used levodopa, NLDOPA: individuals who did not use levodopa, CORR (DIFF): correlation between variables for a group and difference of correlation between variables, BDI-II SCORE: score of Beck Depression Inventory II, 5-HT: serotonin, CORR DIFF: difference of correlation between variables, ASS DIFF: difference in association between variables, ESS CAT: Epworth sleepiness scale categories, SG NLDOPA: individuals with the genetic variation who did not use L-Dopa; SG LDOPA: individuals with the genetic variation who used L-Dopa; WHOQOL-BREF PSYCHOD SCORE: score of psychological domain in the WHOQOL-BREF; RECURR MDE: recurrent major depressive episode, SG NLDOPA PSYCH DRUG: individuals with the genetic variation who did not use L-Dopa and used other psychotropic drugs, SG LDOPA PSYCH DRUG: individuals with the genetic variation who used L-Dopa and other psychotropic drugs, SG LDOPA NPSYCH DRUG: individuals with the genetic variation who used L-Dopa and did not use other psychotropic drugs, SG NLDOPA NPSYCH DRUG: individuals with the genetic variation who did not use L-Dopa or other psychotropic drugs, r: Pearson correlation, ρ : Spearman correlation.

(Obs: O ANEXO H da presente tese apresenta todos os resultados para os testes de diferenças de média entre os grupos estudados, para cada variável, por experimento, e os resultados da análise de correlação/associação entre cada par de variáveis considerando toda a amostra).

Discussion and Conclusions

Related articles on this topic are scarce, so this study contributes with some important results. The slightly higher average estimated brain influx of phenylalanine in individuals with genetic variation ($p = 0.015$), also observed in L-dopa users ($p = 0.012$), had the potential to function in this large family as a biochemical screening marker for the genetic variation. L-dopa users had reduced mean levels of serum tryptophan ($p = 0.046$) and were related to lower nocturnal melatonin serum levels ($p = 0.031$) compared to those of individuals with the mutation who were not using L-dopa. This drug was also able to change correlations between pairs of variables in other similar experiments.

Except for glutamine, whose concentration is similar on both sides of the blood-brain barrier, the concentrations of all AA in brain extracellular and cerebrospinal fluids are at least ten times lower than plasma concentrations.²⁷⁻²⁹ This gradient and the transport of AA across the blood-brain barrier are regulated by AA transporters in both endothelial cell membranes.³⁰ The main mechanisms for the transport of the AA across the blood-brain barrier, especially the LAT1 and the y^+ systems, were considered in this study, as they play a central role in providing the brain with all the essential AA.^{25,31,32} It is relevant to consider that, for both systems, AA substrates compete for entry into the brain and the brain uptake of each AA is influenced by the environmental concentrations of its competitors in the group. Some of these AA are neurotransmitters or its precursors, such as TYR, a precursor of catecholamine (L-Dopa), and TRP, a precursor of serotonin, both involved in AD DYT/PARK-*GCH1*.

Based on the GTP cyclohydrolase-1 deficiency, many authors have proposed a PHE oral loading procedure as a diagnostic tool for this DRD, whose reliability is adequate, especially if a biopterin analysis is available.^{33,34} As in many localities pterins and even neurotransmitter dosages are unavailable in cerebrospinal fluid or other samples, other non-invasive and reliable tools for this biochemical diagnosis of AD DYT/PARK-*GCH1* are desired.

In this study, compared to individuals in the NSG, the little higher average of PHE estimated brain influx in SG individuals ($p = 0.015$), also observed in L-Dopa users ($p = 0.012$), probably had no clinical significance, but can be suggested as a diagnostic biochemical marker.

Regarding the PHE/TYR ratio (both variables were correlated, $p = 0.002$), out of a context of a PHE oral loading procedure, the mean value for the SG versus NSG

demonstrated no statistical difference. Nevertheless, at least two results of highlighted experiments showed that the use of psychotropic drugs to treat NMS, without L-Dopa treatment, could also indicate that the presence of NMS, without L-Dopa use, would be related to a lower value of the PHE/TYR ratio, when compared to individuals who did not have NMS and, therefore, did not receive the psychotropic drugs. Additionally, as observed in Table 3, in the experiment NSG versus SG, for SG there was a negative correlation between the occurrence of recurrent and PAST MDE and PHE/TYR ratio ($p = 0.029$ and 0.026), which means, in the individuals with this NMS, a lower value for this ratio was found.

Most protein sources of importance for human nutrition have a low TRP content, with minimal TRP obtained from the diet through protein synthesis.³⁵ Additionally, only a small part of TRP crosses the blood-brain barrier. So, the main determinant of brain concentrations of TRP and serotonin appears to be the proportion of this AA to other neutral plasma AA (i.e., TYR, PHE, leucine, isoleucine, and valine), which compete with it for absorption into the brain, and especially, another metabolic pathway (the synthesis of kynurenine), that accounts for approximately 90% of TRP metabolism.³⁶

However, in this study, individuals with the genetic variation who used L-Dopa had significantly reduced mean levels of TRP compared to individuals with the mutation who did not have this replacement ($p = 0.046$), including when analyzing the SG individuals who did not use other psychotropic drugs ($p = 0.039$). These data could be explained by compensatory mechanisms of inhibition of the pathway by L-Dopa.³⁷ The external L-Dopa use could increase the proportional levels of TYR that would be more available for competition with other neutral plasma AA, such as TRP, in its transporter system. Table 2 also shows that TRP is correlated to PHE ($p = 0.004$) and TRP influx ($p = 0.001$). Besides, TYR and PHE are correlated in this study. The already cited higher average PHE estimated brain influx in SG individuals ($p = 0.015$) of this study, also observed in individuals in the group using L-Dopa ($p = 0.012$), compared to individuals in the NSG, could contribute to the understanding of a compensatory mechanism of inhibition of this pathway additionally.

According to Table 3, if compared to individuals without the mutation, the SG individuals presented the mean serum levels of PHE, TYR and TRP positively correlated with each other, in this order (with p values 0.030 and 0.019 , respectively). The means of these last two AA were also correlated with their estimated brain inflows ($p = 0.000$ and $p = 0.002$, respectively) for the SG in this experiment.

Concerning the experiment between individuals who did not use L-Dopa and the L-Dopa users, for this second group, the means of serum TYR and TRP were correlated ($p =$

0.049), as were their estimated brain inflows means ($p = 0.013$ and 0.021 , respectively), but not the means of the PHE serum levels. It is noteworthy that for individuals who used this drug, in this experiment, only the influxes of PHE and TRP were negatively correlated; that is, increasing the average cerebral influx of one, the average cerebral influx of the other AA was reduced ($p = 0.032$).

According to Table 3, in the analysis of the NSG x SG experiment, for this second group, there was a positive correlation between the variables "TYR estimated brain influx" and "past major depressive episode" ($p = 0.014$) and a negative correlation between this brain influx and the score on the quality of life questionnaire ($p = 0.029$). It indicates that, when compared to individuals without the mutation, the individuals affected by this genetic variation with "past major depressive episode" presented higher estimated brain influx mean of TYR than the individuals without "past major depressive episode", and the higher this brain influx mean is, the lower is the quality of life mean of these individuals. Additionally, it is notable that this pair of variables (TYR estimated cerebral influx and the "past major depressive episode") was also positively correlated for the users of L-Dopa in the experiment between SG individuals who used L-Dopa, compared to SG individuals who did not use this medication ($p = 0.039$), and in the experiment between SG individuals who used L-Dopa, compared to NSG individuals ($p = 0.039$).

Serotonin is an important neurotransmitter responsible for the waking state of the human brain. In depression, anxiety and other affective disorders, serotonin-related alterations can be observed. Nevertheless, as the serum serotonin dosage lacks clinical significance, even its statistically significant findings would also lack clinical validity, not being focused on this discussion.

Great emphasis has recently been given to the study of the main hormone of the pineal gland, N-acetyl-5-methoxy-tryptamine, or melatonin, and its important role in photoperiodism. Synthesized from TRP as serotonin, melatonin has a characteristic nocturnal plasma spike that appears to be related to temporal information, such as the length of the night. Thus, in healthy individuals, the duration of melatonin secretion is a faithful representation of this nocturnal period and is believed to influence the circadian clock reciprocally through feedback to melatonin receptors in the central nervous system.^{38,39} In addition to marked circadian rhythmicity, melatonin levels show considerable inter-individual variation (including its nocturnal peak), which is also age-dependent. Even the nocturnal melatonin spike among healthy individuals varies significantly. Changes in the patterns and/or

levels of melatonin secretion have been related to sleep disorders, depression, stress, schizophrenia, anorexia nervosa, among others.

In this study, there is evidence relating the use of L-Dopa with lower mean levels of nocturnal melatonin. For the total of individuals who did not use L-Dopa, the higher mean nocturnal melatonin (21.73%) was different from the mean of melatonin of the L-Dopa users at $p = 0.063$, probably due to the sample difference between these groups, the limitation of their numbers, and the fact that this variable did not have a normal distribution. Showing that the hypothesis of a statistically significant association between a lower mean of nocturnal melatonin and L-Dopa users should not be excluded, a difference was statistically observed when analyzing the use of this medication within the SG itself (132.06×165.79 , $p = 0.031$), being this average in L-Dopa users reduced in 20.35% compared to SG that did not use L-Dopa.

In this sense, a negative correlation between the variables nocturnal melatonin and ESS category ($p = 0.005$) indicated that, when using L-Dopa, participants who had experienced excessive daytime sleepiness had an average of nocturnal melatonin lower than subjects with no daytime sleepiness. Concerning the experiment between SG individuals that did not use L-Dopa versus SG members that used this drug, for the second group, again a negative correlation was observed between the variables nocturnal melatonin and daytime sleepiness ($p = 0.005$), expressing that these individuals with excessive daytime sleepiness had lower means of nocturnal serum melatonin; nevertheless, in SG individuals who did not use L-Dopa, these variables were positively correlated.

According to Table 3, for SG individuals, compared to the NSG subjects, the lower the mean nocturnal melatonin levels, the higher the PSQI score mean obtained, which meant a worse quality of sleep for these individuals ($p = 0.046$). The SG individuals that did not use L-Dopa also showed a negative correlation for the variables nocturnal melatonin and PSQI ($p = 0.039$), compared to L-Dopa users, which means, in SG without L-Dopa, again the lower the average nocturnal melatonin, the higher the average score of this index, which meant a worse quality of sleep.

Additionally, for L-dopa users, compared to those who did not, there was a positive correlation between the mean score on the quality of life questionnaire and the mean of nocturnal melatonin serum dosage ($p = 0.036$). Also, comparing SG individuals that did not use L-Dopa versus SG members that used this drug, for L-Dopa users, the variables nocturnal melatonin and quality of life score were positively correlated ($p = 0.036$); thus, through the use of L-Dopa, the higher the nocturnal melatonin means a higher quality of life.

The regulation of melatonin secretion is under neural control; sympathetic innervation appears to play an important role through the release of noradrenaline, a neurotransmitter involved in the pathophysiological cascade of AD DYT/PARK-*GCH1*, and its treatment with L-Dopa. Furthermore, it is important to highlight that melatonin is an indirect marker of what happens to the cell. So, future studies may further the knowledge of the biologically plausible correlations between levels of L-Dopa use in individuals with Segawa disease and this possible reduction of their nocturnal melatonin levels, as well as the possible benefits of a melatonin intake for a better quality of life of these individuals.

Alves Júnior et al. (2022) showed that in SG participants who did not use L-Dopa, compared to L-Dopa users, the variables “past major depressive episode” and the severity of current depressive symptoms on the BDI-II were positively correlated; that is, a greater severity mean of current depressive symptoms was found in individuals with “past major depressive episode” ($p = 0.008$). However, from the moment L-Dopa was considered for these individuals, the correlation between these variables became negative; that is, a lower mean of current depressive symptom scores was now related to individuals with “past major depressive episode” ($p = 0.024$). It is noteworthy that, in the study of Alves Júnior et al. (2022), these SG members presented a higher prevalence of “past major depressive episode” than NSG ($p = 0.046$).¹⁸

In this same experiment, SG individuals that did not use L-Dopa presented a negative correlation between the variables “past major depressive episode” and the mean of serum PHE ($p = 0.008$), compared to SG members that used this drug, that is, those individuals without L-Dopa with past major depressive episode had lower serums means of this AA.

For L-Dopa users, an increased mean of serum PHE was positively correlated with a higher mean depressive score ($p = 0.026$), the main NMS reported in this group.¹⁸ This situation did not occur in the group of individuals who did not use L-Dopa, where this correlation was negative, i.e., the higher the mean serum PHE, the lower the mean score on the BDI-II ($p = 0.014$). It should be noted that this positive correlation between both variables only occurs in other experiments between the groups of individuals with and without the genetic variation conditioned to the use of L-Dopa. As reported, in the patients that used other psychotropic drugs than L-Dopa to treat NMS, a lower value of the PHE/TYR ratio was found compared to individuals who did not receive these drugs. Additionally, in the experiment between individuals who did not use L-Dopa and those who used this drug, for this second group, the means of serum TYR and TRP were correlated ($p = 0.049$), as were their estimated brain inflows means ($p = 0.013$ and 0.021 , respectively), but not the means of the PHE serum

levels. This could express a possible relationship in L-Dopa users (with motor symptoms or greater enzymatic damage) between a higher mean of serum PHE and depressive symptoms in those patients with the mutation.

Finally, it must be highlighted that, in the present work, the intrafamilial pairing of the groups was chosen to provide them with the most similar family factors, genetic profiles (except on the specific studied *GCH1* variation), and environmental variables. Therefore, the differences in prevalence for the studied events would be more likely to be associated with the AD DYT/PARK-*GCH1* variation.

In this study, some possible biases are the selection of tools that may not be considered diagnostic, the subjectivity of a self-assessment, the selection of intrafamilial groups, and the limited sample size of a rare disease. Additionally, for ethical reasons, the assessments were carried out without interrupting the use of medications by the studied individuals, as a real-life study.⁴⁰

The slightly higher phenylalanine estimated brain influx in individuals with the mutation as a diagnostic biochemical marker and the relations between levodopa use and lower serum nocturnal melatonin, among others, in affected individuals, must be deepened, as clinical repercussions of these findings may include benefits as a melatonin intake for a better quality of life. The L-Dopa users, even when compared to individuals with the mutation without this medication, commonly resulted, minimally, in correlation differences between important variables studied.

Acknowledgments

To the N. family.

Declaration of conflicting interests

All authors declare that there is no conflict of interest.

References

- 1 Segawa M, Ohmi K, Itoh S, et al. Childhood basal ganglia disease with marked response to L-Dopa: hereditary progressive basal ganglia disease with marked diurnal fluctuation. *Shinryo* 1972; 24: 667-672.

- 2 Nygaard TG, Marsden CD, Duvoisin RC. Dopa responsive dystonia. *Adv Neurol* 1988; 50: 377–384.
- 3 Marras C, Lang A, van de Warrenburg BP, et al. Nomenclature of genetic movement disorders: recommendations of the international Parkinson and movement disorder society task force. *Mov Disord* 2016 Apr; 31(4): 436–457. Crossref. PubMed.
- 4 Blau NH, Georg F. red. *Congenital neurotransmitter disorders – A clinical approach*. US, New York, NY: Nova Science Publishers Inc, 2015.
- 5 Malek N, Fletcher N, Newman E. Diagnosing dopamine-responsive dystonias. *Pract Neurol* 2015 Oct; 15(5): 340-345. Epub 2015 Jun 4. Crossref. PubMed.
- 6 Hagenah J, Saunders-Pullman R, Hedrich K, et al. High mutation rate in dopa-responsive dystonia: detection with comprehensive GCH1 screening. *Neurology* 2005 Mar 8; 64(5): 908-911. Crossref. PubMed.
- 7 Orphanet: The portal for rare diseases and orphan drugs (2022). Dopa-responsive dystonia. INSERM 2022. [Accessed on 10 January, 2022]. Available at: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=484&Disease_Disease_Search_diseaseType=ORPHA&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=255&Krankheite\(n\)/Krankheitsgruppe=DYT5&title=DYT5&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=484&Disease_Disease_Search_diseaseType=ORPHA&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=255&Krankheite(n)/Krankheitsgruppe=DYT5&title=DYT5&search=Disease_Search_Simple)
- 8 Segawa M. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. *Brain Dev* 2000 Sep; 22 Suppl 1: S65-80. Crossref. PubMed.
- 9 Nygaard TG, Takahashi H, Heiman GA, et al. Long-term treatment response and fluorodopa positron emission tomographic scanning of parkinsonism in a family with dopa-responsive dystonia. *Ann Neurol* 1992 Nov; 32(5): 603–608. Crossref. PubMed.
- 10 Weissbach A, Pauly MG, Herzog R, et al. Relationship of genotype, phenotype, and treatment in dopa-responsive dystonia: MDSGene Review. *Mov Disord* 2022 Feb; 37(2): 237-252.
- 11 Blau N, Thony B, Cotton RGH, et al. Disorders of tetrahydrobiopterin and related biogenic amines. 2001. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Vogelstein B (eds) *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. McGraw Hill, New York; pp.1725–1776.
- 12 Antelmi E, Stamelou M, Liguori R, et al. *Mov Disord Clin Pract* 2015 Jul 22; 2(4): 347-356. Crossref. PubMed.
- 13 Furukawa Y. GTP cyclohydrolase 1-deficient dopa-responsive dystonia. 2002 Feb 21 [updated 2019 Jan 24]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH,

- Stephens K, Amemiya A, editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; pp.1993–2020.
- 14 Tadic V, Kasten M, Brüggemann N, et al. Dopa-responsive dystonia revisited: diagnostic delay, residual signs, and nonmotor signs. *Arch Neurol* 2012 Dec; 69(12): 1558-1562. Crossref. PubMed.
 - 15 Hahn H, Trant MR, Brownstein MJ, et al. Neurologic and psychiatric manifestations in a family with a mutation in exon 2 of the guanosine triphosphate-cyclohydrolase gene. *Arch Neurol* 2001 May; 58(5): 749–755. Crossref. PubMed.
 - 16 Van Hove JLK, Steyaert J, Matthijs G, et al. Expanded motor and psychiatric phenotype in autosomal dominant Segawa syndrome due to GTP cyclohydrolase deficiency. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; 77(1): 18-23.
 - 17 Timmers ER, Kuiper A, Smit M, et al. Non-motor symptoms and quality of life in dopa-responsive dystonia patients. *Parkinsonism Relat Disord* 2017 Dec; 45: 57-62. Epub 2017 Oct 10.
 - 18 Alves Júnior AC, Daker MV, Machado AMC, et al. Neuropsychiatric and sleep study in autosomal dominant dopa-responsive dystonia. *Mol Genet Metab Rep* Jun 2022; Vol 31. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2022.100870>. Accessed on April 18, 2022.
 - 19 Souza CP, Valadares ER, Trindade ALC, et al. Mutation in intron5 of GTP cyclohydrolase 1 gene causes dopa-responsive dystonia (Segawa syndrome) in a Brazilian family. *Genet Mol Res* 2008; 7(3): 687-694.
 - 20 Amorim P. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. *Rev Bras Psiquiatr* 2000; 22(3): 106-115.
 - 21 Gomes-Oliveira MH, Gorenstein C, Lotufo Neto F, et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Beck Depression Inventory-II in a community sample. *Braz J Psychiatry* 2012 Dec; 34(4): 389-394. Crossref. PubMed.
 - 22 Beck AT, Steer RA, & Brown GK. Manual for the Beck Depression Inventory – II. San Antonio, TX, Psychological Corporation, 1996.
 - 23 Bertolazi AN, Fagundes SC, Hoff LS, et al. Validação da escala de sonolência de Epworth em português para uso no Brasil. *J Bras Pneumol* 2009; 35(9): 877-873.
 - 24 Bertolazi AN, Fagundes SC, Hoff LS, et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index. *Sleep Med* 2011; 12: 70-75.
 - 25 Strauss KA, Brumbaugh J, Duffy A, et al. Safety, efficacy and physiological actions of a lysine-free, arginine-rich formula to treat glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency: Focus

- on cerebral amino acid influx. *Mol Genet Metab* 2011 Sep-Oct; 104(1-2): 93–106. Epub 2011 Jul 12. Crossref. PubMed.
- 26 Smith QR, Stoll JS. Blood–brain barrier amino acid transport. in: W.M. Pardridge (Ed.), *Introduction to the Blood–Brain Barrier*, Cambridge: Cambridge University Press, 1998, pp.188–97.
 - 27 O'Kane RL, Hawkins RA. Na⁺-dependent transport of large neutral amino acids occurs at the abluminal membrane of the blood-brain barrier. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003 Dec; 285(6): E1167–E1173. Epub 2003 Aug 21. Crossref. PubMed.
 - 28 Hawkins RA, Viña JR, Mokashi A, et al. Synergism between the two membranes of the blood-brain barrier: Glucose and amino acid transport. *Am J Neurosci Res* 2013; 1: 1–25.
 - 29 Nałęcz KA. Solute carriers in the blood-brain barrier: safety in abundance. *Neurochem Res* 2017 Mar; 42(3): 795–809. Epub 2016 Aug 9. Crossref. PubMed.
 - 30 Valdovinos-Flores C, Gonsbatt ME. The role of amino acid transporters in GSH synthesis in the blood-brain barrier and central nervous system. *Neurochem Int* 2012 Aug; 61(3): 405–414. Epub 2012 May 24. Crossref. PubMed.
 - 31 Hawkins RA, Viña JR, Peterson DR, et al. Amino Acid Transport Across Each Side of the Blood–Brain Barrier. In: ed. J.P.F. D'Mello. *Amino Acids in Human Nutrition and Health*. CAB International, 2011, pp.191-214.
 - 32 Zaragozá R. Transport of Amino Acids Across the Blood-Brain Barrier. *Front Physiol* 2020 Sep 23; 11: 973. Crossref. PubMed.
 - 33 Opladen T, Okun JG, Burgard P, et al. Phenylalanine loading in pediatric patients with Dopa-responsive dystonia: revised test protocol and pediatric cut off values. *J Inherit Metab Dis* 2010 Dec; 33(6): 697-703. Epub 2010 Jul 29. Erratum in: *J Inherit Metab Dis*. 2010 Dec;33(6):811-2. Crossref. PubMed.
 - 34 Leuzzi V, Carducci C, Chiarotti F, et al. Urinary Neopterin and Phenylalanine Loading Test as Tools for the Biochemical Diagnosis of Segawa Disease. *JIMD Rep* 2013; 7: 67-75. Epub 2012 Apr 18. Crossref. PubMed.
 - 35 Keszthelyi D, Troost FJ, Masclee AAM. Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 1239–1249.
 - 36 Stone TW, Darlington LG. Endogenous kynurenines as targets for drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov* 2002; 1 :609–620.
 - 37 Müller U, Steinberger D, Topka H. Mutations of GCH1 in dopa-responsive dystonia. *J Neural Transm (Vienna)* 2002 Mar; 109(3): 321-328. Crossref. PubMed.

- 38 Brzezinski A. Melatonin in humans. *N Engl J Med* 1997 Jan 16; 336(3): 186-195. Crossref. PubMed.
- 39 Dubocovich ML, Rivera-Bermudez MA, Gerdin MJ, et al. Molecular pharmacology, regulation and function of mammalian melatonin receptors. *Front Biosci* 2003 Sep 1; 8: d1093-1108. Crossref. PubMed.
- 40 Saturni S, Bellini F, Braido F, et al. Randomized controlled trials and real life studies. Approaches and methodologies: a clinical point of view. *Pulm Pharmacol Ther* 2014 Apr; 27(2): 129-138. Epub 2014 Jan 24. Crossref. PubMed.

6.4 Artigo: “Clinical Challenges in Pregnant Women with Segawa Disease and Restless Legs Syndrome”

(Artigo original submetido em 23/09/2022 sob o número Manuscript ID RBGO-2022-0291, conforme quesitos editoriais, à Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, indexada ao Web of Science – ISI, PubMed/Medline e outros. Submissão disponível em URL: <https://mc04.manuscriptcentral.com/rbgo-scielo>)

Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia



Clinical Challenges in Pregnant Women with Segawa Disease and Restless Legs Syndrome

Journal:	<i>Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Case Report
Confirm the relevant theme about Gynecology and Obstetrics:	High Risk Pregnancy
Keyword:	Segawa syndrome, autosomal dominant, Dopamine-Responsive Dystonia, Pregnancy, Restless Legs Syndrome, Case Management

SCHOLARONE™
Manuscripts

Relato de Casos / Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia

Manuscript title: Clinical Challenges in Pregnant Women with Segawa Disease and Restless Legs Syndrome

Summary:

While autosomal dominant Segawa syndrome is rare, Restless Legs Syndrome (RLS) is the most common pregnancy movement disorder. The concomitance of these diseases in pregnancy is a clinical management challenge without known records in the literature. This article presents two primiparous cousins with this genetic dopamine-responsive dystonia (DRD). The second one had a more severe DRD phenotype and worsening RLS symptoms during pregnancy, requiring constant medication adjustments, supported by questionnaires to assess the severity of RLS, DRD, and depressive symptoms. Both cases had a vaginal delivery at term; babies were born with a small head circumference, followed by a notable catch-up of this index in the first month, had good development, and were breastfed. One of the barriers to facing these morbidities simultaneously during pregnancy is the definition of the levodopa dose when breastfeeding is desired. An interdisciplinary, systematic, and individualized care, coordinated by a Case Management technology, is helpful.

Keywords:

Segawa syndrome, autosomal dominant; Dopamine-Responsive Dystonia; Pregnancy; Restless Legs Syndrome; Case Management.

Introduction:

The syndrome of dopa-responsive dystonia (DRD) caused by the autosomal dominant variant in the guanosine triphosphate cyclohydrolase-1 gene (*GCH1*) (AD DYT/PARK-*GCH1*) can be characterized by the appearance of a progressive dystonia with a marked diurnal variation in childhood or adolescence.¹ Besides this early appearance of posture and motor locomotion disturbances, its motor symptoms can present simultaneous or late parkinsonism as the major or unique symptom in adults.² This DRD, also known as Segawa syndrome (OMIM # 128230), generally present a prompt and excellent response to low levodopa (L-dopa) dosages.¹

The scarcity of robust studies on the management of pregnancy in this DRD is still evident, as AD DYT/PARK-*GCH1* is a rare disease (1-9 cases per million people).^{3,4} Even a recent literature review by Young et al. (2020) focused on the management of gestation in Parkinson's disease, also treated with L-dopa, points out that standardized clinical guidelines for pregnant women with this most investigated illness, are not yet available.⁵

Methods:

These unprecedented case reports describe some clinical challenges of two primiparous cousins with DRD caused by a c.IVS5+3insT (c.626+3insT) mutation in *GCH1*, but also affected by the most common movement disorder in gestation, the Restless Legs Syndrome (RLS).^{6,7}

The Beck Depression Inventory-II (BDI-II), the International RLS Severity Rating Scale, and standardized classification of motor outcomes to DRD treatment were

1
2
3 systematized for use in this care,⁸⁻¹⁰ carried out by the Medical School of the Federal
4 University of Minas Gerais. The Case Management technology for patients with
5 complex chronic diseases, a Chronic Care Model tool, was also applied to plan,
6 monitor, and evaluate options for care and coordination of health care, according to the
7 needs of the person, providing quality and humanized care.¹¹

8
9
10
11
12
13
14
15 The Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais approved the
16 study under the number 06803312.8.0000.5149, performed between October 2020 and
17 May 2022. Signed informed consent was obtained from the patients, prior to their
18 inclusion in the study.

21 22 23 24 25 26 **Case description:**

27
28
29
30
31 **The first pregnant (P1)**, 35 years old, started with *DYT/PARK-GCHI*
32 symptoms at age 15 when, at the end of her birthday party waltz dance, her right foot
33 started to lock. From then on, P1 noticed that when she walked in high heels, her foot
34 was in an inversion position, which was manually reversed or through rest. Gradually,
35 this gait disturbance began to occur even without using high heels over long distances
36 and during swimming. At 18, L-dopa/carbidopa (60/6-250/25 mg/day) and paroxetine
37 (for panic disorder) were prescribed.

38
39
40
41
42
43
44
45
46
47 Around 30, P1 presented RLS symptoms in the left leg, and L-dopa/benserazide
48 (100/25 mg/day) was indicated to treat this syndrome and *DYT/PARK-GCHI*, with an
49 excellent motor response.

50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
At 18 gestational weeks (GW), sertraline 50 mg/day was prescribed for anxiety.
At 19 GW, due to fragmented care, P1 accessed this interdisciplinary team, when a Case
Management technology started in a hands-off format.¹¹ At that time, P1 presented a

mild RLS, regular neurological exam, and also regular prenatal tests. These prenatal exams included a fetal growth percentile around 50 (compatible with the parental pattern), according to an ultrasound examination performed by an obstetrician.

The spontaneous vaginal delivery occurred at 37.5 GW, with regional anesthesia, preeclampsia (pharmacologically treated blood pressure levels up to 220 x 110 mmHg), and occurrence of meconium-stained amniotic fluid. P1 baby girl presented Apgar 8/9 and the anthropometric measures/percentiles showed in Table 1.

Table 1. Monthly anthropometric measures/percentiles of the studied babies*

Babies	Measures	Birth	1 month	2 months	12 months
P1	Weight (g)	2732/12.51	3110/1.74	4475/14.92	9215/59.48
	Length (cm)	49/46.81	51/8.38	57/48.80	79/97.38
	HC (cm)	32/5.59	36/31.92	38.5/57.93	46/79.10
P2	Weight (g)	2780/15.15	3500/9.85	4380/11.51	-
	Length (cm)	45.5/2.50	49.0/0.82	54.0/6.55	-
	HC (cm)	32/5.59	36/31.92	38 cm/41.68	-

* Percentiles-for-age of the World Health Organization. Abbreviations: P1, Pregnant 1; P2, Pregnant 2; HC, Head circumference.

After delivery, P1 sertraline was increased to 100 mg/day for panic syndrome.

P1 baby received exclusive breastfeeding for up to six months. At twelve, she was still vigorously breastfed and presented adequate growth (Table 1) and development, when P1 RLS, *DYT/PARK-GCH1*, and depressive symptoms were controlled.

The second pregnant (P2), 38 years old, was one-year-old when progressive dystonia started leading to an incorrect diagnosis of spastic diplegia. At the age of 10

years, P2 was submitted to a posterior left tibial tenotomy. At 13, P2 showed lower limbs dystonia (with diurnal variation), mild axial dystonia, flatfeet, generalized hyperreflexia, and a “false” Babinski sign.⁶ P2 electromyography, brain tomography, and encephalic magnetic resonance showed unaltered results. A therapeutic trial with low-dose L-dopa/carbidopa (60/6 mg/day) confirmed the DRD clinical suspicion; later, a genetic test was positive.

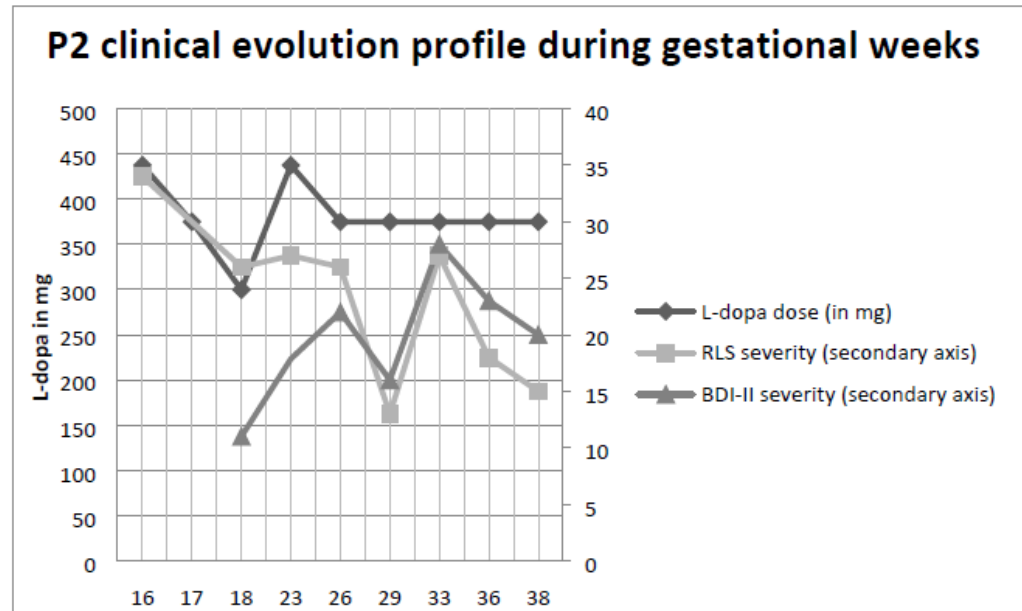
Around age 20, P2 presented first mild RLS symptoms.

At six GW, L-dopa/carbidopa was reduced from 187.5/18.7 to 125/12.5 mg/day, worsening RLS symptoms and sleep quality when zolpidem was initiated.

At 15 GW, different professionals prescribed L-dopa/benserazide (200/50 mg/day), oral iron, and vitamins, evidencing fragmented care.

So, at 16 GW, P2 presented very severe RLS and self-managed her prescription to a high L-dopa/carbidopa dosage. Interdisciplinary professional care was started, also coordinated by the Case Management technology in a hands-on format.¹¹ P2 regular neurological exam was regular and her serum ferritin level was 75.3 ng/ml.

A case manager monitored some non-pharmacological therapies (physical activities, massages, acupuncture and sleep hygiene - all with low adherence); the preferential L-dopa/carbidopa use over L-dopa/benserazide;¹² the adequacy of the L-dopa self-managed doses; the zolpidem suspension; and the introduction of low dose clonazepam. At 26 GW, P2 presented moderate depressive symptoms. Sertraline (100 mg/day) and a psychosocial approach were started, stabilizing RLS and depressive symptoms, as shown in Figure 1.

Figure 1. P2 clinical evolution profile during gestational weeks

Abbreviations: L-dopa, Levodopa; RLS, Restless Legs Syndrome; BDI-II, Beck Depression Inventory-II.

At 38 GW, four weekly iron intravenous infusions (ferric hydroxide saccharate, 200 mg) were initiated (ferritin 34.5 ng/ml) when P2 improved RLS symptoms.

With all regular prenatal ultrasounds, an induced vaginal delivery occurred at 39 GW, with Apgar 6/9, after regional anesthesia and 18 hours of labor. Table 1 also presented the P2 baby girl anthropometric measures/percentiles.

After delivery, due to the maternal desire to breastfeed, the low breast milk production, and the baby's inadequate weight gain, a gradual L-dopa/carbidopa reduction (from 375/37.5 up to half) and a milk formula were indicated.

Quickly, the lowest RLS severity score (8) was reached. Nevertheless, in three weeks, P2 RLS and depressive scores were severe (27 and 34, respectively). Gabapentin (300mg/day) to RLS (to prevent the increase in L-dopa dosage) and sertraline

(150mg/day) were prescribed successfully. Later, the L-dopa reduction to 150/15 mg/day was achieved, with minimal RLS and depressive symptoms.

With typical development, that four-month-old baby girl still receives breastfeeding and milk formula.

Discussion:

Mutations in the *GCHI* (HGNC ID: 4193)¹³ lead to a deficiency of the GTPCH 1 enzyme (EC nomenclature 3.5.4.16),¹⁴ which is one of the responsible for converting GTP into tetrahydrobiopterin (BH4). BH4 is an essential cofactor for the conversion of the amino acids phenylalanine, tryptophan, and tyrosine into, respectively, tyrosine, serotonin, and L-Dopa, the main replacement target in the DYT/PARK-*GCHI*.

In DYT/PARK-*GCHI* there is a typical absence of adverse motor effects of the long-term L-Dopa replacement therapy under optimal doses, such as “wearing-off” and “on-off” phenomena and dopa-induced dyskinesias.¹⁵ Also for this reason, by consensus, L-Dopa replacement is the therapeutic basis and first-line treatment in this DRD.^{10,15,16}

How pregnancy affects this DRD (or vice-versa) remains unclear. Different authors reported previously case reports of Segawa syndrome in pregnancy with complications, such as stillbirth, failure to progress, and spontaneous miscarriage.¹⁷⁻¹⁹

Nevertheless, for Trender-Gerhard et al. (2009) a favorable evolution of pregnancy was expected in AD DYT/PARK-*GCHI*, as observed in 20 women with no fetal abnormalities identified.²⁰ Ten years later, the review on this DRD by Furukawa (2019) also indicated that L-dopa therapy is usually continued during pregnancy without adverse effects in most cases, and the perinatal and postnatal periods are described as

normal, as the early motor development.¹⁵ In its general aspects, this favorable evolution is observed by this moment in both reported cases, especially in P1 as her baby has already 1 year old.¹⁵

Natural labor was strongly desired by both pregnant women. As the diagnosis of AD DYT/PARK-*GCHI* would not contraindicate vaginal delivery, the delivery by cesarean section could be reserved for obstetric indications only.

As one of the principal features of Segawa syndrome is the complete return to normal function, with the absence of any dystonic manifestations after the onset of treatment with low L-dopa dosages, some authors published that this clinical situation was not associated with any additional risk for anesthesia.^{21,22} Recently, other authors highlighted that successful anesthetic management of patients with this DRD, similarly to patients with Parkinson's disease, still poses significant challenges. Kaur et al. (2020) point out that dystonia can increase the risk of respiratory and cardiovascular complications and lead to difficulty in mask ventilation and intubation.²³ Additionally, patients with prolonged L-dopa treatment are more prone to dehydration (due to nausea and vomiting caused by L-dopa) and hypovolemia, and dopamine excess may increase myocardial contractility and heart rate, causing increased blood pressure.²³ For Hazan et al. (2017), dystonic symptoms should be optimized, interruption of oral L-dopa administration minimized, potential worsening of dystonia with dopamine receptor antagonist noted, and muscle relaxation reversed completely before extubation.²⁴ Either general or regional anesthesia can be appropriate for patients with Segawa syndrome.²¹⁻

23

The incomplete penetrance of AD DYT/PARK-*GCHI* is related to gender (higher penetrance in females). The recent review on DRD by Weissbach et al. (2021) showed a female predominance (67%) in AD DYT/PARK-*GCHI* individuals,

1
2
3 accompanied by a lower median age of onset and more dystonia in women than in men,
4
5 aspects also observed in the previously cited study of P1 and P2 family.^{16,6}
6

7
8 As this DYT/PARK-*GCH1* is an autosomal dominant inheritance, affected
9
10 individuals commonly have one parent affected by this DRD or by adult-onset
11
12 parkinsonism caused by a pathogenic variant of *GCH1*, and each child of an individual
13
14 with AD DYT/PARK-*GCH1* has 50% chance of inheriting the pathogenic variant. Due
15
16 to the gender-related incomplete penetrance, it is not possible to predict whether
17
18 offspring with a pathogenic variant *GCH1* will develop symptoms. Nevertheless, as
19
20 family planning before pregnancy should be the ideal time to determine genetic risk and
21
22 discuss the availability of prenatal testing, this genetic counseling was offered at that
23
24 time to these women.¹⁵ Both pregnancies were planned and desired, but the possibility
25
26 of prenatal or even postnatal testing in her babies was not considered by both mothers.
27
28

29
30 The concomitance of RLS and DYT/PARK-*GCH1* stood out in both cases.
31
32 Recently renamed as Willis-Ekbom disease, RLS is characterized by unpleasant
33
34 sensations in the legs that typically occur before sleep onset, causing an almost
35
36 irresistible urge to move the legs.²⁵
37
38

39
40 In addition to RLS being the most common movement disorder that affects
41
42 pregnancy, gestation is a risk factor for RLS itself.⁷ In pregnancy, its prevalence can
43
44 vary between 1-30%.²⁶⁻²⁸ Comorbidities such as panic disorder, anxiety, major
45
46 depression, and the use of various psychotropic medications, were observed in the
47
48 clinical history of these reported patients and are important factors that can induce and
49
50 worsen RLS symptoms.^{29,30} Depression can also be a non-motor symptom related to AD
51
52 DYT/PARK-*GCH1*, and L-dopa treatment can influence it.³¹ Although there is no
53
54 known direct association between RLS and DYT/PARK-*GCH1*, a possible brain iron
55
56 deficiency and its consequent dysfunction in dopamine transmission (the same
57
58
59
60

neurotransmitter affected in AD DYT/PARK-*GCHI*) is highlighted as a pathophysiological basis for RLS, justifying the RLS response to dopaminergic agents.³⁰

On the other hand, RLS during pregnancy is a risk factor for developing negative consequences for women, including insomnia, birth complications, and mood disorders, as observed in P2.³²

P1 presented RLS diagnosis before pregnancy, with good clinical evolution of RLS symptoms during gestation. Low doses of L-Dopa already used for DYT/PARK-*GCHI* were enough to control RLS³² and the DRD without clinical aggravation.

During pregnancy, P2 presented RLS symptoms in an almost classic route. Her RLS symptoms stood out earlier (at the moment of L-Dopa dose reduction), and not as in the most common second trimester, reached a peak in the third trimester and plateau in her last month of pregnancy.³³⁻³⁵ As the majority of pregnant mothers with RLS, P2 experienced moderate to severe symptoms.³⁶⁻³⁸ A significant transitory resolution of P2 symptoms occurred by the delivery time (as in approximately 70% of patients).³⁹

Many possible non-pharmacological therapies were implemented for P2 (with limitations on adhesion), also to improve the pattern and quality of sleep, essential for preventing preterm labor in these cases. As in P1, L-dopa, already used by P2 to DYT/PARK-*GCHI*, was the rational choice for RLS symptoms treatment during pregnancy.^{30,32}

According to the prospective case series of Dostal et al. (2012), there was no increased risk above baseline for major malformations or other adverse outcomes for L-dopa as the first choice in the treatment of RLS.⁴⁰ From 38 exposed pregnancies, the numbers of live-born children/spontaneous abortions/induced abortions/malformations were 29 (one pair of twins)/3/7/3, respectively.⁴⁰ No major birth defect was found with

even with other pharmacological treatment for RLS, and the three infants exposed to L-dopa had minor anomalies.⁴⁰ Similar outcomes were found in the systematic review of Young et al. (2020) that indicate no excess rates of miscarriage, stillbirth, or congenital deformity among the pregnant women group that used L-dopa compared with the general population.⁵

For some authors L-dopa monotherapy is preferable to combination therapy with carbidopa or benserazide. Nevertheless, due to the inaccessibility of these pregnant women to the pharmaceutical formulation with monotherapy, L-dopa in association with carbidopa, preferably,³⁰ and even with benserazide was sometimes used.

As iron deficiency may be involved in the pathogenesis of RLS,⁴¹ with partial improvement of P2, oral (and intravenous) iron supplementation was used especially by serum ferritin $\leq 75 \mu\text{g/L}$.^{30,32,42} The intravenous formula seemed more effective, although a symptom improvement could be observed for other reasons at that final gestation time.³⁹ According to the literature, occasionally, a low dosage of benzodiazepine (clonazepam) was also used at night as a second-line treatment for RLS, seeking to protect the patient's sleep during periods of more severe manifestation of RLS symptoms.³²

P1 and P2 babies were born with low HC percentiles, which presented remarkable catch-up, already in the first month. P1 and P2 were the only women from that genetically affected family to receive L-dopa during pregnancy and puerperium. Another HC evolution similar to the P1 and P2 babies was not observed in the follow-up of the other babies affected or not by the mutation in the family. It could suggest the need for additional studies to exclude the possibility of a uterus environmental factor, such as medicine use, not reported in L-dopa use.

The other anthropometric percentiles of P1 and P2 babies decreased in the first month, recovering later. P2 baby, born of a mother with a more severe DRD phenotype and RLS, and longer DRD diagnostic and treatment delay, also had a shorter length, with a smaller catch-up in the second month. It's known that the heterozygous mutation in *GCHI* causes a partial deficiency of BH4 that affects tyrosine hydroxylase (TH) selectively, decreasing TH in the terminals of the nigrostriatal dopamine neurons, and projecting, among others, to the D4 receptors of the tuberoinfundibular tract.¹ It's also known that TH deficiency on the D4 receptors causes stagnation of the body length in childhood and the activities of TH in the terminal are high in early childhood and decrease exponentially later.¹ Further understanding is needed, as these babies showed adequate fetal growth while undergoing uterine exposure to L-dopa and their genetic conditions are not known.

Although Young et al. (2020) had registered uterus exposure to L-dopa in a maximum dose of 100-4,000 mg/day with favorable outcomes in terms of live births, spontaneous abortion, and no major fetal abnormalities, P2 needed higher doses (Graphic 1) than those usually idealized in the literature for RLS (100–200 mg/day).^{5,30,32} So, the management of the rebound and augmentation phenomena was continually observed by the case manager.³⁰

Aware of the relative pediatric safety of L-dopa use by nursing mothers in the literature,^{7,43} since the plasma and breast milk L-dopa concentrations in a single study estimated a low level of exposure (0.016–0.023 mg/kg/day),⁴⁴ the reported lactating women and their health team also were determined to allow breastfeeding. Despite a biologically plausible difficulty in producing milk due to the inhibition of prolactin production by L-dopa,^{7,33,45} P1 and P2 are included among a very limited number of

women with DYT/PARK-*GCHI* that were successful in breastfeeding, even with the use of dopaminergic agents.⁵

Good outcomes can be achieved even in the dynamic and challenger pregnancy and puerperium of women with DYT/PARK-*GCHI* and RLS, through the applying of the Case Management technology for interdisciplinary, systematized, and individualized care.

Conflict of Interests

The authors have no conflict of interests to declare

References:

- 1 Segawa M. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. *Brain Dev* 2011 Mar; 33 (3): 195-201. DOI: 10.1016/j.braindev.2010.10.015.
- 2 Nygaard TG, Takahashi H, Heiman GA, Snow BJ, Fahn S, Calne DB. Long-term treatment response and fluorodopa positron emission tomographic scanning of parkinsonism in a family with dopa-responsive dystonia. *Ann Neurol* 1992 Nov; 32 (5): 603-608. DOI: 10.1002/ana.410320502.
- 3 Hagenah J, Saunders-Pullman R, Hedrich K, Kabakci K, Habermann K, Wiegers K, et al. High mutation rate in dopa-responsive dystonia: detection with comprehensive *GCHI* screening. *Neurology* 2005 Mar 8; 64 (5): 908-911. DOI: 10.1212/01.WNL.0000152839.50258.A2.
- 4 Orphanet: The portal for rare diseases and orphan drugs [homepage on the Internet]. Dopa-responsive dystonia [accessed on Jan 10, 2022]. Available from:

[https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=484&Disease_Disease_Search_diseaseType=ORPHA&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=255&Krankheite\(n\)/Krankheitsgruppe=DYT5&title=DYT5&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=484&Disease_Disease_Search_diseaseType=ORPHA&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=255&Krankheite(n)/Krankheitsgruppe=DYT5&title=DYT5&search=Disease_Search_Simple)

- 5 Young C, Phillips R, Ebenezer L, Zutt R, Peall KJ. Management of Parkinson's disease during pregnancy: literature review and multidisciplinary input. *Mov Disord Clin Pract* 2020 Apr 9; 7 (4): 419-430. DOI: 10.1002/mdc3.12925.
- 6 Souza CP, Valadares ER, Trindade ALC, Rocha VL, Oliveira LR, Godard ALB. Mutation in intron 5 of GTP cyclohydrolase 1 gene causes dopa-responsive dystonia (Segawa syndrome) in a Brazilian family. *Genet Mol Res* 2008 Aug 5; 7 (3): 687-694. DOI: 10.4238/vol7-3gmr467.
- 7 Grover A, Clark-Bilodeau C and D'Ambrosio CM. Restless leg syndrome in pregnancy. *Obstet Med* 2015 Sep; 8 (3): 121-125. DOI: 10.1177/1753495X15587452.
- 8 Gomes-Oliveira MH, Gorenstein C, Lotufo Neto F, Andrade LH, Wang YP. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Beck Depression Inventory-II in a community sample. *Braz J Psychiatry* 2012 Dec; 34 (4): 389-394. DOI: 10.1016/j.rbp.2012.03.005.
- 9 Masuko AH, Carvalho LBC, Machado MAC, Morais JF, Prado LBF, Prado GF. Translation and validation into the Brazilian Portuguese of the restless legs syndrome rating scale of the International Restless Legs Syndrome Study Group. *Arq Neuropsiquiatr* 2008 Dec; 66 (4): 832-836. DOI: 10.1590/S0004-282X2008000600011.

- 10 Kim R, Jeon B and Lee WW. A systematic review of treatment outcome in patients
with dopa-responsive dystonia (DRD) and DRD-Plus. *Mov Disord Clin Pract* 2016
Jun 6; 3 (5): 435-442. DOI: 10.1002/mdc3.12361.
- 11 Powell SK, Tahan HM. Case management: a practical guide for education and
practice. 4th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2019.
- 12 Briggs GG, Freeman RK, Yaffe SJ. Drugs in pregnancy and lactation. 9th ed.
Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011.
- 13 HGNC – Hugo Gene Nomenclature Committee [homepage on the Internet]. Symbol
report for GCH1 [accessed on Jan 05, 2022]. Available from:
https://www.genenames.org/data/gene-symbol-report/#!/hgnc_id/4193
- 14 NC-IUBMB - Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry
and Molecular Biology [homepage on the Internet]. Enzyme Nomenclature.
Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of
Biochemistry and Molecular Biology on the Nomenclature and Classification of
Enzymes by the Reactions they Catalyse [accessed on Jan 05, 2022]. Available from:
<https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/EC3/5/4/16.html>
- 15 Furukawa Y, Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, et al.,
editors. GTP cyclohydrolase 1-deficient dopa-responsive dystonia [book on the
Internet]. Seattle (WA): University of Washington; 1993-2002 Feb 21 [updated
2019 Jan 24]. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1508/?report=reader>
- 16 Weissbach A, Pauly MG, Herzog R, Hahn L, Halmans S, Hamami F, et al.
Relationship of genotype, phenotype, and treatment in dopa-responsive dystonia:
MDSGene Review. *Mov Disord* 2022 Feb; 37 (2): 237-252 DOI:
10.1002/mds.28874.

- 17 Satishchandra P, Mullati N, Suresh T G. Progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. *J Assoc Physicians India* 1992 Jan; 40 (1): 55-56.
- 18 Lurie S, Priscu V, Hagay Z. The perinatal emphasis of Segawa's syndrome. *J Perinat Med* 1996; 24 (6): 699-701.
- 19 Watanabe T, Matsubara S, Baba Y, Tanaka H, Suzuki T, Suzuki M. Successful management of pregnancy in a patient with Segawa disease: case report and literature review. *J Obstet Gynaecol Res* 2009 Jun; 35 (3): 562-564. DOI: 10.1111/j.1447-0756.2008.00956.x.
- 20 Trender-Gerhard I, Sweeney MG, Schwingenschuh P, Mir P, Edwards MJ, Gerhard A, et al. Autosomal-dominant GTPCH1-deficient DRD: clinical characteristics and long-term outcome of 34 patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009 Aug; 80 (8): 839-845. DOI: 10.1136/jnnp.2008.155861.
- 21 Priscu V, Lurie S, Savir I, Rabinerson D, Hagayet Z. The choice of anesthesia in Segawa's syndrome. *J Clin Anesth* 1998 Mar; 10 (2): 153-155. DOI: 10.1016/s0952-8180(97)00225-0.
- 22 Howze KE, Will ND, Klassen BT, Sprung J, Weingarten TN. Anesthetic implications for patients with Segawa syndrome. *J Clin Anesth* 2016 Dec; 35: 350-357. DOI: 10.1016/j.jclinane.2016.08.023
- 23 Kaur M, Sharma U, Solanki RK. Anesthetic nuances in Segawa's syndrome: a case report and review of the literature. *Saudi J Anaesth* 2020; 14 (4): 524-527. DOI: 10.4103/sja.SJA_809_19
- 24 Hasan MS, Leong KW, Chan CYW, Kwan MK. Anesthetic considerations in scoliosis patient with dopa-responsive dystonia or Segawa's syndrome: Two case reports and a review of the literature. *J Orthop Surg (Hong Kong)* 2017; 25 (1): 1-4. DOI: 10.1177/2309499016684743.

- 25 American Sleep Disorders Association Diagnostic Classification Steering Committee. The international classification of sleep disorders: diagnostic & coding manual. Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine, 2005.
- 26 Ekbom KA. Restless legs syndrome. *Neurology* 1960 Sep; 10: 868–873. DOI: 10.1212/wnl.10.9.868.
- 27 Goodman JD, Brodie C, Ayida GA. Restless leg syndrome in pregnancy. *BMJ* 1988 Oct 29; 297 (6656): 1101-1102. DOI: 10.1136/bmj.297.6656.1101-a.
- 28 Khan M, Mobeireek N, Al-Jahadali Y, Al-Dubyan, N., Ahmed, A., Al-Gamed, et al. The prevalence of restless leg syndrome among pregnant Saudi women. *Avicenna J Med* 2018 Jan-Mar; 8 (1): 18-23. DOI: 10.4103/ajm.AJM_123_17.
- 29 Tachibana N: Living with restless legs syndrome/Willis-Ekbom disease. *Sleep Med Clin* 2015 Sep; 10 (3): 359-367, xv. DOI: 10.1016/j.jsmc.2015.05.019.
- 30 Vlasie A, Trifu SC, Lupuleac C, kohn B, Cristea MB. Restless legs syndrome: An overview of pathophysiology, comorbidities and therapeutic approaches (Review). *Exp Ther Med* 2022 Feb; 23 (2): 185. DOI: 10.3892/etm.2021.11108.
- 31 Alves Júnior AC, Daker MV, Machado AMC, Luna AS, Valladares Neto DC, Valadares ER. Neuropsychiatric and sleep study in autosomal dominant dopa-responsive dystonia. *Mol Genet Metab Rep* 2022 Apr 18; 31: 100870. DOI: 10.1016/j.ymgmr.2022.100870.
- 32 Garbaza C, Manconi M. Management strategies for restless legs syndrome/Willis-Ekbom disease during pregnancy. *Sleep Med Clin* 2018 Sep; 13 (3): 335–348. DOI: 10.1016/j.jsmc.2018.05.001.
- 33 Picchietti DL, Hensley JG, Bainbridge JL, Lee KA, Manconi M, McGregor JA, et al. Consensus clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of restless legs

- syndrome/Willis-Ekbom disease during pregnancy and lactation. *Sleep Med Rev* 2015 Aug; 22: 64-77. DOI: 10.1016/j.smrv.2014.10.009.
- 34 Manconi M, Govoni V, De Vito A, Economou NT, Cesnik E, Casetta I, et al. Restless legs syndrome and pregnancy. *Neurology* 2004 Sep 28; 63(6): 1065-1069. DOI: 10.1212/01.wnl.0000138427.83574.a6.
- 35 Neau JP, Marion P, Mathis S, Julian A, Godeneche G, Larrieu D, et al. Restless legs syndrome and pregnancy: follow-up of pregnant women before and after delivery. *Eur Neurol* 2010; 64 (6): 361-366. DOI: 10.1159/000322124.
- 36 Hubner A, Krafft A, Gadiant S, Werth E, Zimmermann R, Bassetti CL. Characteristics and determinants of restless legs syndrome in pregnancy: a prospective study. *Neurology* 2013 Feb 19; 80 (8): 738-742. DOI: 10.1212/WNL.0b013e318283baf3.
- 37 Alves DAG, Carvalho LBC, Moraes JF, Prado GF. Restless legs syndrome during pregnancy in Brazilian women. *Sleep Med* 2010 Dec; 11 (10): 1049-1054. DOI: 10.1016/j.sleep.2010.06.006.
- 38 Vahdat M, Sariri E, Miri S, Rohani M, Kashanian M, Sabet A, et al. Prevalence and associated features of restless legs syndrome in a population of Iranian women during pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet* 2013 Oct; 123 (1): 46-49. DOI: 10.1016/j.ijgo.2013.04.023.
- 39 Cesnik E, Casetta I, Turri M, Govoni V, Granieri E, Strambi LF, et al. Transient RLS during pregnancy is a risk factor for the chronic idiopathic form. *Neurology* 2010 Dec 7; 75 (23): 2117-2120. DOI: 10.1212/WNL.0b013e318200d779.
- 40 Dostal M, Weber-Schoendorfer C, Sobesky J, Schaeferet C. Pregnancy outcome following use of levodopa, pramipexole, ropinirole, and rotigotine for restless legs

- 1
2
3 syndrome during pregnancy: a case series. *Eur J Neurol* 2013 Sep; 20 (9): 1241-
4 1246. DOI: 10.1111/ene.12001.
5
6
7
8 41 Connor JR, Patton SM, Oexle K, Allen RP. Iron and restless legs syndrome:
9 treatment, genetics and pathophysiology. *Sleep Med.* 2017 Mar; 31: 61–70. DOI:
10 10.1016/j.sleep.2016.07.028.
11
12
13
14 42 Kondori MJ, Kolla BP, Moore KM, Mansukhani MP. Management of restless legs
15 syndrome in pregnancy and lactation. *J Prim Care Community Health* 2020 Jan-Dec;
16 11: 2150132720905950. DOI: 10.1177/2150132720905950.
17
18
19
20 43 Drugs and Lactation Database (LactMed) [homepage on the Internet]. Levodopa
21 [accessed on Sep 11, 2022]. Available from:
22 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK501337/?report=reader>
23
24
25
26 44 Thulin PC, Woodward WR, Carter JH, Nutt JG. Levodopa in human breast milk:
27 clinical implications. *Neurology* 1998 Jun; 50 (6): 1920-1921. DOI:
28 10.1212/wnl.50.6.1920-a.
29
30
31
32 45 Prosperetti C, Manconi M: Restless legs syndrome/Willis-Ekbom disease and
33 pregnancy. *Sleep Med Clin* 2015 Sep; 10 (3): 323-329, xiv. DOI:
34 10.1016/j.jsmc.2015.05.016.
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

6.5 Estudo: “Gestão de casos e monitoramento clínico dos indivíduos com DYT/PARK-GCH1 AD”

6.5.1 Elaboração e descrição operacional da matriz de atenção programada

Entendendo a DYT/PARK-GCH1 AD como uma condição de saúde muito complexa, a partir da gestão de casos descrita no item 6.4 Artigo: “Clinical Challenges in Pregnant Women with Segawa Disease and Restless Legs Syndrome” e baseada nos modelos de cuidados a indivíduos com condições crônicas de saúde (Mendes EV, 2019), propôs-se uma estratificação de risco de complicações das pessoas acometidas por essa variação genética. Essa estratificação de risco considerou os critérios da gravidade dos sintomas motores e SNM e da capacidade de autocuidado apoiado do indivíduo, permitindo a elaboração da matriz de atenção programada para esses indivíduos, conforme Tabela 2.

Tabela 2: Matriz para atenção programada aos indivíduos com a variante genética relacionada à DYT/PARK-GCH1 AD, a partir da estratificação de risco de complicações

Critério	Estratificação de risco	Periodicidade do cuidado
Sem SM e SNM clínicos	Baixo	Semestral
Com SM e/ou SNM de intensidade leve		Trimestral
Com SM e/ou SNM de intensidade moderada	Moderado	Bimestral
Com SM e/ou SNM de intensidade grave ou capacidade de autocuidado apoiado insuficiente*	Alto	Mensal

Onde: SM: sintomas motores, SNM: sintomas não motores.

* Entende-se como capacidade de autocuidado insuficiente as seguintes situações quando relevantes: dificuldade de compreensão de sua condição crônica; desinteresse na mudança de comportamento necessária para melhoria da sua condição; baixo suporte familiar e social; não se ver como agente de mudança de sua saúde; recolher-se em sua condição crônica; estar sem ação para melhoria de sua condição; abandonar o acompanhamento porque não atingiu uma de suas metas e depressão grave com prejuízo nas atividades diárias.

A matriz proposta balizou a aplicação da tecnologia de gestão de casos, no presente estudo intitulada pela sigla GVR, inicialmente efetivada em duas gestantes da família afetada,

conforme artigo “Clinical Challenges in Pregnant Women with Segawa Disease and Restless Legs Syndrome”, item 6.4.

A todos os familiares acometidos pela mutação foi ofertada inicialmente uma consulta médica presencial, com cerca de 60 minutos de duração. Mediante a estratificação de risco de complicações desses indivíduos, oferta e aceitação da possibilidade de se beneficiarem da tecnologia GVR, elaborou-se um plano de cuidado individualizado, monitorado conforme a matriz de atenção programada.

Também considerando que a maior parte dos indivíduos acometidos se encontrava em município distante cerca de 200 quilômetros do gestor de casos, os monitoramentos realizados ocorreram na modalidade presencial (conforme base da periodicidade de cuidado descrita na tabela anterior) e/ou não presencial (ofertada especialmente por meio de aplicativo multiplataforma de mensagens instantâneas e chamadas de voz para *smartphones*).

De 23 indivíduos com o diagnóstico de DYT/PARK-*GCH1* AD que se prontificaram participar da GVR, conforme contextos clínico-operacionais que consideravam o grau de risco do indivíduo e condições como disponibilidade para consulta presencial, somente dois (8,70%) realizaram o monitoramento do cuidado apenas presencial (um por condição clínica grave e incapacidade para o autocuidado apoiado e outro por não dispor de tecnologia de comunicação para o cuidado proposto). Para o cuidado virtual, o aplicativo Whatsapp (WhatsApp LLC, Meta, Inc., California – United States of America) foi a plataforma mais utilizada, sendo acionada preferencialmente por meio de mensagens assíncronas de texto/voz livremente, à medida que as necessidades clínico-operacionais se apresentavam, ou de chamadas síncronas de vídeo/voz periódicas, observando a matriz de programação do cuidado. As maiores demandas para discussão virtual se deram na ordem apresentada no Quadro 8, conforme tipificação de assuntos/dúvidas.

Quadro 8: Caracterização da natureza das demandas apresentadas em ambiente virtual pelos indivíduos com DYT/PARK-*GCH1* AD na gestão de casos

Tipificação	Demandas
Tratamento medicamentoso	Posologia/administração/troca de receitas e aquisição/efeitos colaterais e adversos/interações medicamentosas
Quadro clínico	Sintomas – dúvidas ou intercorrências
Cuidado programado	Agendamento

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os atendimentos programados de monitoramento, que maiormente intercalaram a modalidade presencial e não presencial, duravam cerca de 30 minutos, sendo otimizados por meio do preenchimento e da análise prévia dos questionários de avaliação citados no item 5.7 “Acompanhamento dos indivíduos com DYT/PARK-*GCH1* AD: gestão de casos”.

6.5.2 Descrição inicial dos participantes com DYT/PARK-*GCH1* AD, síndrome de pernas inquietas e transtorno misto de ansiedade-depressão na gestão de casos

A Tabela 3 descreve algumas características dos 23 indivíduos com diagnóstico clínico e/ou genético da DYT/PARK-*GCH1* inicialmente avaliados durante a gestão de casos (momento 1), incluindo duas crianças/adolescentes.

Tabela 3: Características dos indivíduos com diagnóstico de DYT/PARK-*GCH1* AD na avaliação inicial da gestão de casos

Característica	Nº. (%) Todos indivíduos n = 23	Gênero masculino n = 5 (21,74%)	Gênero feminino n = 18 (78,26%)	Valor p
Idade (a), média/DP/mediana	48,70/20,42/48			
Idade de diagnóstico (a), média/DP/mediana	36,48/19,99/35			
Dose de L-dopa (mg/dia), média/DP/mediana/variação	113,04/187,06/ 25/0-800			
História SM da DRD	19/23 (82,61%)	3/5 (60%)	16/18 (88,89%)	
Idade diagnóstico dos indivíduos com história SM (a), média/mediana	38,37/27			
Idade de início da distonia dos indivíduos com SM (a), média/DP/mediana	21,63/24,26/13			
Atraso diagnóstico dos indivíduos com história SM (a), média/mediana	16,74/14			
Indivíduos com história de SM e tratamento	18/19 (94,74%)			
Idade de início do tratamento dos SM com L-dopa (a), média/DP/mediana	37,67/21,66/36,5			
Indivíduos com história de SM em uso de L-dopa	12/19 (63,16%)			
Dose de L-dopa em uso (mg/dia) dos indivíduos com SM, média/mediana/variação	216,67/125/ 25-800			
	Nº. (%) Todos indivíduos n = 21	Gênero masculino	Gênero feminino	
SPI	7 (33,33%)	2 (28,57%)	5 (71,43%)	0,116
Idade indivíduos com SPI (a), média/mediana	46,86/39			
Gravidade escala SPI, média/DP/mediana	10,43/8,54/11			
	Nº. (%) Todos indivíduos n = 16	Gênero masculino	Gênero feminino	
Transt. misto ansiedade-depressão	0 (0%)			1

Onde: a: anos, SM: sintomas motores, SPI: síndrome de pernas inquietas.

Conforme Tabela 3, dentre os 21 adultos avaliados para SPI inicialmente (momento 1), sete (33,33%) cumpriram critérios para essa síndrome. Para fins comparativos, dentre 13 indivíduos sem a variante genética avaliados simultaneamente para a ocorrência de SPI (53,84% mulheres, com média de idade/DP = 51,15/21,39 e mediana = 45 anos) uma (7,69%) participante, sexo feminino, 76 anos de idade, apresentou critérios para tal, com intensidade de 18 pontos na escala. **Assim, na família estudada não houve uma associação estatisticamente significativa entre a ocorrência de SPI e o diagnóstico de DYT/PARK-GCH1 AD ($p = 0,116$).**

Conforme Tabela 3, mediante o instrutivo do M.I.N.I. PLUS (BRAZILIAN VERSION 5.0.0.), não se detectaram casos de transtorno misto de ansiedade-depressão dentre os participantes com DYT/PARK-GCH1 que realizaram essa investigação. Como apenas um caso (7,69%) foi identificado dentre os 13 indivíduos investigados sem o diagnóstico da doença de Segawa, **a pesquisa desse transtorno neuropsiquiátrico entre os grupos sem e com o diagnóstico da DYT/PARK-GCH1 AD não evidenciou diferença estatisticamente significativa nesse momento ($p = 1$).**

6.5.3 Outros detalhamentos clínicos dos participantes com DYT/PARK-GCH1 AD no momento inicial da gestão de casos

6.5.3.1 Resposta ao tratamento dos sintomas motores

Conforme classificação de Kim (2016), dentre 12 indivíduos com sintomas motores atribuídos à DYT/PARK-GCH1 AD em uso de L-dopa, dez (83,33%) apresentaram inicialmente uma resposta motora pós-tratamento excelente; um (8,33%) apresentou uma resposta motora boa-regular; e também um indivíduo (8,33%), uma resposta motora pobre.

6.5.3.2 Sintomas depressivos/associados e impulsividade

A Tabela 4 caracteriza os indivíduos com DYT/PARK-GCH1 quanto à utilização de outros psicofármacos diferentes ou além da L-dopa e a ocorrência de sintomas depressivos e outros não motores em sua avaliação inicial (momento 1).

Tabela 4: Características não motoras pesquisadas nos indivíduos com diagnóstico de DYT/PARK-*GCH1* AD na avaliação inicial da gestão de casos

Característica	Nº. (%) Todos indivíduos n = 23	Valor p
Uso de antidepressivo	12 (52,17%)	
Uso de outro psicofármaco (diferente ou além da L-dopa e/ou antidepressivo)	9 (39,13%)	
Uso simultâneo de antidepressivo e outro psicofármaco diferente ou além da L-dopa	7/9 (77,78%)	
Indivíduos com anergia	8 (34,78%)	
Indivíduos com abulia	12 (52,17%)	
Indivíduos com apatia	9 (39,13%)	
	Nº. (%) Todos indivíduos n = 21*	
Escore BDI-II, média/DP/mediana/variação	16,52/9,88/17/3-39	
Indivíduos com intensidade mínima ou ausente sintoma depressivo BDI-II	9 (42,86%)	
Indivíduos com sintoma depressivo BDI-II, leve/moderado/grave	2 (9,52%)/8 (38,10%)/2 (9,52%)	
Correlação Spearman anergia e BDI-II	-0,325	0,151
Correlação Spearman abulia e BDI-II	-0,398	0,074
Correlação Spearman apatia e BDI-II	-0,183	0,426
BIS-11, média/DP/mediana/variação	64,62/9,93/63/46-90	
Indivíduos muito controlados/com BIS-11 normal/altamente impulsivos	2 (9,52%)/14 (66,67%)/5 (23,81%)	
	Nº. (%) Todos indivíduos n = 11	
BIS-11 em uso de L-dopa, média/mediana	64,45/62	
Indivíduos com BIS-11 normal	8 (72,73%)	

Onde: BDI-II: Inventário de depressão de Beck II, BIS-11: Escala de impulsividade de Barrat 11.

* Não aplicado conforme instrutivo a dois adolescentes - 11 e 12 anos.

Dentre os 12 indivíduos que utilizavam antidepressivos nessa avaliação inicial, a bupropiona (150 mg), a venlafaxina/desvenlafaxina (75-100 mg), o citalopram/escitalopram (10-20 mg) e a sertralina (50-150 mg) eram utilizados por três indivíduos (25%) cada. Dentre os indivíduos que utilizavam inicialmente outro psicofármaco (diferente da L-dopa e/ou

antidepressivos), especialmente alprazolam/bromazepam ($n = 3$), gabapentina/pramipexol para SPI ($n = 2$) e quetiapina ($n = 2$) eram utilizados.

Destaca-se na Tabela 4 a proximidade de uma correlação Spearman negativa estatisticamente significativa entre a abulia e os valores de BDI-II já nessa avaliação inicial.

6.5.4 Condutas estabelecidas e avaliações clínicas subsequentes dos participantes com DYT/PARK-*GCH1* AD

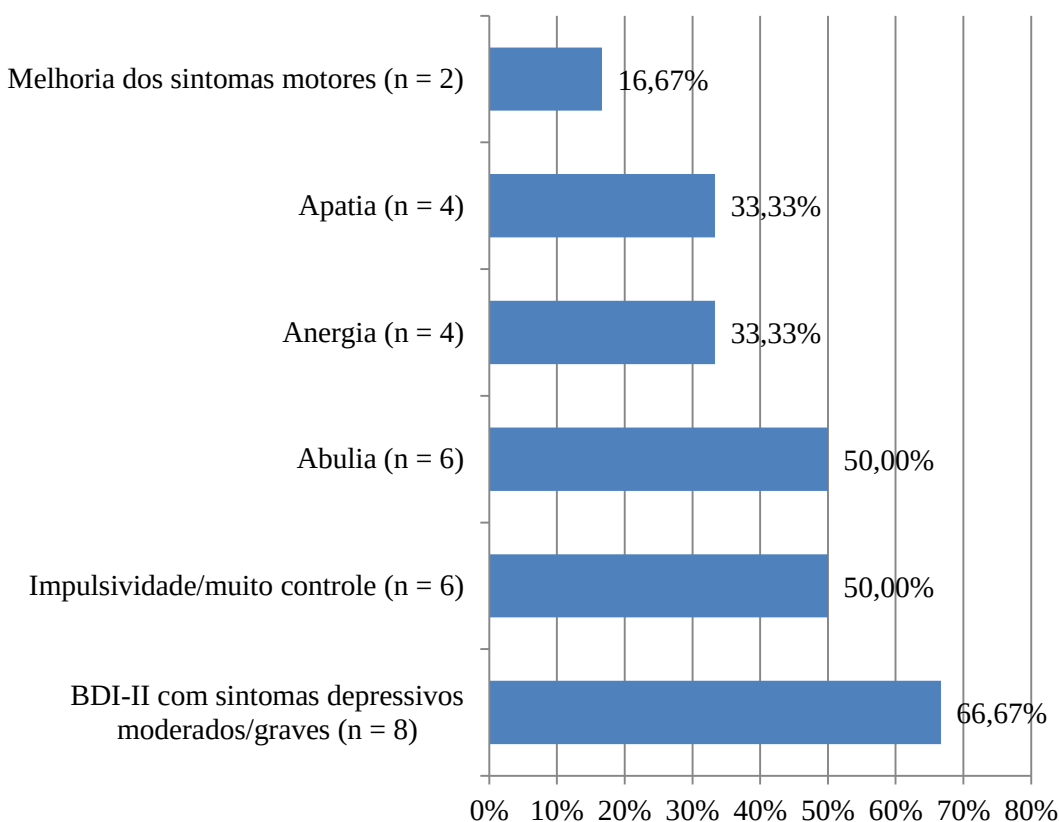
As condutas e avaliações subsequentes encontram-se sistematizadas a seguir.

6.5.4.1 Primeira conduta pós-avaliação inicial

Dentre os 23 indivíduos inicialmente avaliados, apenas em dez (43,48%) houve a indicação de manter a conduta em relação à utilização da L-dopa, sendo que em sete (70%) desses optou-se por mantê-los sem esse fármaco; nos outros três (30%) a indicação foi de manutenção da dosagem utilizada.

Mediante as presunções biológicas do papel motor e não motor da dopamina apresentadas nesta tese, em 12 (52,17%) dos 23 indivíduos indicou-se o incremento da dose de L-dopa pelos motivos expostos no gráfico a seguir. Registra-se que as condições relacionadas aos SNM podem ter ocorrido simultaneamente nesses indivíduos que necessitaram aumento da dose de L-dopa, inclusive nos que apresentavam sintomas motores. Nos dois casos em que a razão se deu para uma melhoria dos sintomas motores, a resposta motora era apenas boa-regular ou, ainda que excelente, permanecia com algum distúrbio de marcha.

Gráfico 3: Classificação e frequência/percentual de razões para incremento da dose inicial de levodopa dos indivíduos com DYT-PARK/*GCH1* (n = 12)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Onde: BDI-II = Inventário de depressão de Beck - II.

Dentre os 23 indivíduos avaliados inicialmente, quatro (17,39%) não medicados com L-dopa receberam a recomendação de utilizá-la; em três deles a dosagem inicial indicada foi de 50 mg. A dosagem recomendada ao indivíduo que apresentava resposta motora anterior boa-regular foi incrementada em 100% e a destinada ao indivíduo que apresentava resposta motora pobre reduzida em 25%. O Gráfico 4 apresenta a evolução da dosagem de L-dopa dos indivíduos acompanhados pela GVR que efetivamente fizeram o uso desse medicamento ao longo do cuidado.

dopa (n = 15), a dosagem média utilizada foi de 229,17 mg (cerca de 6% superior à dosagem média de dos 12 indivíduos que faziam uso da L-dopa no momento da avaliação inicial, vide Tabela 3), com mediana de 187,5 mg (incremento de 50% para esses 12 indivíduos) e variação de 50-600 mg.

No que se refere ao tratamento antidepressivo inicial, se observou a indicação de manter a conduta previamente estabelecida em 17 (73,91%) dos 23 indivíduos inicialmente avaliados, sendo que em nove (52,94%) desses 17 optou-se por mantê-los sem essa classe farmacológica; nos oito (47,06%) indivíduos restantes a dosagem prescrita foi mantida. Em dois (8,70%) dos 23 pacientes foi instituído um fármaco antidepressivo, por apresentarem BDI-II com gravidade moderada, abulia e apatia; também em dois (8,70%) foi efetivada uma substituição do fármaco (optando sempre por um inibidor de recaptação de serotonina); em um (4,35%) caso foi incrementada a dosagem utilizada (por BDI-II grave, anergia, abulia e apatia); e também em outro (4,35%) se retirou o antidepressivo utilizado para substituição programada futura.

A indicação para os demais psicofármacos foi mantida em todos os casos previamente em uso, conforme decisão dos médicos prescritores assistentes; dessa forma, inicialmente, apenas um (4,35%) dos 23 indivíduos procedeu à retirada de quetiapina. Adicionalmente, a uma (4,35%) paciente de 11 anos de idade indicou-se a realização de psicoterapia não anteriormente instituída por apresentar evidências de depressão com repercussão funcional.

6.5.4.2 Avaliação e conduta – primeiro monitoramento

A Tabela 5 sintetiza algumas características e indicadores do primeiro e subsequentes monitoramentos da GVR.

Tabela 5: Características e indicadores dos monitoramentos na gestão de casos dos indivíduos com DYT/PARK-*GCH1* AD

(continua)

Característica/indicador	Monitoramento					
	Primeiro (momento 2)	Segundo (momento 3)	Terceiro (momento 4)	Quarto (momento 5)	Quinto (momento 6)	Sexto (momento 7)
Indivíduos monitorados (% em relação ao N°. anterior)	21/23 (91,30%)	20/21 (95,24%)	16/20 (80%)	14/16 (87,5%)	5/14 (35,71%)	3/5 (60%)
Em uso de L-dopa (%)	15/21 (71,43%)	15/20 (75%)	16/16 (100%)	14/14 (100%)	5/5 (100%)	3/3 (100%)
Resposta motora excelente ao tratamento L-dopa (%)	14/15 (93,33%)	14/15 (93,33%)	13/14 (92,86%)	13/13 (100%)	5/5 (100%)	3/3 (100%)
Indivíduos monitorados SPI (% em relação ao N°. anterior)	6/7 (85,71%)	6/6 (100%)	5/6 (83,33%)	4/5 (80%)	1/4 (25%)	0/1 (0%)
Escore gravidade SPI, média/DP/mediana/variação	12,83/5,04/ 12,5/7-20	6,17/4,17/ 6/0-12	6/5,05/ 5/0-14	5,75/4,92/ 5,5/0-12	1/0/ 1/0	NA/NA/ NA/NA
Indivíduos com escore gravidade SPI $\leq$ anterior (%)	3/6 (50%)	6/6 (100%)	3/5 (60%)	2/4 (50%)	0/1 (0%)	NA
Indivíduos monitorados BDI-II (% em relação ao total de monitorados)	18/21 (85,71%)	17/20 (85%)	14/16 (87,5%)	13/14 (92,86%)	4/5 (80%)	2/3 (66,67%)
Escore BDI-II, média/DP/mediana/variação	17,56/10,11/ 19,5/1-34	13,82/9,29/ 11/2-31	18/9,04 19/2-33	14,54/7,62 13/4-28	13/6,48 13,5/6-19	12/0 12/6-18
Indivíduos BDI-II mín. ou ausente/leve/moderado/ grave (%)	7 (38,89%)/ 2 (11,11%)/ 7 (38,89%)/ 2 (11,11%)	9 (52,94%)/ 3 (17,65%)/ 4 (23,53%)/ 1 (5,88%)	6 (42,86%) 2 (14,29%) 4 (28,57%) 2 (14,29%)	7 (53,85%) 2 (15,38%) 4 (30,77%) 0 (0%)	2 (50%) 2 (50%) 0 (0%) 0 (0%)	1 (50%) 1 (50%) 0 (0%) 0 (0%)

Tabela 5: Características e indicadores dos monitoramentos na gestão de casos dos indivíduos com DYT/PARK-*GCH1* AD

(continuação)

Característica/indicador	Monitoramento					
	Primeiro (momento 2)	Segundo (momento 3)	Terceiro (momento 4)	Quarto (momento 5)	Quinto (momento 6)	Sexto (momento 7)
Indivíduos c/ redução BDI-II (%)	10/18 (55,56%)	11/17 (64,71%)	5/14 (35,71%)	8/13 (61,54%)	2/4 (50%)	1 (50%)
Associação linear variação BDI-II e variação L-dopa (F-statistic/ valor p)	0,000 on 1 and 16 DF/0,984 n=18	3,106 on 1 and 15 DF/0,098 n=17	0,011 on 1 and 12 DF/0,918 n=14	0,341 on 1 and 11 DF/0,571 n=13	0,262 on 1 and 2 DF/0,659 n=4	NA
Associação linear variação BDI-II e variação antidepressivo (F-statistic/ valor p)	1,247 on 1 and 11 DF/0,288 n=13	NA	NA	NA	NA	NA
Indivíduos monitorados para anergia/abulia/apatia (% em relação ao total de monitorados)	21/21 (100%)	19/20 (95%)	15/16 (93,75%)	14/14 (100%)	5/5 (100%)	3/3 (100%)
Indivíduos com anergia/abulia/apatia (% em relação ao N°. indivíduos monitorados)	7 (33,33%)/ 7 (33,33%)/ 6 (28,57%)	3 (15,79%)/ 3 (15,79%)/ 3 (15,79%)	3 (20%) 4 (26,67%) 1 (6,67%)	3 (21,43%) 5 (35,71%) 1 (7,14%)	1 (20%) 2 (40%) 2 (40%)	1 (33,33%) 1 (33,33%) 1 (33,33%)
% indivíduos com melhora anergia/abulia/apatia em relação ao momento anterior	28,57/ 45,45/ 25	80/ 60/ 25	33,33/ 33,33/ 66,67	66,67/ 50/ 100	NA/ 50/ 0	0 (0%) 0 (0%) 0 (0%)

Tabela 5: Características e indicadores dos monitoramentos na gestão de casos dos indivíduos com DYT/PARK-*GCH1* AD

(conclusão)

Característica/indicador	Monitoramento					
	Primeiro (momento 2)	Segundo (momento 3)	Terceiro (momento 4)	Quarto (momento 5)	Quinto (momento 6)	Sexto (momento 7)
Indivíduos monitorados BIS-11 (% em relação ao total de monitorados)	18/21 (85,71%)	17/20 (85%)	14/16 (87,5%)	13/14 (92,86%)	4/5 (80%)	2/3 (66,67%)
Escore BIS-11, média/DP/mediana/variação	65,78/8,18/68/55-86	64,35/6,1/66/54-73	67,07/7,05/66,5/53-79	66,92/4,48/66/60-75	63/3,16/62,5/60-67	73,5/0/73,5/73-74
Indivíduos com aumento/redução/manutenção escore BIS-11 (% em relação ao N°. anterior)	11 (61,11%)/ 6 (33,33%)/ 1 (5,56%)	7 (41,18%)/ 6 (35,29%)/ 4 (23,53%)	8 (57,14%)/ 6 (42,86%)/ 0 (0%)	5 (38,46%)/ 8 (61,54%)/ 0 (0%)	0 (0%)/ 4 (100%)/ 0 (0%)	2 (100%)/ 0 (0%)/ 0 (0%)
Indivíduos BIS-11 normal/muito controlado/altamente impulsivo (%)	15 (83,33%)/ 0 (0%)/ 3 (16,67%)	15 (88,24%)/ 0 (0%)/ 2 (11,76%)	11 (78,57%)/ 0 (0%)/ 3 (21,43%)	11 (84,62%)/ 0 (0%)/ 2 (15,38%)	4 (100%)/ 0 (0%)/ 0 (0%)	0 (0%)/ 0 (0%)/ 2 (100%)
Indivíduos com manutenção conduta L-dopa (%)	15/21 (71,43%)	14/20 (70%)	10/16 (62,5%)	10/14 (71,43%)	4/5 (80%)	3/3 (100%)
Indivíduos com manutenção conduta antidepressivo (%)	15/21 (71,43%)	18/20 (90%)	12/16 (75%)	11/14 (78,57%)	4/5 (80%)	0 (0%)

Onde: SPI: síndrome de pernas inquietas, BDI-II = Inventário de depressão de Beck - II, BIS-11 = Escala de impulsividade de Barrat 11, NA = Não se aplica.

Obs: Todas as associações lineares entre delta de variáveis foram efetivadas em relação ao momento inicial.

Conforme Tabela 5, dentre os 15 indivíduos inicialmente monitorados em uso de L-dopa, apenas um (6,67%) se manteve com resposta motora pobre.

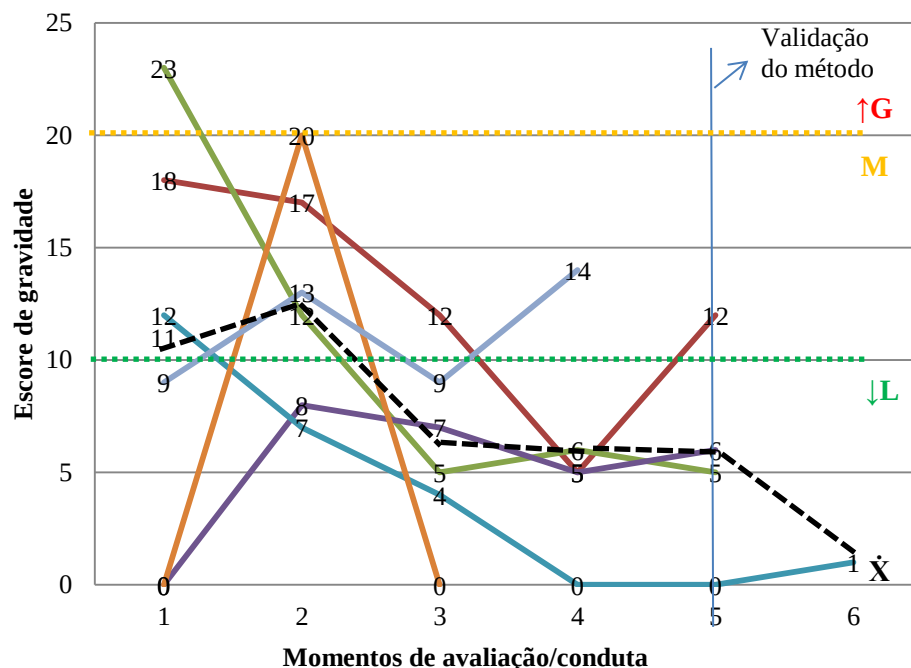
Síndrome de pernas inquietas

A Tabela 5 e o Gráfico 5 demonstram que dentre os seis indivíduos avaliados para SPI nesse monitoramento inicial, **três (50%) obtiveram piora; uma mulher que (re)iniciou sintomas durante gestação e outros dois indivíduos que não faziam uso de L-dopa.**

Nesses seis indivíduos com SPI, calculados o delta da variação das dosagens de L-dopa (em mg) entre a primeira conduta estabelecida e as dosagens iniciais utilizadas desse fármaco e o delta da respectiva escala de gravidade obtidos entre esses momentos, além da regressão linear entre essas duas variáveis, a variação de SPI não apresentou uma associação linear significativa com a variação de L-dopa (F-statistic: 0,647 on 1 and 4 DF, $p = 0,466$). A correlação de Spearman entre essas variáveis para essa análise momentânea também não foi significativa ($C = -0,372$, $p = 0,468$).

O Gráfico 5 apresenta as variações de escore dessa escala de SPI ao longo dos momentos de monitoramento.

Gráfico 5: Evolução dos valores da escala internacional de gravidade de síndrome de pernas inquietas em indivíduos com esse diagnóstico monitorados nos momentos de avaliação 1-6 da gestão de casos



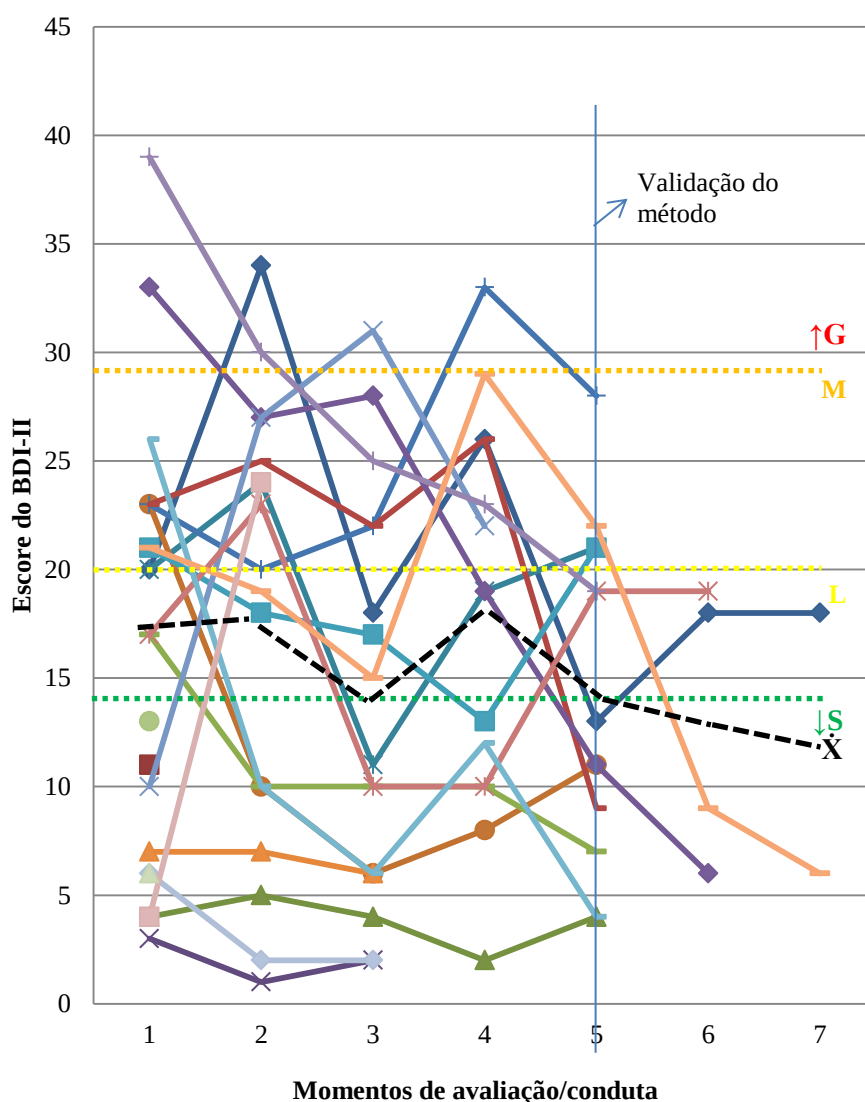
Fonte: Elaborado pelo autor.

Onde: $\bar{X}$ = escore médio dos valores da escala dos indivíduos no momento avaliado, L = graduação leve, M = graduação moderada, G = graduação grave.

Sintomas depressivos no BDI – II

Os 18 indivíduos reavaliados nesse primeiro monitoramento para o BDI-II, quando da sua avaliação inicial (momento 1), haviam obtido média e mediana muito similares, de 17,61 e 20 respectivamente, com variação de 3-39 pontos. Ressalta-se que **já nesse primeiro monitoramento, dez (55,56%) desses 18 apresentaram uma redução na gravidade dos sintomas depressivos**; sete (38,89%) apresentaram valores mais elevados nessa avaliação e um indivíduo manteve o valor do escore inicial, conforme Gráfico 6, que expressa a evolução do BDI-II ao longo da GVR.

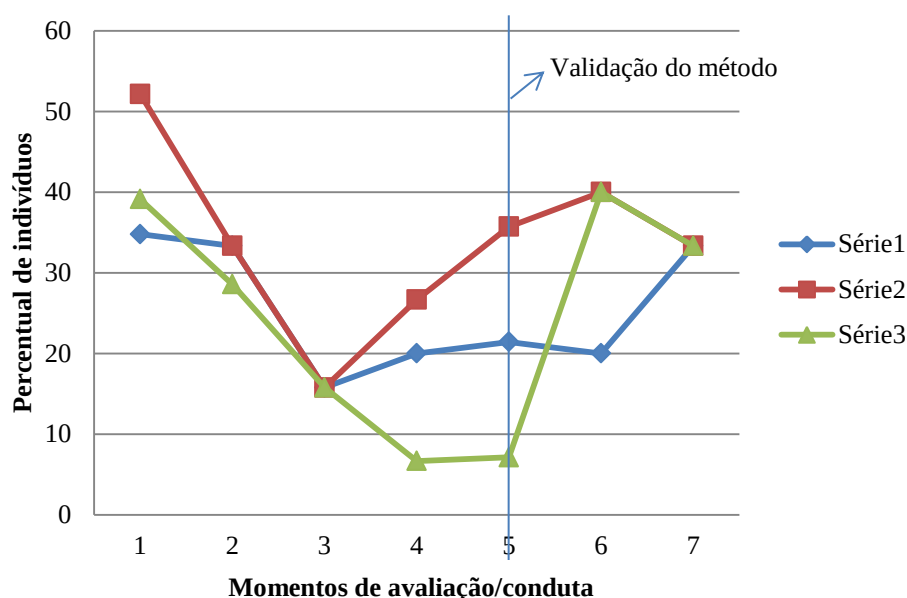
Gráfico 6: Evolução dos escores do Inventário de Depressão de Beck - II nos indivíduos monitorados nos momentos de avaliação 1-7 da gestão de casos



Anergia, abulia e apatia

Conforme Tabela 5 e Gráfico 7, nesse primeiro monitoramento, os percentuais de indivíduos com respostas compatíveis com um estado de anergia, abulia ou apatia foram todos reduzidos em relação à avaliação inicial. O Gráfico 7 expressa esses percentuais referentes a esses estados ao longo da gestão de casos efetivada.

Gráfico 7: Evolução do percentual de indivíduos com anergia, abulia e apatia nos momentos de avaliação 1-7 da gestão de casos



Fonte: Elaborado pelo autor.

Onde: Série 1: anergia, Série 2: abulia, Série 3: apatia.

Registra-se na Tabela 5 que 45,45% dos indivíduos monitorados que anteriormente relataram abulia ($n = 11$) apresentaram melhora desse estado já nesse momento 2. Dos oito pacientes que na avaliação anterior se apresentavam em um desses estados e tiveram a indicação de aumento de sua dose de L-dopa ($n = 7$) e/ou modificação em seu antidepressivo ($n = 1$), quatro (50%) apresentaram melhora em ao menos algum desses estados, três (37,5%) se mantiveram como tal e apenas um (12,5%) apresentou piora.

Os valores das correlações Spearman entre anergia, abulia e apatia (sim = 0, não = 1) e o BDI-II, nesse momento 2 (primeiro monitoramento) para os 18 indivíduos avaliados quanto a essas variáveis apresentaram respectivamente os seguintes resultados: $C = -0,604$, $p = 0,008$; $C = -0,444$, $p = 0,065$ e $C = -0,168$, $p = 0,506$. Assim, nesse primeiro monitoramento, as variáveis anergia e valor de BDI-II apresentaram uma correlação negativa estatisticamente significativa. Para a correlação abulia e valor de BDI-II, novamente foi observada uma significância estatística de natureza similar e aproximada.

Nesse primeiro monitoramento, mediante o cálculo do delta da variação das dosagens de L-dopa (em mg) entre a primeira conduta estabelecida e as dosagens iniciais desse fármaco utilizadas pelos 21 indivíduos que responderam às perguntas referentes à anergia, abulia e

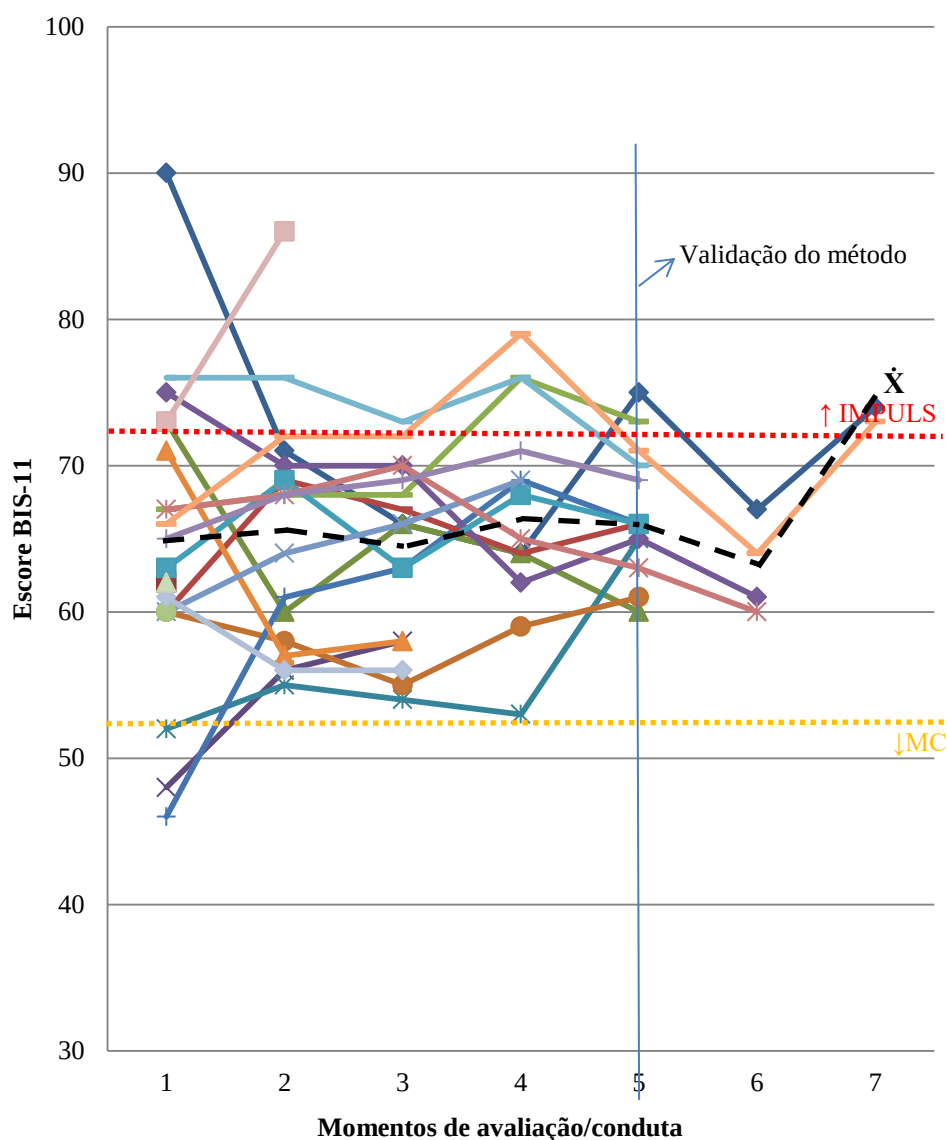
apatia, e o cálculo do delta das respectivas respostas sobre a presença desses estados obtidas entre esses momentos, os valores momentâneos das correlações de Spearman entre essas variações foram de respectivamente $C = 0,240$, $p = 0,295$; $C = 0,376$, $p = 0,093$ e $C = 0,288$, $p = 0,205$.

Nos indivíduos que responderam às perguntas referentes à anergia, abulia e apatia, mediante o cálculo do delta da variação das dosagens dos antidepressivos que foram mantidos entre a primeira conduta estabelecida e a dosagens iniciais desses fármacos, e o cálculo do delta das respectivas respostas sobre a presença desses estados obtidas entre esses momentos ($n = 15$; sim = 0, não = 1), os valores das correlações de Spearman entre esses deltas foram respectivamente de $C = 0,681$, $p = 0,005$; $C = 0,410$, $p = 0,129$ e $C = 0,681$, $p = 0,005$. Isso posto, **nesse primeiro monitoramento, as variações dos estados de anergia e apatia apresentaram uma correlação positiva estatisticamente significativa com a conduta estabelecida para os antidepressivos analisados, caracterizada por pequenas variações de suas dosagens.**

Impulsividade

Conforme Tabelas 4 e 5, a escala de impulsividade demonstrou para os 18 indivíduos nesse momento monitorados valores de média (especialmente) e mediana próximos aos obtidos para o grupo de 21 indivíduos avaliado por essa escala no momento inicial. Esses valores de média e mediana para esses 18 indivíduos nesse primeiro monitoramento também foram similares aos valores alcançados por esses mesmos 18 indivíduos na primeira avaliação (naquela ocasião de respectivamente 65,17 e 66). Entretanto, **o percentual de indivíduos monitorados nesse momento com limites normais de impulsividade aumentou de 66,67% para pouco mais de 83%. Dos 12 indivíduos cuja dose de L-dopa foi aumentada inicialmente, seis (50%) apresentavam naquele momento BIS-11 alterada; cinco (83,33%) normalizaram essa escala de impulsividade nesse primeiro monitoramento, sendo que três escalas foram normalizadas mediante redução de seus valores e duas mediante aumento de seus escores. Apenas um dos seis indivíduos citados manteve-se com o mesmo escore de BIS-11 (muito impulsivo).** O Gráfico 8 apresenta a evolução dessa escala ao longo dos momentos de avaliação da GVR.

Gráfico 8: Evolução dos escores da Escala de Impulsividade BIS-11 nos indivíduos monitorados nos momentos de avaliação 1-7 da gestão de casos



Fonte: Elaborado pelo autor.

Onde: BIS-11 = Escala de impulsividade BIS-11, $\bar{X}$ = média, MC = muito controlado, IMPULS = muito impulsivo.

A correlação Spearman entre os escores obtidos na BIS-11 nesse primeiro monitoramento (momento 2) e o delta da variação das dosagens de L-dopa (em mg) entre a primeira conduita estabelecida e a dosagens iniciais desse fármaco utilizadas pelos 18 indivíduos que preencheram essa escala foi de $C = 0,413$, $p = 0,088$. Igual valor de correlação foi obtido entre a variável “impulsividade” e o delta da variação da dosagem de L-dopa (em mg) para o período citado nesses 18 indivíduos. Já a correlação Spearman entre o delta da variação dos escores obtidos na BIS-11 e o delta da variação das dosagens de L-dopa para

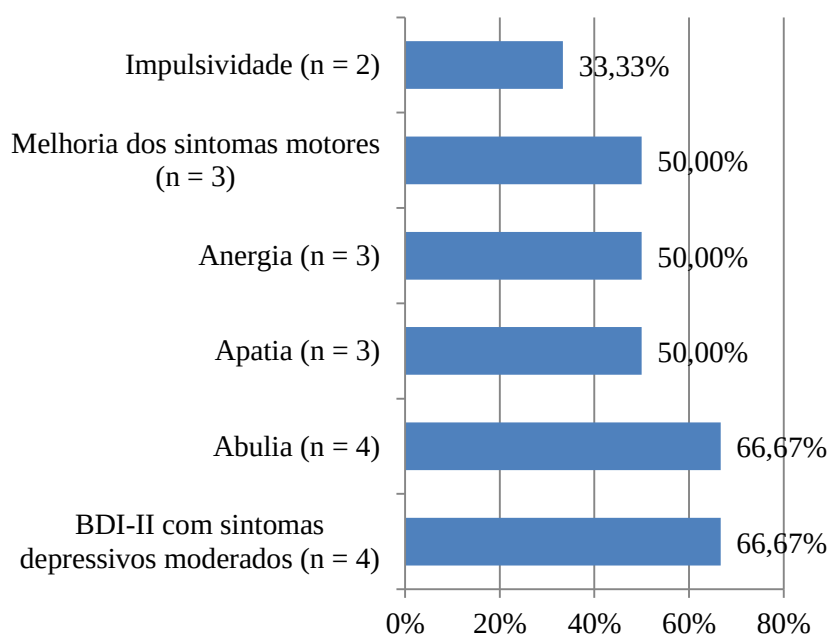
esses indivíduos nesses momentos avaliados, ainda que apresentando valor negativo em 0,104, não foi estatisticamente significativa ($p = 0,679$).

Conduta em relação à levodopa

Se na conduta inicial em apenas 43,48% dos indivíduos houve a indicação de manutenção da proposta em relação à utilização da L-dopa, a Tabela 5 demonstra nesse primeiro monitoramento a manutenção dessa conduta já em 15 (71,43%) dos avaliados, sendo que em cinco (33,33%) desses optou-se por mantê-los sem esse fármaco; nos outros dez (66,67%) (versus 30% na conduta inicial) a indicação foi de manutenção da dosagem utilizada, conforme Gráfico 4 (momento 3).

Em seis (28,57%) dos 21 indivíduos (antes em 52,17% dos indivíduos na conduta inicial) houve indicação de incremento da dose de L-dopa, conforme razões explicitadas no gráfico a seguir. Para as condições relacionadas à SNM, registra-se novamente que elas puderam ocorrer simultaneamente entre esses indivíduos que necessitaram o incremento da dose de L-dopa, inclusive entre os que apresentavam sintomas motores.

Gráfico 9: Classificação e frequência/percentual de razões para incremento da dose de levodopa no monitoramento inicial dos indivíduos com DYT-PARK/*GCH1* ($n = 6$)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Onde: BDI-II = Inventário de depressão de Beck - II.

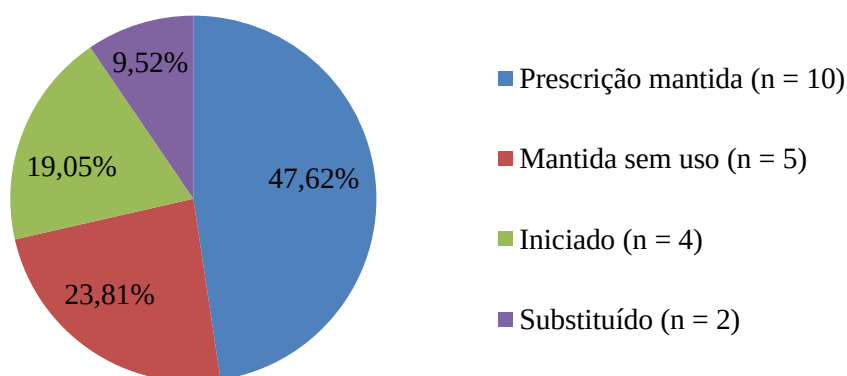
Dentre os 21 indivíduos com o diagnóstico de DYT/PARK-*GCH1* AD monitorados nesse momento, a L-dopa foi prescrita a um (4,76%) não medicado anteriormente com esse fármaco, que apresentava sintomas depressivos moderados, anergia, abulia e apatia. A dosagem destinada ao indivíduo que apresentava resposta motora ao tratamento pobre foi mantida, conforme Gráfico 4. Um indivíduo, com 76 pontos na escala de impulsividade, estava utilizando inadvertidamente L-dopa em dosagem mais elevada do que a prescrita. Ainda que sua prescrição nesse momento tenha sido reduzida, houve permanência de utilização indevida em dosagem superior.

A dosagem média de L-dopa estabelecida para o grupo dos 21 indivíduos nesse primeiro monitoramento (momento 3 do Gráfico 4), se comparada à dosagem média de L-dopa utilizada por esses 21 indivíduos no momento 2 do referente gráfico, aumentou de 163,69 para 185,71 (incremento de 13,45% para a média), mantendo a mediana de 100 mg e variação de 0-600 mg. Entretanto, ao se considerar apenas os indivíduos que receberam a indicação de uso de L-dopa (n=15), a dosagem média utilizada por esses foi de 255,83 mg (antes 229,17 para esses mesmos indivíduos) com mediana de 200 mg (antes 187,5) e variação de 50-600 mg.

Conduta em relação ao tratamento antidepressivo, outros psicofármacos e psicoterapia

Ademais das informações da Tabela 5, o gráfico a seguir resume as principais condutas referentes ao tratamento antidepressivo adotadas nesse primeiro monitoramento.

Gráfico 10: Descrição das condutas em relação ao uso dos antidepressivos no primeiro monitoramento dos indivíduos com DYT-PARK/*GCH1* (n = 21)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os quatro pacientes que iniciaram tratamento antidepressivo o fizeram por apresentarem BDI-II com gravidade moderada, e/ou anergia, e/ou abulia e/ou apatia.

A indicação para os demais psicofármacos nesse primeiro monitoramento também foi mantida em todos os casos previamente em uso, conforme indicação dos médicos prescritores assistentes; nesse momento apenas um (4,76%) dos 21 indivíduos procedeu à retirada de um fármaco (quetiapina) e a um paciente se indicou aumento da dose de pramipexol devido à piora dos sintomas de SPI mediante redução inadvertida da dosagem. A nenhum indivíduo se indicou a realização de psicoterapia não anteriormente instituída.

6.5.4.3 Avaliação e conduta – monitoramentos subsequentes

Assim como no primeiro monitoramento, nos subsequentes todos indivíduos apresentaram resposta motora excelente, à exceção dos monitoramentos posteriores que registraram o cuidado a um paciente que se manteve com resposta pobre, desde a sua avaliação inicial.

Síndrome de pernas inquietas

Conforme Tabela e Gráfico 5, **todos os seis (100%) pacientes avaliados no segundo monitoramento obtiveram melhora na escala internacional de SPI em relação ao primeiro monitoramento. Já em relação à avaliação inicial, nesse momento, apenas um indivíduo (16,67%) apresentou piora em seu escore, entretanto, permanecendo com intensidade leve.**

Nesses seis indivíduos com SPI monitorados novamente no momento 3, calculados o delta da variação das dosagens de L-dopa (em mg) entre a segunda conduta estabelecida e as dosagens iniciais desse fármaco utilizadas, e o delta da respectiva escala de gravidade obtidos entre esses respectivos momentos (momento 3 para momento 1), além da regressão linear entre essas duas variáveis, a variação de SPI não apresentou uma associação linear significativa com a variação de L-dopa (F-statistic: 3,043 on 1 and 4 DF, $p = 0,156$). Entretanto, a correlação de Spearman entre essas variáveis para esses momentos (3 e 1) esteve próxima da significância estatística ($C = 0,770$, $p = 0,073$). Registra-se que para os demais monitoramentos subsequentes com amostra suficiente (momentos 4 e 5), em relação ao momento inicial, as variações de SPI também não apresentaram associação linear significativa

com as variações de L-dopa, assim como as respectivas correlações de Spearman entre essas variáveis para esses momentos (4 e 5) não foram estatisticamente significantes.

Entretanto, dentre os cinco indivíduos acompanhados no terceiro monitoramento (momento 4), 60% melhoraram em relação às suas avaliações iniciais; dentre os dois que obtiveram um aumento desse escore inicial de gravidade de SPI, um alterou sua escala de gravidade leve para moderada. Finalmente, comparando o momento 5 (quarto monitoramento) da GVR com a avaliação inicial realizada, três (75%) indivíduos melhoraram significativamente seus escores de SPI; o único que piorou, também manteve intensidade leve. A média do escore de gravidade afim desse último monitoramento representativo passou de 10,43 para 5,75 (intensidade leve), uma redução de 44,87% em relação à inicial.

Sintomas depressivos no BDI – II

No segundo monitoramento (momento 3), houve uma redução de 21,30% na média e de 43,59% na mediana do escore BDI-II em relação ao grupo monitorado anteriormente, com menor variação dos valores absolutos. **Os mesmos 17 indivíduos reavaliados nesse segundo monitoramento do BDI-II, em sua avaliação anterior obtiveram média de 17,18 e mediana de 19, o que significou nesse momento uma redução de 19,56% nesse valor médio e de 8 pontos na mediana, com menor variação dos valores obtidos. Registra-se nesse momento que apenas um (5,88%) dos indivíduos apresentou sintomas depressivos com intensidade grave e 11 (64,71%) reduziram esse escore, conforme Gráfico 6.** Especificações dos demais momentos podem ser obtidas na Tabela 5 e gráfico citado.

Anergia, abulia e apatia

Conforme Gráfico 7, todos os percentuais de indivíduos com anergia, abulia e apatia observados no segundo monitoramento (momento 3) foram bastante reduzidos em relação aos obtidos no monitoramento anterior (momento 2) e também em relação à avaliação inicial. Para o quarto e último monitoramento significativo (momento 5), as reduções desses percentuais em relação à avaliação inicial foram mais conservadoras para os estados de anergia e abulia (38,38 e 31,55%, respectivamente), e da ordem de 81,75% para apatia.

De acordo com a Tabela 5, destaca-se que **quatro (80%) dos indivíduos que no momento anterior relataram anergia (n = 5), e também dos que relataram abulia (n = 5), melhoraram esses estados no segundo monitoramento.** Dos três pacientes que na avaliação anterior se apresentavam em um desses estados e tiveram a sua dose de L-dopa incrementada, dois (66,67%) melhoraram ao menos um desses estados, sendo que em um deles não houve alteração na administração do antidepressivo; outro, se manteve.

Os valores das correlações Spearman entre anergia, abulia e apatia (sim = 0, não = 1) e o BDI-II, no momento 3 (segundo monitoramento) para os 17 indivíduos avaliados quanto a essas variáveis apresentaram os respectivos resultados: $C = -0,554$, $p = 0,021$; $C = -0,506$, $p = 0,038$ e $C = -0,047$, $p = 0,856$. **Assim, para esses indivíduos, no segundo monitoramento, as variáveis anergia (novamente) e, nesse momento, abulia apresentaram uma correlação negativa estatisticamente significativa com o valor de BDI-II.**

De forma consistente, para os 14 indivíduos avaliados nos momentos 4 e 5 (terceiro e quarto monitoramentos), a abulia manteve-se em correlação negativa estatisticamente significativa com o valor de BDI-II ($C = -0,571$, $p = 0,033$ e $C = -0,616$, $p = 0,025$, respectivamente). Já a variável anergia correlacionou-se com o BDI-II de forma similar, entretanto, próximo da significância nesses terceiro e quarto monitoramentos ($p = 0,057$ para ambos).

Para os 19 indivíduos que responderam às perguntas referentes à anergia, abulia e apatia (igualmente codificadas), os cálculos do delta de variação da dosagem de L-dopa (em mg) entre a segunda conduta estabelecida (momento 3) e a do momento inicial, e do delta das respectivas respostas afins entre esses momentos indicaram que os valores da correlação Spearman entre essas variações não apresentaram significância estatística. Situação similar foi observada entre a terceira conduta (momento 4) e o momento inicial de 15 indivíduos avaliados; todavia, as três variáveis já com correlações negativas. **Para o momento representativo 5 (quarta conduta), se comparado ao momento inicial, foi observada uma correlação Spearman negativa estatisticamente significativa entre o delta de abulia e o delta de L-dopa ($C = -0,613$, $p = 0,020$) para os 14 indivíduos avaliados.**

Impulsividade

A BIS-11 demonstrou no segundo monitoramento valores de média e mediana bastante próximos aos obtidos no momento anterior para o grupo total de indivíduos que havia preenchido essa escala e também aos alcançados pelos mesmos 17 indivíduos na

avaliação inicial, de respectivamente 64,17 e 65. **Nesse segundo monitoramento, dos cinco indivíduos monitorados que aumentaram a L-dopa na conduta anterior, quatro (80%) permaneceram com escala de impulsividade dentro dos limites da normalidade e um indivíduo (20%) manteve-se impulsivo (Gráfico 8).**

O valor da correlação Spearman entre os escores da BIS-11 (codificados como -1 se < 52 ; 0 entre 52-72, e 1 se ≥ 72) no segundo monitoramento (momento 3) e o delta da variação da dosagem de L-dopa (em mg) entre a segunda conduta estabelecida e a dosagem inicial desse fármaco utilizada pelos 17 indivíduos que preencheram essa escala foi de $C = 0,532$, já estatisticamente significativa em $p = 0,028$. Igual valor de correlação estatisticamente significativa foi obtido entre a variável “Impulsividade” (codificada como 0, se BIS-11 = 0 e como 1, caso impulsividade) e o delta da variação da dosagem de L-dopa (em mg) para o período citado para esses 17 indivíduos. Ainda assim, a correlação Spearman entre o delta da variação dos escores da BIS-11 com o delta da variação das dosagens de L-dopa para os indivíduos nesses momentos avaliados apresentou valor negativo em 0,196, com $p = 0,451$.

Conforme Tabela 5 e Gráfico 8, dentre o segundo e quarto monitoramentos (respectivamente momento 3 e 5), **mantiveram-se elevados (entre 78 a 88%) os percentuais de indivíduos avaliados dentro da faixa de impulsividade normal.**

Para a análise comparativa entre o quarto monitoramento (momento 5) e o momento de avaliação inicial, a correlação Spearman entre o delta de variação dos escores da BIS-11 (conforme codificação supracitada) com o delta de variação das dosagens de L-dopa para os 13 indivíduos avaliados foi negativa em 0,610 e estatisticamente significativa em $p = 0,027$.

Conduta em relação à levodopa

Novamente, no segundo monitoramento, em no mínimo 70% dos indivíduos a conduta em relação à L-dopa foi mantida, inclusive mantendo-se a dosagem destinada ao indivíduo que apresentava resposta motora ao tratamento pobre. Nesse monitoramento (momento 4 do Gráfico 4), **em três (20%) dos 15 indivíduos a dose foi reduzida após incremento por automanejo equivocado (dois desses apresentaram impulsividade na BIS-11 e um deles também intolerância gástrica).** Em um (6,67%) caso indicou-se a introdução de L-dopa por sintomas depressivos e apatia, não efetivada pelo paciente.

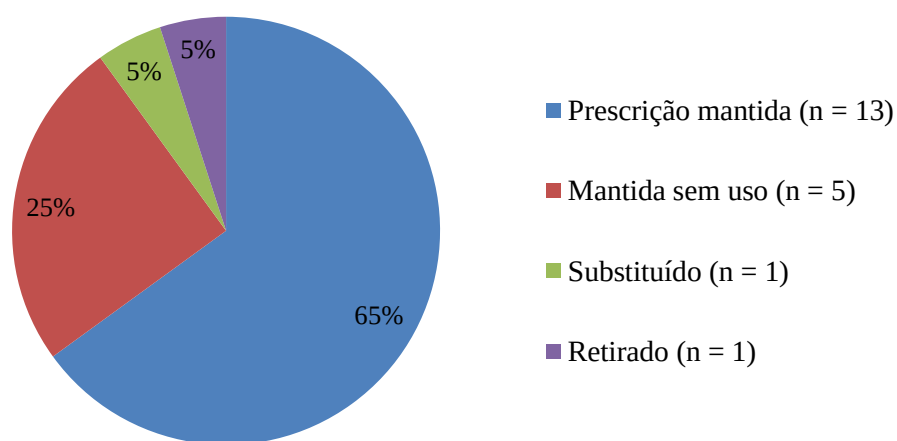
Diferentemente do observado no monitoramento anterior, a dosagem média de L-dopa estabelecida para o grupo dos 20 indivíduos nesse segundo monitoramento (momento 4 do Gráfico 4), se comparada à dosagem média utilizada por esses 20 indivíduos monitorados no momento 3, reduziu de 191,88 mg para 170,63 mg (-11,08% para a média), permanecendo a mediana de 100 mg e variação de 0-600 mg. O Gráfico 4 também registra a dosagem média para os indivíduos que efetivamente faziam o uso de L-dopa nos momentos 4 e 5, os quais cursaram com redução de seu valor médio, equiparando-se nesse último momento à dosagem inicial efetivada pelos usuários de L-dopa.

Elevados percentuais de indivíduos com manutenção da conduta de L-dopa também foram observados nos monitoramentos seguintes.

Conduta em relação ao tratamento antidepressivo, outros psicofármacos e psicoterapia

Em adição à Tabela 5, o Gráfico 11 resume as principais condutas referentes ao tratamento antidepressivo adotadas no segundo monitoramento.

Gráfico 11: Descrição das condutas em relação ao uso dos antidepressivos no segundo monitoramento dos indivíduos com DYT-PARK/*GCH1* (n = 20)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Nesse monitoramento, indicou-se a substituição do antidepressivo de um paciente por um inibidor de recaptação de serotonina e noradrenalina; a retirada de sertralina em outro paciente se deu por automanejo devido a efeito adverso.

Dentre os 16 indivíduos avaliados no terceiro monitoramento, a dois (12,5%) foi prescrito um inibidor de recaptação de serotonina; um (6,25%) paciente teve a sua dose de antidepressivo aumentada e outro reduzida. No quarto monitoramento, dentre os 14 indivíduos monitorados, um (7,14) teve seu antidepressivo substituído, um teve sua dose aumentada e outro sua dose reduzida. Já para o quinto monitoramento, dos cinco indivíduos avaliados, em um (20%) houve a retirada do antidepressivo. Ao longo desses monitoramentos, um único indivíduo permaneceu sem o uso de antidepressivo.

Quanto aos demais psicofármacos a indicação no segundo monitoramento também foi mantida em praticamente todos os casos previamente em uso, conforme indicação dos prescritores assistentes; em um (5%) dos 20 indivíduos se procedeu à inserção de nortriptilina 25 mg e sumatriptano 100 mg para enxaqueca e em outro (5%) se retirou a buspirona e melatonina, acrescentando o carbolitium. No terceiro monitoramento, a um (6,25%) dos 16 indivíduos monitorados se procedeu a retirada dos psicofármacos em uso (exceto L-dopa e antidepressivo) para “desintoxicação medicamentosa” como proposta terapêutica para enxaqueca; a um paciente a neurologia introduziu a gabapentina 300 mg para tontura e a outro a melatonina para melhorar o padrão do sono. No quarto monitoramento, a um dos 14 (7,14%) pacientes se introduziu um ansiolítico e a outro nortriptilina e flunarizina, mediante fracasso da desintoxicação anterior em quadro de enxaqueca. Por fim, no quinto monitoramento, um paciente recebeu a prescrição de quetiapina 25 mg (para transtorno de depressão bipolar) e outro de alprazolam, condutas definidas quase invariavelmente por outros cuidadores da atenção especializada.

No segundo monitoramento, a quatro (20%) indivíduos se indicou a realização de psicoterapia não anteriormente instituída; no terceiro, dois novos indivíduos (12,5% dos 16) tiveram essa indicação; no quarto, também outros dois (14,29% de 14 indivíduos). Já no quinto monitoramento, todos os cinco indivíduos monitorados apresentavam indicação de psicoterapia, sendo um deles (20%), recém-indicado.

6.5.4.4 Avaliação qualitativa de participantes da Gestão de Vidas Raras

O quadro a seguir apresenta algumas avaliações qualitativas espontâneas sobre a gestão de casos aplicada.

Quadro 9: Avaliação qualitativa de participantes da Gestão de Vidas Raras

Participante	Relato
A.N.A.B., 40 a.	“Não conseguiria suportar essa gestação se não fosse você! Minha pós (graduação) estava perdida! Vencemos (minha filha e eu) e salvei a minha pós com a sua ajuda! A luta não foi pequena! Muito obrigado!”
D.M., 42 a.	“Realmente a qualidade de vida muda mesmo! Estou muito bem mesmo!”
L.M.R.M, 69 a.	“Muita gratidão pelo maravilhoso trabalho que desenvolvem conosco!”
D.M.C.S., 72 a.	“Melhorei muito! Minhas pernas estão firmes! Parecia uma depressão! Agradeço muito!”

Fonte: Elaborado pelo autor.

6.5.5 Discussão e conclusões

Os estudos de vida real, como os observacionais com grupo caso e controle e os de coorte longitudinal utilizados, além de bem aplicados ao contexto de doenças raras, têm poder e estrutura para identificar áreas em que a investigação é necessária e testar novas hipóteses (Saturni S et al., 2014). Embora ensaios clínicos randomizados sejam considerados “padrão ouro” para avaliar a eficácia e segurança de uma intervenção, estudos observacionais em um cenário de mundo real, como o de coorte longitudinal viabilizado mediante a aplicação da GVR, também são úteis. Esses estudos também fornecem evidências sobre a efetividade de uma intervenção, ou seja, o grau em que ela é capaz de produzir resultados benéficos na prática, importantes do ponto de vista clínico (Tashkin et al., 2020). Desta feita, o presente estudo de vida real permitiu avaliar a efetividade da GVR em relação ao cenário anteriormente apresentado pelos participantes diagnosticados com essa condição rara.

Por natureza, as DRDs são condições de saúde (ou doenças) crônicas. Como tal, deveriam ser abordadas por modelos de atenção apropriados às suas características e à necessidade de um cuidado longitudinal. Um modelo de cuidado medicocêntrico, medicamentoso, desenhado para atenção a condições agudas em uma rede de saúde fragmentada, se constituía no modelo usufruído pelos familiares diagnosticados com a DYT/PARK-*GCH1* AD até a proposta da GVR. Tal modelo não se configura na opção mais adequada para o manejo de condições crônicas de saúde, como as doenças genéticas.

Uma vez já estabelecido o diagnóstico dos indivíduos com a mutação acompanhados neste estudo, a aplicação das tecnologias leves dos modelos de cuidados crônicos, como a estratificação de risco, a atenção programada, a gestão de casos (aqui contextualizada para o cuidado às doenças raras e nomeada GVR) e o cuidado não-presencial, permitiu que esses pacientes recebessem uma atenção interdisciplinar individualizada.

Conforme preconizado pelos modelos de atenção às condições crônicas de saúde, a base da organização dessa atenção programada a indivíduos com essas condições deve ser a estratificação de risco de complicações pela condição abordada (Mendes EV, 2019). A proposta de assistência programada da GVR elaborada na presente tese se embasou em uma estratificação de risco clínico que considerou a gravidade dos sintomas motores e não motores como fator determinante para essas complicações. A gravidade desses sintomas foi avaliada de forma sistemática por meio de ferramentas replicáveis, como a avaliação do impacto motor do tratamento de Kim R (2016), a escala de graduação internacional para a SPI do Grupo de Estudo Internacional da Síndrome de Pernas Inquietas, o BDI-II e a BIS-11. Adicionalmente, à luz dos avanços dos desenhos das tecnologias leves, a GVR considera para essa estratificação não apenas a sua gravidade clínica, mas a capacidade de autocuidado do indivíduo (Cavalcanti AM et al., 2012). Isso posto, buscou-se pressupostos teóricos e replicabilidade no desenho metodológico aplicado, o que o permite constituir-se como parâmetro para o cuidado de outras doenças genéticas ou crônicas raras.

A despeito da distância geográfica entre os indivíduos monitorados e o gestor de casos, a tecnologia GVR, prioritariamente em sua modalidade *hands-on*, permitiu efetivar uma necessária medicina personalizada, centrada na pessoa, como proposta por Nygaard et al. (2021) para as DRDs e pelos modelos de atenção às condições crônicas de saúde (Mendes EV, 2019). Assim, a presente tese reforça indícios de que, por exemplo, a titulação ideal da L-dopa para o tratamento da DYT/PARK-*GCH1* AD deva ser personalizada, conforme gravidade da deficiência enzimática e fenótipo apresentado, incluindo SNM. No processo de otimização dos resultados clínicos, cada indivíduo afetado apresentou a sua faixa terapêutica de L-dopa própria (Gráfico 4), a qual pôde variar ao longo do tempo em função de contextos observados que incluíram a intensidade das atividades físicas demandadas pelo indivíduo, o uso de outros psicofármacos e o contexto psicossocial em que eles estavam inseridos.

Utilizadas praticamente em tempo real, ferramentas de telessaúde foram determinantes para oportunizar as abordagens e condutas frente às barreiras enfrentadas. Assim, distâncias geográficas, possíveis restrições econômicas, ocorrência de efeitos adversos no uso dos fármacos, baixa adesão, baixa alfabetização em saúde, indisponibilidade de

especialistas no território e outras situações puderam ser abordadas de forma oportuna, contextualizada e individual. Registra-se que o gestor de casos não era um especialista em genética ou neurologia, mas a GVR, apropriando-se da discussão de casos com especialistas em ambiente virtual, permitiu que esses indivíduos se beneficiassem de saberes multidisciplinares integrados. Todas essas tecnologias podem ter contribuído para resultados efetivos e potencialmente eficientes.

A predominância de indivíduos do sexo feminino no estudo original da família e também na avaliação clínica inicial da GVR (78,26% dos 23 participantes) expressa a penetrância reduzida dependente do sexo em DYT/PARK-*GCH1* AD, com a ocorrência menos comum da doença em homens do que nos portadores femininos da mutação. Para Weissbach et al. (2022), os mecanismos causadores dessa redução da penetrância de *GCH1* requerem investigação adicional. Deve-se registrar que tanto no artigo de revisão desses autores quanto na família acompanhada pelo presente estudo, essa redução de penetrância dependente do sexo foi observada entre os homens sintomáticos, não sendo observada entre os indivíduos assintomáticos, os quais na avaliação inicial da GVR também apresentaram distribuição igual entre os sexos (50% cada). Que pese essas considerações, para alguns autores, fatores específicos relacionados ao sexo na regulação da atividade da enzima GTPCH 1 ou em mecanismos compensatórios, como níveis fisiologicamente mais baixos dessa enzima em mulheres portadoras da mutação ou reduzidos níveis de mRNA de *GCH1* encontrados em cérebros de camundongos, podem estar implicados (Shimoji M et al., 1999 e Müller U, 2002).

Sem a disponibilidade de uma triagem neonatal, um atraso diagnóstico e diagnósticos equivocados (com tenotomias registradas) também fizeram parte do contexto dos familiares pesquisados na presente tese, compatível com a robusta revisão de Weissbach et al. (2022) com 488 indivíduos acometidos por essa DRD. Para os autores dessa revisão, a mediana de idade de início dos sintomas ocorreu aos oito anos e a mediana do atraso diagnóstico foi também de oito anos. Na família estudada na presente tese, o grupo de indivíduos acometidos pela distonia secundária à DYT/PARK-*GCH1* AD (n = 19) apresentou mediana de 13 anos de idade para o início dos sintomas motores e um atraso diagnóstico com mediana de 14 anos. É possível que essas medianas maiores resultem do fato de que a maior parte dos indivíduos dessa família foi diagnosticada por meio de estudo genético apenas após o diagnóstico tardio do caso índice dessa família, conforme relatado por Souza et al. (2008). De forma notável e consoante ao descrito por Weissbach et al. (2022), o caso índice da família estudada na presente tese, uma adolescente de 13 anos de idade que apresentava distonia desde um ano de vida, também havia recebido o mais comum equívoco diagnóstico, que é o de paralisia

cerebral (atípica). Registra-se, todavia que, para análise comparativa dessa e de outras variáveis clínicas obtidas neste estudo com a revisão citada, há que se considerar o elevado percentual de informações faltantes em revisões bibliográficas, como a de Weissbach et al. (2022).

Para o estudo comparativo entre os grupos com e sem a variação genética concernente à investigação do transtorno misto de ansiedade-depressão, a metodologia de aplicação do M.I.N.I. PLUS (BRAZILIAN VERSION 5.0.0.) orienta que uma vez preenchidos os critérios diagnósticos para outros transtornos depressivos, em especial ansioso e de humor, a busca pelo diagnóstico do transtorno misto conclui-se como negativa (ANEXO C), o que pode ter sido determinante na ausência de uma associação estatística entre esse transtorno e os indivíduos com a variação genética estudada ($p = 1$). Registra-se que os indivíduos dessa família apresentaram elevadas prevalências de transtornos depressivos já publicadas em estudo de mestrado deste mesmo autor (Alves Júnior AC, 2017) e considerável uso de antidepressivos, ansiolíticos e outras drogas psicoativas que ajudaram a caracterizar critérios diagnósticos para outros transtornos afins (Alves Júnior AC et al., 2022).

Quanto ao estudo comparativo referente à associação entre SPI e indivíduos com a variante pesquisada, é possível que uma maior prevalência dessa síndrome no grupo de indivíduos com o diagnóstico da doença de Segawa não tenha sido observada no momento avaliado devido à reposição terapêutica da L-dopa nos indivíduos com a variante. Como a L-dopa também faz parte do tratamento para a SPI, os sintomas da SPI podem ter sido reduzidos ou subdimensionados pela concomitância do tratamento de ambas as síndromes. Que pese esse fator e a amostragem limitada, a diferença entre os grupos pesquisados não esteve relativamente distante da caracterização de uma associação estatisticamente significativa ($p = 0,116$).

Os monitoramentos dos indivíduos (nos momentos identificados como 2 em diante nos gráficos afins) ocorreram com uma periodicidade determinada pela estratificação de risco, razão pela qual os indivíduos realizaram um número variável de avaliações dentro do mesmo período observado, de cerca de 12 meses. Ainda assim, os resultados deste estudo demonstram que os pacientes acompanhados aportaram múltiplas evidências de que o cuidado ofertado pela tecnologia GVR tenha sido mais efetivo do que o recebido anteriormente à sistematização proposta.

Conforme Tabela 5 e gráficos afins, resultados já observados no primeiro monitoramento (momento 2) tiveram tendência a se consolidar, ou o fizeram, nos

monitoramentos subsequentes dos indivíduos acompanhados, especialmente entre os momentos 3 a 5.

Entretanto, a leitura dos registros gráficos desses monitoramentos denota o entendimento da metodologia de cuidado empregada. Baseado na gestão da clínica, em que a estratificação de risco determina a programação do cuidado, os indivíduos com maior risco de complicações são atendidos com maior frequência. Assim, esse desenho metodológico permite em cada momento que os casos de maior gravidade se concentrem entre os primeiros atendidos. Adicionalmente, ao receber o cuidado proposto na GVR, a maior parte dos indivíduos tende a apresentar melhora clínica e funcional, com resultante diminuição do seu risco de complicações e da frequência de avaliações. Por conseguinte, um viés à leitura de resultados parciais pode ser observado especialmente após o momento 5 dos Gráficos 4, 7 e 8, quando a amostra de indivíduos monitorados ainda é reduzida. Esse momento 5, referente ao quarto monitoramento, se deu em torno de 12 meses de cuidado para a maioria dos participantes e foi identificado nos gráficos afins pela linha vertical denominada “validação do método”, a qual expressa a efetividade desse método equitativo. Assim, o citado viés de leitura é o resultado esperado de **um número progressivamente menor de indivíduos avaliado transversalmente a cada momento, em comparação ao total de indivíduos submetidos à GVR.**

Como uma DRD, a DYT/PARK-GCH1 AD tratada apresenta uma boa resposta motora e na qualidade de vida de seus portadores mediante o uso de doses baixas de L-dopa (Jinnah HA et al., 2018). Essa esperada resposta motora ao tratamento foi observada mesmo na avaliação inicial (momento 1) dos pacientes em uso L-dopa estudados, dentre os quais mais de 80% apresentaram resposta excelente, conforme proposta de avaliação de Kim R (2016), a despeito de possíveis críticas a essa classificação. **Nos monitoramentos efetivados, todos indivíduos, inclusive os novos que aderiram à L-dopa, apresentaram resposta motora excelente, mediante avaliação pertinente. Apenas um paciente se manteve com resposta pobre enquanto monitorado, quadro elucidado mediante exame de imagem cerebral que constatou lesões orgânicas não compatíveis com a DRD (isquemia).**

Também são dignos de registros episódios em que circunstâncias pontuais, como uma maior demanda por uma atividade física, problemas psicossociais dos indivíduos acompanhados (ansiedade, estresse ou perdas) ou não administração adequada da L-dopa, estiveram relacionadas à intensificação de distonias focais (como nos pés e dedos das mãos, com dores, travamentos e “câimbras do escritor”) e de sintomas residuais, possivelmente secundários ao tratamento tardio registrado nesses indivíduos. Essas distonias menores eram

incapazes de alterar a classificação de Kim R (2016), mas foram responsivas a pequenas variações da dosagem de L-dopa.

Isso posto, esses resultados motores são compatíveis com a revisão de Weissbach et al. (2022), em que 87% (n = 379) dos 436 indivíduos sintomáticos com DYT/PARK-*GCH1* AD que receberam L-dopa obtiveram resposta positiva, com uma dose média de 236 mg/dia (intervalo de 25-1800 mg/dia). Neste estudo, para os momentos 1 a 5 (Gráfico 4) a dose média de L-dopa variou entre 216,67-255,83 mg/dia, com intervalo de 25-800 mg.

As variações de escores da escala internacional de gravidade de SPI não apresentaram uma associação linear significativa com as variações de L-dopa, assim como as respectivas correlações de Spearman entre essas variáveis para os momentos avaliados não foram significativas. Entretanto, uma redução dos sintomas da SPI associada ao possível manejo de doses de L-dopa durante os monitoramentos da GVR foi clinicamente observada, a qual também alimenta a hipótese de que a SPI possa ter sido realmente subdiagnosticada em alguns pacientes tratados para a DRD, em função do tratamento concomitante de ambas as síndromes com esse fármaco. Assim, **cinquenta por cento dos reavaliados no primeiro monitoramento e 100% no segundo apresentaram redução na escala de SPI; adicionalmente, a média do escore de gravidade do último monitoramento representativo foi reduzida em 44,87% em relação à média inicial.**

Embora na revisão de Weissbach et al. (2022) os SNM tenham sido raramente reportados, baseado também nesse “particular interesse”, tais revisores destacaram que apenas um paciente foi tratado com citalopram, “ilustrando a falta de diagnóstico dessas comorbidades psiquiátricas e de seu tratamento medicamentoso adequado”. Neste presente estudo de tese, no qual o valor médio inicial do BDI-II dos 21 indivíduos investigados foi compatível com sintomas depressivos leves (16,52), mais da metade (12) dos 23 indivíduos inicialmente avaliados (momento 1) já utilizavam antidepressivos, sendo que 75% deles utilizavam inibidores de recaptação de serotonina/noradrenalina (neurotransmissores potencialmente afetados pela via da pteridina na DYT/PARK-*GCH1* AD, incluindo o citalopram/escitalopram). Corroboraram para tal, a elevada prevalência de depressão já reportada nesse grupo por Alves Júnior AC et al. (2022) e o fato da maioria desses pacientes ser cuidada por profissionais que, devido ao desenho metodológico do cuidado multiprofissional, também estavam envolvidos no contexto da temática e comumente optaram por essa plausível classe farmacológica.

A presente tese é um desdobramento do estudo de mestrado do mesmo autor que objetivava pesquisar SNM na doença de Segawa. As justificativas para aquele estudo de

mestrado compartilhavam simultaneamente as mesmas presunções biológicas ainda não publicadas da ocorrência de SNM na DYT/PARK-*GCH1* AD apontadas por Antelmi et al. em 2015. Indo um pouco além, **o grupo de Antelmi em 2015 já destacava a necessidade de estudos prospectivos que esclarecessem, entre outros, se a L-dopa poderia ser útil como primeira abordagem para os sintomas depressivos observados comumente nessa DRD. Assim, compartilhando as mesmas hipóteses, a presente tese de doutorado, incluindo este estudo, trouxeram como recorte o aprofundamento do conhecimento sobre a sintomatologia da doença de Segawa, também com ênfase em SNM, considerando o impacto do uso da L-dopa nesses indivíduos acompanhados, o que não havia sido abordado adequadamente na literatura científica.**

A dissertação de mestrado de Alves Júnior AC (2017) havia concluído que nessa família havia uma associação estatisticamente significativa entre episódio depressivo maior passado e indivíduos com DYT/PARK-*GCH1* AD ($p = 0,046$). A presente tese, por meio do artigo *“Neuropsychiatric and sleep study in autosomal dominant dopa-responsive dystonia”* apresentado no item 6.2, demonstrou a influência do uso da L-dopa no estudo ampliado dessa e de outras associações similares (Alves Júnior AC et al., 2022).

Para Antelmi et al. (2015), no que se refere especialmente aos sintomas depressivos, o grau de comprometimento do perfil bioquímico e os fenótipos associados precisam ser melhor esclarecidos. A análise desse fenótipo também passa por entender até que ponto as alterações monogênicas dessa DRD se correlacionam com outros fatores que podem, por exemplo, modificar a prevalência de depressão e impulsividade, ambas condições sabidamente multifatoriais. Também há que se registrar que dentre os genes mais associados à depressão, se destacam genes polimórficos que participam de forma direta ou indireta na regulação de vias serotoninérgicas e dopaminérgicas (Nascimento MVM, 2021). Por essa razão, ao se analisar a associação entre a variação genética e o transtorno misto de ansiedade-depressão e SPI, a seleção de grupos caso e controle intrafamiliares no presente estudo objetivou minimizar esses outros fatores, como os ambientais e até possíveis polimorfismos gênicos. A estratégia de seleção de grupos intrafamiliares, diferentemente da adotada por estudos similares de outros autores, buscou parear as demais variáveis genético-ambientais determinantes dos eventos pesquisados, à exceção da mutação.

No que concerne ao estudo desses fenótipos associados, dentre os indivíduos com a mutação acompanhados na GVR se notabilizaram desde a avaliação inicial pessoas assintomáticas do ponto de vista da distonia que se apresentavam com sintomas depressivos especialmente moderados e estados de anergia/abulia/apatia. Esse achado é

compatível com o observado em registros de dois estudos que sugeriram que os sintomas psiquiátricos poderiam preceder ou ser a única manifestação clínica de DRD (Hahn H et al., 2001 e Van Hove et al., JL, 2006), o que também foi destacado por Antelmi et al. (2015). No presente estudo de tese, dentre os quatro indivíduos adultos com a variante que ao serem avaliados não utilizavam L-dopa por não apresentarem sintomas motores, três (75%) cursavam com sintomas depressivos nessa intensidade, ou esses estados citados. Um deles passou a usar antidepressivo e outro (que também apresentava impulsividade) L-dopa em baixa dosagem. Adicionalmente, ao menos dois indivíduos acompanhados com sintomas motores pequenos e tardios trouxeram relatos emblemáticos similares. Uma senhora de 74 anos, recém medicada com L-dopa devido a uma ocasional hiper-extensão dos dedos das mãos apenas ao lavar as louças no fim do dia, apresentava ao longo dos anos um marcado estado de anedonia, com sintomas depressivos moderados, anergia, abulia e apatia. Outra senhora, 69 anos, apenas nessa idade começou a observar que seus dedos das mãos também travavam quando estava nervosa; devido aos sintomas depressivos, à abulia e à apatia, essa senhora recebeu L-dopa em baixa dosagem (100 mg/dia) neste estudo, respondendo com significativa redução de seu escore de BDI-II e da abulia.

No tocante ao impacto do uso da L-dopa nesses sintomas depressivos e estados afins nos monitoramentos realizados, mediante os cálculos dos deltas das variações pertinentes e da regressão linear entre as variáveis escore de BDI-II e dosagem de L-dopa (em mg), as variações do escore desse inventário de sintomas depressivos não apresentaram uma associação linear significativa com as variações desse medicamento (Tabela 5). **No entanto, dentre outros, uma correlação Spearman negativa em 0,613 ($p = 0,020$) entre o delta de abulia e o delta de L-dopa indicou que para os 14 indivíduos monitorados (nos quais não se observou redução da L-dopa ou aumento da abulia), a manutenção da L-dopa tendeu a diminuir a abulia.**

Utilizadas apenas amostras de indivíduos cujos medicamentos antidepressivos tiveram suas dosagens alteradas, também não se demonstrou que a variação dos escores dos sintomas depressivos desses indivíduos apresentasse uma associação linear significativa com a variação das dosagens desses antidepressivos ($p = 0,288$) no primeiro e único monitoramento cuja variação de dose foi o suficiente para análise.

Todavia, se as variações do escore do BDI-II não apresentaram uma associação linear estatisticamente significativa com as variações de dosagens de L-dopa e mesmo com as variações de antidepressivos (por razões que potencialmente incluem número amostral reduzido e restrita variação dos antidepressivos), **percepções clínicas diversas indicaram a**

relação entre o cuidado efetivado, o qual incluiu um manejo criterioso da L-dopa, e a redução dos escores depressivos e estados afins dos indivíduos acompanhados.

No primeiro monitoramento, mais da metade dos pacientes reduziram a gravidade dos seus sintomas depressivos e todos os percentuais de indivíduos com respostas compatíveis com um estado de anergia, abulia ou apatia foram reduzidos em relação à avaliação inicial. Dentre os pacientes que na avaliação anterior se apresentavam em um desses estados e tiveram a indicação de aumento de sua dose de L-dopa ($n = 7$) e/ou modificação em seu antidepressivo ($n = 1$), metade (50%) apresentou melhora em ao menos algum desses estados; três (37,5%) se mantiveram como tal; e no único caso de piora em um desses estados, o paciente não fez o uso preconizado de L-dopa. Se nesse primeiro monitoramento, como esperado, os indivíduos com anergia apresentaram maiores valores de BDI-II ($C = -0,604$, $p = 0,008$), situação que também esteve próxima da recorrência para o estado de abulia ($C = -0,444$, $p = 0,065$), adicionalmente, por exemplo, a manutenção e pequena variação detectadas entre as dosagens analisadas dos antidepressivos entre os momentos 2-1 mostraram-se estar correlacionadas com a redução dos estados de anergia e apatia ($C = 0,681$, $p = 0,005$ para ambos).

Para o segundo monitoramento, os 17 indivíduos reavaliados quanto ao BDI-II apresentaram uma redução desse escore médio de quase 20% em relação ao momento anterior; apenas um (5,88%) dos indivíduos apresentou sintomas depressivos com intensidade grave, e quase 65% deles diminuíram esse escore. Nesse monitoramento, os indivíduos com anergia e também os com abulia apresentaram maiores valores do BDI-II ($C = -0,554$, $p = 0,021$ e $C = -0,506$, $p = 0,038$). Igualmente para o terceiro e quarto monitoramentos, os indivíduos com abulia mantiveram-se com maiores escores no inventário de depressão ($C = -0,571$, $p = 0,033$ e $C = -0,616$, $p = 0,025$, respectivamente).

Para esse quarto e último monitoramento com número amostral significativo (momento 5), mais de 60% dos 13 indivíduos avaliados apresentaram redução do BDI-II em relação ao momento anterior; por sua vez, em relação aos seus valores iniciais, 53,85% dos indivíduos reduziram esse escore, com uma queda no valor médio desse inventário de sintomas depressivos de 17,20% para esse período (Tabela 5 e Gráfico 6). Nesse momento 5, as reduções dos percentuais de indivíduos com os estados de anergia, abulia e apatia foram de 38,38, 31,55 e 81,75%, respectivamente, em relação à avaliação inicial. Esses achados, atrelados aos aumentos personalizados mais rigorosos especialmente das dosagens de L-dopa nesses pacientes, observados nos momentos 2 e 3

do Gráfico 4, podem sugerir o impacto clínico do uso desse fármaco na redução dos sintomas depressivos e estados afins. Ainda que as médias inicial e do momento 5 das dosagens de L-dopa em seus usuários não tenham apresentado variações significativas, destaca-se que dentre os 19 pacientes que fizeram o uso de L-dopa, em 14 (73,68%) houve um incremento da dosagem ao longo dos monitoramentos realizados e em quatro (21,05%) houve uma manutenção.

A presente tese também considerou a relação entre o uso da L-dopa nesses indivíduos e impulsividade, partindo de reflexões sobre a possível associação abordada por autores como Pattij (2008), Segawa (2003) e López-Laso et al. (2011) entre a própria DRD e impulsividade. Nesse último estudo a impulsividade foi detectada em todos os sete pacientes adultos com DRD, mas não no grupo pediátrico.

Similarmente, conforme dissertação de mestrado e publicação de Alves Júnior et al. (2022), os casos estudados de transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) na infância nessa família foram diagnosticados exclusivamente em indivíduos sem a variação genética (prevalência de 28,57%, $p = 0,024$). Ressalta-se que nessa idade os indivíduos estudados com a variação genética (que aparentemente mostraram-se resilientes a esse transtorno) não faziam uso da L-dopa. Isso posto, quem tinha a variação referente à deficiência enzimática para a síntese de dopamina não apresentava TDAH na infância, mas o posterior uso terapêutico da L-dopa nesses indivíduos com a variante poderia estar relacionado à déficit de atenção, hiperatividade e impulsividade.

Para esse entendimento, resgata-se que o TDAH é caracterizado por níveis prejudiciais, persistentes e penetrantes de desatenção e/ou hiperatividade/**impulsividade** (American Psychiatric Association, 2013). Trata-se de um distúrbio bastante comum, que afeta 8,8% das crianças norte-americanas (segundo o *Centers for Disease Control and Prevention* de Atlanta), geralmente iniciado na infância. Todavia, a Associação Psiquiátrica Americana estima que **cerca de 2,5% dos adultos têm TDAH que, se identificado apenas no adulto, frequentemente se expressa como impulsividade.**

Com uma etiologia permeada por uma interação de fatores genéticos e ambientais, o TDAH é uma desordem crônica, complexa e heterogênea que também pode ser analisada à luz de uma interação disfuncional entre várias redes neuronais (Cortese S, 2012). Em uma de suas teorias clássicas, hipotetizava-se que nos portadores desse transtorno a dopamina e noradrenalina encontravam-se diminuídas (assim como o possivelmente observado nos pacientes com DYT/PARK-*GCH1* AD não tratados), fazendo com que a atividade do córtex pré-frontal fosse menor e apontando para um papel importante desses neurotransmissores no

comportamento e tomadas de decisão impulsivas (Pattij T, 2008 e Van Gaalen MM et al., 2006). Adicionalmente, uma alteração do funcionamento do sistema de serotonina também estaria relacionada à impulsividade. Essa premissa etiológica dopaminérgica também passaria pelo entendimento de que a dopamina funcione como um neuromodulador capaz de interferir na atividade de circuitos cerebrais e colocar o indivíduo em estado de motivação, habilitando-o à ação. Esse neurotransmissor fortaleceria vias neuronais interativas e comunicantes, localizadas em diferentes regiões cerebrais, que em indivíduos sem TDAH estão anti-correlacionadas. Entretanto, os baixos níveis de dopamina comprometeriam a modulação dessas vias, ativando uma e inativando outra, mediante circunstâncias devidas. A hipótese dessa deficiência dopaminérgica no TDAH é corroborada pelos fatos de que os sintomas desse transtorno são reduzidos pelo tratamento estimulante que bloqueia o mecanismo de recaptação de dopamina no corpo estriado e que alguns pacientes com TDAH apresentam anormalidades nos genes responsáveis pela regulação da dopamina. Especificamente, Volkow et al. (2009) observaram em indivíduos com TDAH uma redução nos marcadores sinápticos de dopamina na via de recompensa desse neuromodulador, associada a sintomas de desatenção. Essa redução poderia ocorrer devido a concentrações mais altas de transportadores de dopamina, mensurada como densidade do transportador de dopamina. Uma densidade mais alta resultaria em uma diminuição dos níveis de dopamina no cérebro, o que pode ser um fator de risco para o TDAH.

Ainda que um estudo mais recente tenha apontado que a principal causa desse distúrbio pode estar em diferenças estruturais neuroanatômicas na reduzida matéria cinzenta das redes límbica e fronto-estriatal-cerebelar desses indivíduos e não na alteração da disponibilidade de receptores dopaminérgicos D2/D3 ou de níveis de dopamina endógena (Del Campo N et al., 2013), o amplo e desafiador entendimento do papel da dopamina se faz pertinente.

A dopamina é de fato um neurotransmissor que controla uma variedade de funções, incluindo a atividade locomotora, motivação e recompensa, aprendizado e memória e regulação endócrina em mamíferos (KEGG, 2023b e Missale C et al., 1998).

Uma vez liberada dos terminais axonais pré-sinápticos, a dopamina interage com pelo menos cinco subtipos de receptores no sistema nervoso central, divididos em dois grupos: os receptores tipo D1 (D1Rs), compreendendo os receptores D1 e D5, ambos positivamente acoplados à produção de adenilil ciclase e monofosfato adenosina cíclica, e os receptores tipo D2 (D2Rs), compostos pelos receptores D2, D3 e D4, cuja ativação inibe a adenilil ciclase e suprime a produção de monofosfato adenosina cíclica (Beaulieu JM, 2011; Neve KA, 2004;

Surmeier DJ et al., 2007 e outros). Esses receptores do tipo D2 são responsáveis por autorregular a síntese e liberação da própria dopamina pré-sinápticamente (KEGG, 2023b). Adicionalmente, esses dois tipos de receptores regulam os níveis intracelulares de cálcio e vários processos de sinalização intracelular dependentes desse íon (Hu XT et al., 2005 e outros). Assim, **por meio de diversos mecanismos dependentes e independentes de monofosfato adenosina cíclica e cálcio, a dopamina influencia a atividade neuronal, a plasticidade sináptica e o comportamento.**

Mediante o exposto, **a dopamina é nomeada por muitos como a molécula da motivação.** A motivação é oriunda do circuito neuronal conhecido como sistema de recompensa, o qual a promove para a realização das atividades cotidianas que garantem a sobrevivência, reprodução e sensação de prazer. Dessa forma, estímulos neuronais nesse sistema de recompensa liberam esse neurotransmissor, resultando na percepção do prazer, razão pela qual **a dopamina também é conhecida como a molécula do prazer.**

Como parte de seu ciclo, a dopamina sofre recaptação pelos neurônios de origem, onde pode ser degradada nas células gliais e terminais pré-sinápticos neuronais pela enzima monoamina oxidase (KEGG, 2023a). Essa enzima, também conhecida por amina oxigênio oxirredutase (EC 1.4.3.4), contém o cofator flavina-adenosina-dinucleotídeo, localizado na membrana mitocondrial externa, e que catalisa a desaminação oxidativa de monoaminas endógenas, como os neurotransmissores dopamina e serotonina e também aminas exógenas (Binda C et al., 2002; Javitch JA et al., 1985 e Edmondson DE et al., 2009). Assim, **a monoamina oxidase inativa por metabolização a dopamina (e seus metabólitos noradrenalina e adrenalina) e a serotonina,** existindo em duas isoformas funcionais (A e B). Os substratos da isoforma A são a serotonina e a noradrenalina (os quais se encontram reduzidos nos estados depressivos, podendo ser tratados com inibidores dessa isoforma da monoamina oxidase). Os substratos da isoforma B são a feniletilamina e a dopamina (razão pela qual os inibidores da monoamina oxidase B têm atividade antiparkinsoniana) (Youdim MBH, 2006).

Dessa forma, **a monoamina oxidase, além de atuar nas sinapses dopaminérgicas (onde, em nível de área tegmentar ventral e núcleo accumbens, pode estar relacionada à impulsividade e ao prazer obtido no uso de substâncias como cocaína, anfetamina e álcool) e atuar nas sinapses serotoninérgicas, também está pontualmente envolvida no próprio metabolismo da tirosina, fenilalanina e triptofano (KEGG, 2023a). Como as isoformas funcionais, a monoamina oxidase também pode ser alvo de polimorfismos**

gênicos, com o potencial de propiciar variáveis expressões associadas aos SNM discutidos na presente tese.

No presente estudo, a motivação foi avaliada por meio das abordagens referentes aos distúrbios do humor e estados associados (pesquisa de anergia, especialmente de abulia, de apatia e de sintomas depressivos) e a impulsividade por meio da aplicação da escala BIS-11.

No acompanhamento clínico dos participantes do presente estudo, cinco dos seis indivíduos que apresentavam à avaliação inicial escores alterados de BIS-11 e tiveram suas doses de L-dopa aumentadas normalizaram sua escala de impulsividade já na primeira avaliação de monitoramento, sendo que três escalas foram normalizadas mediante redução de seus valores e duas mediante aumento de seus escores. Essa descrição aparentemente contraditória pode expressar **a característica da dopamina de atuar em níveis específicos para cada indivíduo; estando esse neurotransmissor acima ou abaixo dessa faixa, a impulsividade pode estar presente.** Estatisticamente, isso também se sugeriu mediante as correlações Spearman positivas ($C = 0,532$, $p = 0,028$) entre ambas variáveis “escore de BIS-11” e “impulsividade” e o delta da variação da dosagem de L-dopa no segundo monitoramento, considerando a dosagem inicial dos 17 indivíduos que preencheram essa escala. Essas correlações indicaram que uma maior variação na dosagem de L-dopa (observada mais intensamente pelos aumentos efetivados, mas potencialmente em qualquer sentido) estava correlacionada a uma escala BIS-11 mais alta e a maior impulsividade.

Já para a análise comparativa entre o quarto monitoramento (momento 5) e o momento de avaliação inicial, de forma mais específica e contextualizada, para os 13 indivíduos acompanhados, a correlação Spearman negativa em $p = 0,027$ entre os deltas de variação dos escores obtidos na BIS-11 e o de variação das dosagens de L-dopa apontou que **a conduta estabelecida de manutenção/aumento das dosagens de L-dopa esteve correlacionada a uma diminuição dos escores de impulsividade.** Isso posto, a dopamina inicialmente baixa nesses indivíduos poderia estar determinando impulsividade, corrigida pela adequação com doses mais elevadas de L-dopa.

Como esperado, os valores médios da BIS-11 não apresentaram variações relevantes entre a avaliação inicial e o quarto e último monitoramento mais significativo (momento 5), estando entre 64,35-67,07. **Entretanto, conforme Tabelas 4, 5 e Gráfico 8, se inicialmente 66,67% dos indivíduos apresentavam escala normal, no quarto monitoramento 84,62% dos indivíduos normalizaram esses valores, resultando em um incremento de quase 18 pontos percentuais.** Destaca-se a obtenção de níveis normais e sustentáveis nessa escala

especialmente em dois indivíduos que no momento inicial apresentavam-se “muito controlados”, após o aumento de suas doses de L-dopa.

Os antidepressivos, outros psicofármacos e psicoterapia efetivados no cuidado de alguns desses indivíduos podem ser considerados agentes sinérgicos dentro deste estudo de vida real e, portanto, também fatores confundidores para a análise do impacto da L-dopa. Registra-se, todavia, que esses complexos fatores devem ser considerados de forma criteriosa nessa análise. **Ao longo dos monitoramentos, que pese o viés do método equitativo descrito, um único indivíduo permaneceu sem o uso de antidepressivo, reafirmando a relevância da depressão como SNM nesses indivíduos com a variante genética. Entretanto, poucas variações foram efetivadas nesses fármacos ou em suas dosagens;** em especial, se destaca a preferência pelo uso de inibidores de recaptação de serotonina, noradrenalina e dopamina, observando a fisiopatogenia da DYT/PARK-*GCH1* AD. **No que se refere aos demais psicofármacos, se privilegiou manter a indicação dos fármacos previamente em uso,** conforme decisão dos prescritores assistentes; destaque para os ansiolíticos (alprazolam em especial) e para a quetiapina (para os quadros de bipolaridade). Adicionalmente, ressalta-se que em 8 (34,78%) dos 23 indivíduos inicialmente acompanhados registrou-se a indicação em algum momento de psicoterapia associada.

Por meio deste estudo de vida real “Gestão de casos e monitoramento clínico dos indivíduos com DYT/PARK-*GCH1* AD”, **conclui-se que a GVR se mostrou mais efetiva do que o cuidado fragmentado anteriormente ofertado. A GVR reduziu os sintomas motores da DRD (apenas um caso manteve resposta pobre) e da SPI (em 50% dos reavaliados no primeiro monitoramento e em 100% no segundo; com gravidade média 44,87% menor no quarto monitoramento em relação ao início). Em relação à avaliação inicial, a GVR também reduziu os sintomas depressivos (em 53,85% dos indivíduos e 17,20% do escore médio), os estados de anergia/abulia/apatia (em 38,38/31,55/81,75%) e o percentual de indivíduos com escala de impulsividade alterada (33,33 para 15,38%). Tais resultados sugerem que a GVR, baseada em tecnologias como a estratificação de risco de complicações e a atenção programada, fortaleça o cuidado individualizado a pessoas com síndrome de Segawa, podendo também ser aplicada a indivíduos com outras doenças raras e melhorar o acesso desses ao direito integral à saúde.**

Por fim, também se indicia que o uso da L-dopa foi determinante para a abordagem da SPI e de SNM avaliados. Para os indivíduos monitorados (nos quais não se observou redução da L-dopa ou aumento da abulia), a manutenção da L-dopa tendeu a diminuir a abulia ($C = -0,613$, $p = 0,020$). Também comparados ao momento inicial, a conduta de

manutenção/aumento das dosagens de L-dopa esteve correlacionada a uma diminuição dos escores de impulsividade ($C = -0,610$, $p = 0,027$). Ainda que a manutenção e pequena variação detectadas entre as dosagens analisadas dos antidepressivos entre os momentos 2-1 também mostraram-se estar correlacionadas com a redução dos estados de anergia e apatia ($C = 0,681$, $p = 0,005$ para ambos), **os achados do presente estudo, atrelados aos aumentos personalizados mais rigorosos especialmente das dosagens de L-dopa nesses pacientes, podem sugerir o impacto do uso da L-dopa na redução dos sintomas depressivos e estados afins.**

7 DISCUSSÃO

As discussões da presente tese constam dos respectivos conteúdos dos quatro artigos e do estudo anteriormente apresentados na seção 6 RESULTADOS.

8 CONCLUSÕES

Geral

- Os SNM devem ser considerados dentro do espectro das manifestações clínicas da DYT/PARK-*GCH1* AD, à luz da relevância do tratamento com L-dopa, e abordados, assim como essa DRD, de forma sistematizada por tecnologias de cuidados apropriadas para a natureza crônica dessa enfermidade.

Estudo 1

- Mediante os limitados estudos afins e a variabilidade de seus resultados, a revisão histórica apontou para a necessidade de estudos que aprofundem a análise da penetrância incompleta da DYT/PARK-*GCH1* AD em função de SNM, especialmente os depressivos. Esses estudos, entretanto, devem considerar o contexto da reposição terapêutica de L-dopa nos indivíduos acometidos por essa DRD.

Estudo 2

- Considerando especialmente os sintomas depressivos como parte dos SNM, o estudo efetivado em numerosa família acometida apontou que a penetrância da DYT/PARK-*GCH1* AD pode alcançar 88,20% (Alves Júnior AC et al., 2022).

Estudo 3

- Para os experimentos relatados, ademais de um influxo cerebral estimado de fenilalanina pouco maior nos indivíduos com a variação genética, com potencial para possível uso diagnóstico, o uso de L-dopa no grupo de indivíduos com a mutação, mesmo quando comparado a indivíduos com a mutação sem essa reposição, comumente resultou em diferenças de correlação entre importantes variáveis estudadas.

- Novos estudos são sugeridos com amostragem e tecnologias mais robustas para dosagens de neurotransmissores nesses indivíduos, buscando aprofundar os resultados obtidos e investigar, por exemplo, os benefícios da ingestão de melatonina por indivíduos com DYT/PARK-*GCH1* AD em uso de L-dopa.

Estudo 4

- Em ambas as gestações monitoradas, como os bebês demonstraram crescimento fetal adequado mediante exposição à L-dopa, mas reduzidos percentis de perímetro cefálico ao nascimento e de estatura com um mês de vida (com rápidos catch-ups), um aprofundamento da significância clínica desses achados se faz necessário, dentro do contexto relatado na literatura até o momento.

Estudos 4 e 5

- Há evidências de que a gestão de casos, baseada em tecnologias como a estratificação de risco de complicações e a atenção programada, fortaleceu o cuidado individualizado aos indivíduos com síndrome de Segawa, incluindo gestantes em uso de L-dopa, de maneira mais efetiva do que o cuidado fragmentado anteriormente oferecido.

- No monitoramento longitudinal do grupo de indivíduos com a *DYT/PARK-GCH1* AD, a GVR reduziu os sintomas motores da DRD e da SPI; em relação à avaliação inicial, a GVR também reduziu os sintomas depressivos, os estados de anergia/abulia/apatia e o percentual de indivíduos com escala de impulsividade alterada.

- Há evidências clínicas e estatísticas de que o uso da L-dopa também foi determinante na abordagem da SPI, dos SNM e estados associados entre os indivíduos com a variação genética investigados, correlacionando-se, por vezes, à melhora das condições não motoras investigadas.

- Sugere-se que a gestão de casos, nesta tese intitulada GVR, também possa ser aplicada a indivíduos com outras doenças raras, ampliando o acesso desses ao amplo direito à saúde.

REFERÊNCIAS

Abbott NJ, Rönnbäck L, Hansson E. Astrocyte–endothelial interactions at the blood–brain barrier. *Nat Rev Neurosci*. 2006 Jan;7(1):41–53. doi: 10.1038/nrn1824. PubMed PMID: 16371949.

Ahn TB et al. Residual signs of dopa-responsive dystonia with *GCH1* mutation following levodopa treatment are uncommon in Korean patients. *Parkinsonism Relat Disord*. 2019 Aug;65:248-51. doi: 10.1016/j.parkreldis.2019.06.005. Epub 2019 Jun 5. PubMed PMID: 31213404.

Allain H et al. Pregnancy and parkinsonism: a case report without problem. *Clin Neuropharmacol*. 1989 Jun;12(3):217–9. doi: 10.1097/00002826-198906000-00006. PubMed PMID: 2743345.

Allen RP. Restless leg syndrome/willis-ekbom disease patho-physiology. *Sleep Med Clin*. 2015 Sep;10(3):207-14, xi. doi: 10.1016/j.jsmc.2015.05.022. Epub 2015 Jul 15. PubMed PMID: 26329430; PubMed Central PMCID: PMC4559751.

Allen RP, Earley CJ. Augmentation of the restless legs syndrome with carbidopa/levodopa. *Sleep*. 1996 Apr;19(3):205-13. doi: 10.1093/sleep/19.3.205. PubMed PMID: 8723377.

Allen RP et al; International Restless Legs Syndrome Study Group (IRLSSG).. Evidence-based and consensus clinical practice guidelines for the iron treatment of restless legs syndrome/Willis-Ekbom disease in adults and children: an IRLSSG task force report. *Sleep Med*. 2018 Jan;41:27-44. doi: 10.1016/j.sleep.2017.11.1126. Epub 2017 Nov 24. PubMed PMID: 29425576.

Allen RP et al. The prevalence and impact of restless legs syndrome on patients with iron deficiency anemia. *Am J Hematol*. 2013 Apr;88(4):261-4. doi: 10.1002/ajh.23397. Epub 2013 Mar 12. PubMed PMID: 23494945.

Alliota SL. Case management of at-risk older people. In: Cochrane, D. *Managed care and modernization: a practitioner's guide*. Buckingham: Open University Press; 2001.

Alves DA et al. Restless legs syndrome during pregnancy in Brazilian women. *Sleep Med*. 2010 Dec;11(10):1049-54. doi: 10.1016/j.sleep.2010.06.006. Epub 2010 Oct 13. PubMed PMID: 20947424.

Alves Júnior AC. Compreendendo melhor a doença de Segawa a partir dos sintomas neuropsiquiátricos e do sono. (Dissertação de Mestrado). Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2017.

Alves Júnior AC et al. Neuropsychiatric and sleep study in autosomal dominant dopa-responsive dystonia. *Mol Genet Metab Rep*. 2022 Apr 18;31:100870. PubMed PMID: 35782624; PubMed Central PMCID: PMC9248209.

American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Fifth ed. DSM-5. Arlington: American Psychiatric Publishing ed.; 2013.

American Sleep Disorders Association Diagnostic Classification Steering Committee. The international classification of sleep disorders: diagnostic & coding manual. Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine; 2005.

Amorim P. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. *Braz J Psychiatry*. 2000;22(3):106-15. doi: 10.1590/S1516-44462000000300003.

Antelmi E et al. Nonmotor symptoms in dopa-responsive dystonia. *Mov Disord Clin Pract*. 2015 Jul 22;2(4):347-56. doi: 10.1002/mdc3.12211. PubMed PMID: 30363518; PubMed Central PMCID: PMC6178708.

Arrabal L et al. Genotype-phenotype correlations in sepiapterin reductase deficiency. A splicing defect accounts for a new phenotypic variant. *Neurogenetics*. 2011 Aug;12(3):183-91. doi: 10.1007/s10048-011-0279-4. Epub 2011 Mar 24. PubMed PMID: 21431957.

Asanuma K et al. The metabolic pathology of dopa-responsive dystonia. *Ann Neurol*. 2005 Apr;57(4):596–600. doi: 10.1002/ana.20442. PubMed PMID: 15786454.

Asmus F, Gasser T. Dystonia-plus syndromes. *Eur J Neurol*. 2010 Jul;17 Suppl 1:37-45. doi: 10.1111/j.1468-1331.2010.03049.x. PubMed PMID: 20590807.

Balint B, Bhatia KP. Dystonia: an update on phenomenology, classification, pathogenesis and treatment. *Curr Opin Neurol*. 2014 Aug;27(4):468-76. doi: 10.1097/WCO.0000000000000114. PubMed PMID: 24978640.

Ball MC, Sagar HJ. Levodopa in pregnancy. *Mov Disord*. 1995;10:115. doi: 10.1002/mds.870100119

Bally JF et al. Mild dopa-responsive dystonia in heterozygous tyrosine hydroxylase mutation carrier: Evidence of symptomatic enzyme deficiency? *Parkinsonism Relat Disord*. 2020 Feb;71:44-45. doi: 10.1016/j.parkreldis.2020.01.017. Epub 2020 Jan 30.

Barbosa P, Warner TT. Dystonia. *Handb Clin Neurol*. 2018;159:229-36. doi: 10.1016/B978-0-444-63916-5.00014-8. PubMed PMID: 30482316.

Baskaran D, Khan A, Hussain N. Neuropsychological difficulties associated with dopa responsive dystonia. *J Pediatr Neurosci*. 2018 Jan-Mar;13(1):100-2. doi: 10.4103/JPN.JPN_142_17. PubMed PMID: 29899782; PubMed Central PMCID: PMC5982475.

Beaulieu-Boire I, Lang AE. Behavioral effects of levodopa. *Mov Disord*. 2015 Jan;30(1):90-102. doi: 10.1002/mds.26121. Epub 2014 Dec 9. PubMed PMID: 25491470.

Beaulieu JM, Gainetdinov RR. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Journal Pharmacol Rev*. 2011 Mar;63(1):182-217. doi: 10.1124/pr.110.002642. Epub 2011 Feb 8. PubMed PMID: 21303898.

Beck AT et al. Terapia cognitiva da depressão. Ribeiro V, tradutor. Rio de Janeiro: Zahar; 1982.

Bendi VS et al. Motor fluctuations and levodopa-induced dyskinesias in dopa-responsive dystonia. *Parkinsonism Relat Disord*. 2018 May;50:126-7. doi: 10.1016/j.parkreldis.2018.02.011. Epub 2018 Feb 8. PubMed PMID: 29467094.

Berger SI, Miller I, Tochen L. Recessive GCH1 Deficiency Causing DOPA-Responsive Dystonia Diagnosed by Reported Negative Exome. *Pediatrics*. 2022 Feb 1;149(2):e2021052886. doi: 10.1542/peds.2021-052886. PubMed PMID: 35083481; PubMed Central PMCID: PMC8840640.

Bertolazi AN et al. Validação da escala de sonolência de Epworth em português para uso no Brasil. *J Bras Pneumol*. 2009;35(9):877-73. doi: 10.1590/S1806-37132009000900009.

Bertolazi AN et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index. *Sleep Med*. 2011 Jan;12(1):70-5. doi: 10.1016/j.sleep.2010.04.020. Epub 2010 Dec 9. PubMed PMID: 21145786.

Bianca S, Bianca M. A new deletion in autosomal dominant guanosine triphosphate cyclohydrolase I deficiency gene - Segawa disease. *J. Neural Transm (Vienna)*. 2006 Feb;113(2):159-62. doi: 10.1007/s00702-005-0308-2. Epub 2005 Jun 15. PubMed PMID: 15959854.

Binda C et al. Structure of human monoamine oxidase B, a drug target for the treatment of neurological disorders. *Nat Struct Mol Biol*. 2002 Jan;9(1):22–6. doi: 10.1038/nsb732. PubMed PMID: 11753429.

Blau NH, Georg F. red. Congenital neurotransmitter disorders – A clinical approach. US, New York, NY: Nova Science Publishers Inc; 2015.

Bledsoe IO, Viser AC, San Luciano M. Treatment of Dystonia: Medications, Neurotoxins, Neuromodulation, and Rehabilitation. *Neurotherapeutics*. 2020 Oct;17(4):1622-1644. doi: 10.1007/s13311-020-00944-0. Epub 2020 Oct 23. PubMed PMID: 33095402; PubMed Central PMCID: PMC7851280.

Boaden R et al. Evercare evaluation interim report: implications for supporting people with long-term conditions. Manchester: The National Primary Care Research and Development Centre; 2005.

Bonafé L et al. Diagnosis of dopa-responsive dystonia and other tetrahydrobiopterin disorders by the study of biopterin metabolism in fibroblasts. *Clin Chem*. 2001 Mar;47(3):477–85. PubMed PMID: 11238300.

Bonafé L et al. Mutations in the sepiapterin reductase gene cause a novel tetrahydrobiopterin-dependent monoamine-neurotransmitter deficiency without hyperphenylalaninemia. *Am J Hum Genet*. 2001 Aug;69(2):269-77. doi: 10.1086/321970. Epub 2001 Jul 6. PubMed PMID: 11443547; PubMed Central PMCID: PMC1235302.

Bradley M et al. A case of GCH-1 mutation dopa-responsive dystonia requiring high doses of levodopa for treatment. *Tremor Other Hyperkinet Mov (NY)*. 2021 Jun 24;11:23. doi: 10.5334/tohm.619. PubMed PMID: 34221698; PubMed Central PMCID: PMC8231451.

Briggs GG, Freeman RK, Yaffe SJ. *Drugs in pregnancy and lactation*. 9th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011.

Brique S et al. A new GTP-cyclohydrolase I mutation in an unusual dopa-responsive dystonia, familial form. *Neuroreport*. 1999 Feb 25;10(3):487-91. doi: 10.1097/00001756-199902250-00008. PubMed PMID: 10208576.

Brüggemann N et al. Beneficial Prenatal Levodopa Therapy in Autosomal Recessive Guanosine Triphosphate Cyclohydrolase 1 Deficiency. *Arch Neurol*. 2012 Aug;69(8):1071-5. doi:10.1001/archneurol.2012.104. Erratum in: *Arch Neurol*. 2013 Sep 1;70(9):1201. Dosage error in article text. PubMed PMID: 22473768.

Brüggemann N et al. Non-motor phenotype of dopa-responsive dystonia and quality of life assessment. *Parkinsonism Relat Disord*. 2014 Apr;20(4):428-31. doi: 10.1016/j.parkreldis.2013.12.014. Epub 2014 Jan 9. PubMed PMID: 24444533.

Brunello N et al. The role of noradrenaline and selective noradrenaline reuptake inhibition in depression. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2002 Oct;12(5):461–75. doi: 10.1016/s0924-977x(02)00057-3. PubMed PMID: 12208564.

Brzezinski A. Melatonin in humans. *N Engl J Med*. 1997 Jan 16;336(3):186-95. doi: 10.1056/NEJM199701163360306. PubMed PMID: 8988899.

Buchfuhrer MJ. Strategies for the treatment of restless legs syndrome. *Neurotherapeutics*. 2012 Oct;9(4):776-90. doi: 10.1007/s13311-012-0139-4. PubMed PMID: 22923001; PubMed Central PMCID: PMC3480566.

Campos-Sousa RN et al. Multiparity after an initial diagnosis of Parkinson's disease: a report of a rare case. *Fertil Steril*. 2008 Nov;90(5):2005.e1-2. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.01.037. Epub 2008 Apr 18. PubMed PMID: 18377902.

Cavalcanti AM et al. *Autocuidado apoiado: manual do profissional de saúde*. Curitiba: Secretaria Municipal de Saúde; 2012. 92p. [publicação online]. Disponível em file:///home/oem/Downloads/Autocuidado-Apoiado_Manual Profissional de Saúde_Ana Cavalcanti.pdf. Acesso em 12 abr 2023.

Ceravolo R. Expanding the clinical phenotype of DYT5 mutations: is multiple system atrophy a possible one? *Neurology*. 2013;81:301–2. PubMed PMID: 23771491.

Cesnik E et al. Transient RLS during pregnancy is a risk factor for the chronic idiopathic form. *Neurology*. 2010 Dec 7;75(23):2117-20. doi: 10.1212/WNL.0b013e318200d779. PubMed PMID: 21135386.

Chaithra SP et al. A case of late-onset dopa-responsive isolated dystonia secondary to a novel

tyrosine hydroxylase gene variant. Clin Park Relat Disord. 2020 Jan 21;3:100039. doi: 10.1016/j.prdoa.2020.100039. PubMed PMID: 34316625; PubMed Central PMCID: PMC8298801.

Chaudhuri KR et al. Parkinson's disease: the non-motor issues. Parkinsonism Relat Disord. 2011 Dec;17(10):717–23. doi: 10.1016/j.parkreldis.2011.02.018. Epub 2011 Jul 8. PubMed PMID: 21741874.

Chen Y et al. Clinical and genetic heterogeneity in a cohort of Chinese children with dopa-responsive dystonia. Front Pediatr. 2020 Feb 28;8:83. doi: 10.3389/fped.2020.00083. PubMed PMID: 32185155; PubMed Central PMCID: PMC7058807.

Chenbhanich J, Sringean J, Bhidayasiri R. Beyond the classic Segawa disease, *GCH1*-associated neurodegenerative parkinsonism: practical considerations for physicians. J Mov Disord. 2017;10(2):102-4. doi: 10.14802/jmd.17009. Epub 2017 Apr 18. PubMed PMID: 28415164; PubMed Central PMCID: PMC5435837.

Cherian A, Paramasivan NK, Divya KP. Dopa-responsive dystonia, DRD-plus and DRD look-alike: a pragmatic review. Acta Neurol Belg. 2021 Jun;121(3):613-23. doi: 10.1007/s13760-020-01574-1. Epub 2021 Jan 16. PubMed PMID: 33453040.

Chi CS, Lee HF, Tsai CR. Tyrosine hydroxylase deficiency in Taiwanese infants. Pediatr Neurol. 2012 Feb;46(2):77-82. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2011.11.012. PubMed PMID: 22264700.

Clot F et al. Exhaustive analysis of BH₄ and dopamine biosynthesis genes in patients with dopa-responsive dystonia. Brain. 2009 Jul;132(Pt 7):1753-63. doi: 10.1093/brain/awp084. Epub 2009 Jun 2. PubMed PMID: 19491146.

Connor JR et al. Iron and restless legs syndrome: treatment, genetics and pathophysiology. Sleep Med. 2017 Mar;31:61-70. doi: 10.1016/j.sleep.2016.07.028. Epub 2016 Nov 10. PubMed PMID: 28057495; PubMed Central PMCID: PMC5334282.

Cook DG, Klawans HL. Levodopa during pregnancy. Clin Neuropharmacol. 1985;8(1):93–5. doi: 10.1097/00002826-198503000-00010. PubMed PMID: 3978654.

Cortese S, Castellanos FX. Neuroimaging of attention-deficit/hyperactivity disorder: current neuroscience-informed perspectives for clinicians. Curr Psychiatry Rep. 2012 Oct;14(5):568-78. doi: 10.1007/s11920-012-0310-y. PubMed PMID: 22851201; PubMed Central PMCID: PMC3876939.

Cotter PE, O'Keefe ST. Restless leg syndrome: is it a real problem? Ther Clin Risk Manag. 2006 Dec;2(4):465-75.

Couto CM et al. A severe l-dopa responsive dystonia with slow and continuous improvement in a patient with a novel mutation in the tyrosine hydroxylase gene. Mov Disord Clin Pract. 2019 May 2;6(6):486-7. doi: 10.1002/mdc3.12769. PubMed PMID: 31392251; PubMed Central PMCID: PMC6660226.

Daida K et al. Deep brain stimulation shows high efficacy in two patients with GCH1 variants. *Parkinsonism Relat Disord.* 2019 Aug;65:277–8. doi: 10.1016/j.parkreldis.2019.06.002. Epub 2019 Jun 3. PubMed PMID: 31178337.

Dayasiri KC et al. GTP-Cyclohydrolase I deficiency presenting as malignant hyperphenylalaninemia, recurrent hyperthermia and progressive neurological dysfunction in a South Asian child - a case report. *BMC Pediatr.* 2019 Jun 15;19(1):199. doi: 10.1186/s12887-019-1580-x. PubMed PMID: 31202265; PubMed Central PMCID: PMC6570886.

De La Fuente-Fernández R et al. VMAT2 binding is elevated in dopa-responsive dystonia: visualizing empty vesicles by PET. *Synapse.* 2003 Jul;49(1):20–8. doi: 10.1002/syn.10199. PubMed PMID: 12710012.

Del Campo N et al. A positron emission tomography study of nigro-striatal dopaminergic mechanisms underlying attention: implications for ADHD and its treatment. *Brain.* 2013 Nov;136(Pt 11):3252–70. doi: 10.1093/brain/awt263. PubMed PMID: 24163364; PubMed Central PMCID: PMC4125626.

De Yebeles JG et al. Long-term treatment with levodopa in a family with autosomal dominant torsion dystonia. *Adv Neurol.* 1988;50:101–11. PubMed PMID: 3400489.

Diez-Fairen M et al. The genetic landscape of parkinsonism-related dystonias and atypical parkinsonism-related syndromes. *Int J Mol Sci.* 2021 Jul 28;22(15):8100. doi: 10.3390/ijms22158100. PubMed PMID: 34360863; PubMed Central PMCID: PMC8347917.

Dobričić V et al. GCH1 mutations are common in Serbian patients with dystonia-parkinsonism: challenging previously reported prevalence rates of DOPA-responsive dystonia. *Parkinsonism Relat Disord.* 2017 Dec;45:81–4. doi: 10.1016/j.parkreldis.2017.09.017. Epub 2017 Sep 18. PubMed PMID: 28958832.

Dodel R et al. Health economic burden of patients with restless legs syndrome in a German ambulatory setting. *Pharmacoeconomics.* 2010;28(5):381–93. doi: 10.2165/11531030-000000000-00000. PubMed PMID: 20297866.

Dong HY et al. Dopa-responsive dystonia caused by tyrosine hydroxylase deficiency: Three cases report and literature review. *Medicine (Baltimore).* 2020 Aug 14;99(33):e21753. doi: 10.1097/MD.00000000000021753. PubMed PMID: 32872068; PubMed Central PMCID: PMC7437766.

Dong W et al. Deep brain stimulation for the treatment of dopa-responsive dystonia: a case report and literature review. *World Neurosurg.* 2020 Apr;136:394–8.e5. doi: 10.1016/j.wneu.2020.01.032. Epub 2020 Jan 16. PubMed PMID: 31954905.

Dostal M et al. Pregnancy outcome following use of levodopa, pramipexole, ropinirole, and rotigotine for restless legs syndrome during pregnancy: a case series. *Eur J Neurol.* 2013 Sep;20(9):1241–6. doi: 10.1111/ene.12001. Epub 2012 Oct 22. PubMed PMID: 23083216.

Douglas G et al. A requirement for Gch1 and tetrahydrobiopterin in embryonic development. *Dev Biol.* 2015 Mar 1;399(1):129–38. doi: 10.1016/j.ydbio.2014.12.025. Epub 2014 Dec 31. PubMed PMID: 25557619; PubMed Central PMCID: PMC4347993.

Doummar D et al. Monoamine neurotransmitters and movement disorders in children and adults. *Rev Neurol (Paris)*. 2018 Nov;174(9):581-8. doi: 10.1016/j.neurol.2018.07.002. Epub 2018 Aug 27. PubMed PMID: 30166070.

Drugs and Lactation Database (LactMed). Levodopa. [publicação online]. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK501337/?report=reader>. Acesso em 11 set 2022.

Dubocovich ML et al. Molecular pharmacology, regulation and function of mammalian melatonin receptors. *Front Biosci*. 2003 Sep 1;8:d1093-108. doi: 10.2741/1089. PubMed PMID: 12957828.

Duman R. The neurochemistry of mood disorders: preclinical studies. In: Charney D, Nestler E, Bunney B, eds. *Neurobiology of Mental Illness*. New York: Oxford University Press; 1999. p. 333–47.

Dunietz GL et al. Restless legs syndrome and sleep-wake disturbances in pregnancy. *J Clin Sleep Med*. 2017 Jul 15;13(7):863–70. doi: 10.5664/jcsm.6654. PubMed PMID: 28633715; PubMed Central PMCID: PMC5482577.

Earley CJ et al. Abnormalities in CSF concentrations of ferritin and transferrin in restless legs syndrome. *Neurology*. 2000 Apr 25;54(8):1698-700. doi: 10.1212/wnl.54.8.1698. PubMed PMID: 10762522.

Ebrahimi-Fakhari D et al. Disruption of SOX6 is associated with a rapid-onset dopa-responsive movement disorder, delayed development, and dysmorphic features. *Pediatr Neurol*. 2015 Jan;52(1):115-8. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2014.08.021. Epub 2014 Sep 17. PubMed PMID: 25439488.

Echenne B et al. Sepiapterin reductase deficiency: clinical presentation and evaluation of long-term therapy. *Pediatr Neurol*. 2006 Nov;35(5):308-13. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2006.05.006. PubMed PMID: 17074599.

Edmondson DE et al. Molecular and mechanistic properties of the membrane-bound mitochondrial monoamine oxidases. *Biochemistry*. 2009 May 26;48(20):4220-30. doi: 10.1021/bi900413g. PubMed PMID: 19371079; PubMed Central PMCID: PMC2710584.

Eggers C et al. Are Dopa-responsive dystonia and Parkinson's disease related disorders? A case report. *Parkinsonism Relat Disord*. 2012 Jun;18(5):666-8. doi: 10.1016/j.parkreldis.2011.10.003. Epub 2011 Oct 24. PubMed PMID: 22030322.

Ekbom KA. Restless legs syndrome. *Neurology*. 1960 Sep;10:868–73. doi: 10.1212/wnl.10.9.868. PubMed PMID: 13726241.

Eye PG et al. Pure hypotonia in a four-year-old patient: an atypical presentation of dopa-responsive dystonia. *J Neurol Sci*. 2019 Aug 15;403:125-6. doi: 10.1016/j.jns.2019.06.010. Epub 2019 Jun 13. PubMed PMID: 31279255.

Fasano A, Bove F, Lang AE. The treatment of dystonic tremor: a systematic review.

J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2014 Jul;85(7):759-69. doi: 10.1136/jnnp-2013-305532. Epub 2013 Oct 28. PubMed PMID: 24167042.

Feng B et al. Compound heterozygous mutations in the TH gene in a Chinese family with autosomal-recessive dopa-responsive dystonia: a case report. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Nov;97(44):e12870. doi: 10.1097/MD.00000000000012870. PubMed PMID: 30383639; PubMed Central PMCID: PMC6221754.

Fernández-Ramos JA et al. Genetic landscape of Segawa disease in Spain. Long-term treatment outcomes. *Parkinsonism Relat Disord*. 2022 Jan;94:67-78. doi: 10.1016/j.parkreldis.2021.11.014. Epub 2021 Nov 25. PubMed PMID: 34890878.

Friedman J et al. Sepiapterin reductase deficiency: a treatable mimic of cerebral palsy. *Ann Neurol*. 2012 Apr;71(4):520-30. doi: 10.1002/ana.22685. PubMed PMID: 22522443.

Friedman JR. What Is not in the name? Dopa-responsive dystonia may respond to more than L-dopa. *Pediatr Neurol*. 2016 Jun;59:76-80. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2015.12.016. Epub 2016 Mar 4. PubMed PMID: 27080360.

Furukawa Y. Genetics and biochemistry of dopa-responsive dystonia: significance of striatal tyrosine hydroxylase protein loss. *Adv Neurol*. 2003;91:401–10. PubMed PMID: 12442699.

Furukawa Y. GTP cyclohydrolase 1-deficient dopa-responsive dystonia. 2002 Feb 21 [updated 2019 Jan 24]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2020. PubMed PMID: 20301681.

Furukawa Y. Update on dopa-responsive dystonia: locus heterogeneity and biochemical features. *Adv Neurol*. 2004;94:127-38. PubMed PMID: 14509665.

Furukawa Y et al. A marked contrast between serotonergic and dopaminergic changes in dopa-responsive dystonia. *Neurology*. 2016 Sep 6;87(10):1060-1. doi: 10.1212/WNL.0000000000003065. Epub 2016 Aug 3. PubMed PMID: 27488599; PubMed Central PMCID: PMC5027808.

Furukawa Y et al. Brain biopterin and tyrosine hydroxylase in asymptomatic dopa-responsive dystonia. *Ann Neurol*. 2002 May;51(5):637–41. doi: 10.1002/ana.10175. PubMed PMID: 12112113.

Furukawa Y et al. Dopa-responsive dystonia. In: Frucht SJ, ed. *Movement Disorder Emergencies: Diagnosis and Treatment*. 2 ed. New York, NY: Springer (Humana Press); 2013:319-40.

Furukawa Y et al. Dopa-responsive dystonia due to a large deletion in the GTP cyclohydrolase I gene. *Ann Neurol*. 2000 Apr;47(4):517–20. PubMed PMID: 10762165.

Furukawa Y et al. Gender-related penetrance and de novo GTP-cyclohydrolase I gene mutations in dopa-responsive dystonia. *Neurology*. 1998 Apr;50(4):1015–20. doi: 10.1212/wnl.50.4.1015. PubMed PMID: 9566388.

Furukawa Y et al. Striatal biopterin and tyrosine hydroxylase protein reduction in dopa-responsive dystonia. *Neurology*. 1999 Sep 22;53(5):1032-41. doi: 10.1212/wnl.53.5.1032. PubMed PMID: 10496263.

Furukawa Y, Kish S. Tyrosine hydroxylase deficiency. 2008 Feb 8 [updated 2017 May 11]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2020. PubMed PMID: 20301610.

Furukawa Y, Kish SJ. Dopa-responsive dystonia: recent advances and remaining issues to be addressed. *Mov Disord*. 1999 Sep;14(5):709–15. doi: 10.1002/1531-8257(199909)14:5<709::aid-mds1001>3.0.co;2-t. PubMed PMID: 10495030.

Gallagher P et al. Two in the hand, an essential lesson in tremor management. *Pract Neurol*. 2010 Jun;10(3):160-3. doi: 10.1136/jnnp.2010.211847. PubMed PMID: 20498189.

Garbazza C, Manconi M. Management Strategies for Restless Legs Syndrome/Willis-Ekbom Disease During Pregnancy. *Sleep Med Clin*. 2018 Sep; 13(3):335–48. doi: 10.1016/j.jsmc.2018.05.001. PubMed PMID: 30098751.

Gensichen J et al. Practice-based depression case management in primary care: a qualitative study on family doctors' perspectives. *Fam Pract*. 2011 Oct; 28(5):565-71. doi: 10.1093/fampra/cmr014. Epub 2011 Mar 31. PubMed PMID: 21459771.

Gershanik OS, Leist A. Juvenile onset of Parkinson's disease. *Adv Neurol*. 1986;45:213–6. PubMed PMID: 3825691.

Giri S et al. A compound heterozygote for GCH1 mutation represents a case of atypical dopa-responsive dystonia. *J Mol Neurosci*. 2019 Jun;68(2):214-20. doi: 10.1007/s12031-019-01301-3. Epub 2019 Mar 25. PubMed PMID: 30911941.

Golbe LI. Parkinson's disease and pregnancy. *Neurology*. 1987 Jul;37(7):1245–9. doi: 10.1212/WNL.37.7.1245. PubMed PMID: 3601093.

Gomes-Oliveira MH et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Beck Depression Inventory-II in a community sample. *Braz J Psychiatry*. 2012 Dec;34(4):389-94. doi: 10.1016/j.rbp.2012.03.005. PubMed PMID: 23429809.

Goodchild RE, Grundmann K, Pisani A. New genetic insights highlight 'old' ideas on motor dysfunction in dystonia. *Trends Neurosci*. 2013 Dec;36(12):717-25. doi: 10.1016/j.tins.2013.09.003. Epub 2013 Oct 18. PubMed PMID: 24144882.

Goodman JD, Brodie C, Ayida GA. Restless leg syndrome in pregnancy. *BMJ*. 1988 Oct;297(6656):1101–2. doi: 10.1136/bmj.297.6656.1101-a. PubMed PMID: 3143441; PubMed Central PMCID: PMC1834895.

Gorestein C et al. Inventário de Depressão de Beck – BDI-II: manual; adaptação brasileira. São Paulo: Casapsi Livraria e Editora Ltda; 2011.

Grimes DA et al. Phenocopies in a large GCH1 mutation positive family with dopa responsive dystonia: confusing the picture? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002 Jun;72(6):801–4. doi: 10.1136/jnnp.72.6.801. PubMed PMID: 12023430; PubMed Central PMCID: PMC1737930.

Grötzsch H et al. Neuropathology of a case of dopa-responsive dystonia associated with a new genetic locus, DYT14. *Neurology*. 2002 Jun 25;58(12):1839-42. doi: 10.1212/wnl.58.12.1839. PubMed PMID: 12084887.

Grover A, Clark-Bilodeau C, D'Ambrosio CM. Restless leg syndrome in pregnancy. *Obstet Med*. 2015 Sep;8(3):121-5. doi: 10.1177/1753495X15587452. Epub 2015 Jun 12. PubMed PMID: 27512466; PubMed Central PMCID: PMC4935023.

Guillet C et al. Electroconvulsive therapy and dopa-responsive dystonia: improvements in neurological symptoms after electroconvulsive therapy treatment. *J ECT*. 2020 Dec;36(4):e53-e54. doi: 10.1097/YCT.0000000000000696. PubMed PMID: 32453189.

Hagell P, Odin P, Vinge C. Pregnancy in Parkinson's disease. A review of the literature and a case report. *Mov Disord*. 1998 Jan;13(1):34–8. doi: 10.1002/mds.870130110. PubMed PMID: 9452323.

Hagenah J et al. High mutation rate in dopa-responsive dystonia: detection with comprehensive GCHI screening. *Neurology*. 2005 Mar 8;64(5):908-11. doi: 10.1212/01.WNL.0000152839.50258.A2. PubMed PMID: 15753436.

Haggstrom L, Darveniza P, Tisch S. Mild parkinsonian features in dystonia: Literature review, mechanisms and clinical perspectives. *Parkinsonism Relat Disord*. 2017 Feb;35:1-7. doi: 10.1016/j.parkreldis.2016.10.022. Epub 2016 Oct 29. PubMed PMID: 27825543.

Hahn H et al. Neurologic and psychiatric manifestations in a family with a mutation in exon 2 of the guanosine triphosphate-cyclohydrolase gene. *Arch Neurol*. 2001 May;58(5):749–55. doi: 10.1001/archneur.58.5.749. PubMed PMID: 11346370.

Harari S, Humbert M. Ultra-rare disease: an European perspective. *Eur Respir Rev* 2020;29:200195. doi:10.1183/16000617.0195-2020.

Harwood G et al. Lessons from a remarkable family with dopa-responsive dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 1994 Apr;57(4):460-3. doi: 10.1136/jnnp.57.4.460. PubMed PMID: 8163996; PMCID: PMC1072876.

Hasan MS et al. Anesthetic considerations in scoliosis patient with dopa-responsive dystonia or Segawa's syndrome. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2017 Jan;25(1):2309499016684743. doi: 10.1177/2309499016684743. PubMed PMID: 28166704.

Hasegawa T et al. Case report: guitarist's cramp as the initial manifestation of dopa-responsive dystonia with a novel heterozygous GCH1 mutation. *F1000Res*. 2021 May 7;10:361. doi: 10.12688/f1000research.51433.1. PubMed PMID: 34394914; PubMed Central PMCID: PMC8356262.

Haugarvoll K, Bindoff LA. A novel compound heterozygous tyrosine hydroxylase mutation (p.R441P) with complex phenotype. *J Parkinsons Dis.* 2011;1(1):119-22. doi: 10.3233/JPD-2011-11006. PubMed PMID: 23939262.

Hawkins RA et al. Amino Acid Transport Across Each Side of the Blood–Brain Barrier. In: ed. J.P.F. D’Mello. *Amino Acids in Human Nutrition and Health.* CAB International; 2011. p. 191-214.

Hawkins RA et al. Synergism between the two membranes of the blood-brain barrier: Glucose and amino acid transport. *Am J Neurosci Res.* 2013;1:1–25.

Hertenstein E et al. Sleep in patients with primary dystonia: a systematic review on the state of research and perspectives. *Sleep Med Rev.* 2016 Apr;26:95-107. doi: 10.1016/j.smrv.2015.04.004. Epub 2015 May 9. PubMed PMID: 26164369.

HGNC – Hugo Gene Nomenclature Committee. (2022). Symbol report for *GCH1*. [publicação online]. Disponível em https://www.genenames.org/data/gene-symbol-report/#!/hgnc_id/4193. Acesso em 05 jan 2022.

HGNC – Hugo Gene Nomenclature Committee. (2022). * 182125 Sepiapterin reductase; SPR [publicação online]. Disponível em <https://www.omim.org/entry/1821252022>. Acesso em 21 jan 2022.

Himmelreich N, Blau N, Thöny B. Molecular and metabolic bases of tetrahydrobiopterin (BH₄) deficiencies. *Mol Genet Metab.* 2021 Jun;133(2):123-36. doi: 10.1016/j.ymgme.2021.04.003. Epub 2021 Apr 19. PubMed PMID: 33903016.

Hjermind LE et al. Dopa-responsive dystonia and early-onset Parkinson's disease in a patient with GTP cyclohydrolase I deficiency? *Mov Disord.* 2006 May;21(5):679–82. PubMed PMID: 16267845.

Hoffmann GF et al. Tyrosine hydroxylase deficiency causes progressive encephalopathy and dopa-nonresponsive dystonia. *Ann Neurol.* 2003;54 Suppl 6:S56-65. doi: 10.1002/ana.10632. PubMed PMID: 12891655.

Hou M et al. Levodopa is effective in the treatment of three Chinese Tyrosine hydroxylase (TH) deficiency children. *Int J Dev Neurosci.* 2019 Nov;78:28-32. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2019.08.002. Epub 2019 Aug 13. PubMed PMID: 31419477.

Howze KE et al. Anesthetic implications for patients with Segawa syndrome. *J Clin Anesth.* 2016 Dec;35:350-7. doi: 10.1016/j.jclinane.2016.08.023. Epub 2016 Oct 13. PubMed PMID: 27871555.

Hu XT et al. Dopamine D2 receptor-activated Ca²⁺ signaling modulates voltage-sensitive sodium currents in rat nucleus accumbens neurons. *Journal J Neurophysiol.* 2005 Mar;93(3):1406-17. doi: 10.1152/jn.00771.2004. Epub 2004 Dec 8. PubMed PMID: 15590733.

Hübner A et al. Characteristics and determinants of restless legs syndrome in pregnancy: a prospective study. *Neurology*. 2013 Feb 19;80(8):738-42. doi: 10.1212/WNL.0b013e318283baf3. Epub 2013 Feb 6. PubMed PMID: 23390174.

Hwang WJ et al. The long-term response to levodopa in dopa-responsive dystonia. *Parkinsonism Relat Disord*. 2001 Sep;8(1):1-5. doi: 10.1016/s1353-8020(00)00084-5. PubMed PMID: 11472874.

Hyland K et al. Oral phenylalanine loading in dopa-responsive dystonia: a possible diagnostic test. *Neurology*. 1997 May;48(5):1290-7. doi: 10.1212/wnl.48.5.1290. PubMed PMID: 9153460.

Ichinose H et al. Characterization of mouse and human GTP cyclohydrolase I genes. Mutations in patients with GTP cyclohydrolase I deficiency. *J Biol Chem*. 1995 Apr 28;270(17):10062–71. doi: 10.1074/jbc.270.17.10062. PubMed PMID: 7730309.

Ichinose H et al. GTP cyclohydrolase regulation: implications for brain development and function. *Adv Pharmacol*. 2013;68:23-35. doi: 10.1016/B978-0-12-411512-5.00003-8. PubMed PMID: 24054139.

Ichinose H et al. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation caused by mutations in the GTP cyclohydrolase I gene. *Nat Genet*. 1994 Nov;8(3):236–42. doi: 10.1038/ng1194-236. PubMed PMID: 7874165.

Innes EA et al. SPG11 presenting with dystonic tremor in childhood. *Parkinsonism Relat Disord*. 2022 Jun;99:76-78. doi: 10.1016/j.parkreldis.2022.05.011. Epub 2022 May 19. PubMed PMID: 35617747.

International Restless Legs Syndrome Study Group. IRLS Rating Scale [publicação online]. Disponível em <https://www.irlssg.org/RLS-Rating>. Acesso em 17 fev 2022.

Jacobsen JP et al. Deficient serotonin neurotransmission and depression-like serotonin biomarker alterations in tryptophan hydroxylase 2 (Tph2) loss-of-function mice. *Mol Psychiatry*. 2012 Jul;17(7):694–704. doi: 10.1038/mp.2011.50. Epub 2011 May 3. PubMed PMID: 21537332; PubMed Central PMCID: PMC3536482.

Jain R, Shukla B, Mittal M. Delayed diagnosis of dopa responsive dystonia in two siblings. *Indian Pediatr*. 2016 May 8;53(5):427-8. doi: 10.1007/s13312-016-0868-2. PubMed PMID: 27254057.

Jan MM. Misdiagnoses in children with dopa-responsive dystonia. *Pediatr Neurol*. 2004 Oct;31(4):298-303. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2004.03.017. PubMed PMID: 15464646.

Javitch JA et al. Parkinsonism-inducing neurotoxin, N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6 - tetrahydropyridine: uptake of the metabolite N-methyl-4-phenylpyridine by dopamine neurons explains selective toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985 Apr;82(7):2173-7. doi: 10.1073/pnas.82.7.2173.

Jeon BS et al. Dopa-responsive dystonia: a syndrome of selective nigrostriatal dopamine deficiency. In: Fahn S, Marsden CD, DeLong M, editors. *Dystonia 3: advances in neurology*,

vol. 78. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1998a. p. 309–17.

Jeon BS et al. Dopamine transporter density measured by [123I]beta-CIT singlephoton emission computed tomography is normal in doparesponsive dystonia. *Ann Neurol*. 1998b June;43(6):792–800. doi:10. 1002/ana.410430614. PubMed PMID: 9629849.

Jhoo JH et al. Availability of brain serotonin transporters in patients with restless legs syndrome. *Neurology*. 2010 Feb 9;74(6):513-8. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181cef824. PubMed PMID: 20142619.

Jinnah HA et al; International Parkinson's Disease Movement Disorders Society Task Force on Rare Movement Disorders. Treatable inherited rare movement disorders. *Mov Disord*. 2018 Jan;33(1):21-35. doi: 10.1002/mds.27140. Epub 2017 Sep 1. PubMed PMID: 28861905; PubMed Central PMCID: PMC5921079.

Kang JH et al. A novel missense mutation of the GTP cyclohydrolase I gene in a Korean family with hereditary progressive dystonia/dopa-responsive dystonia. *Brain Dev*. 2004 Aug;26(5):287–91. doi: 10.1016/S0387-7604(03)00167-0. PubMed PMID: 15165667.

Katus LE, Frucht SJ. An unusual presentation of tyrosine hydroxylase deficiency. *J Clin Mov Disord*. 2017 Dec 5;4:18. doi: 10.1186/s40734-017-0065-z. PubMed PMID: 29225908; PubMed Central PMCID: PMC5716367.

Kaur M, Sharma U, Solanki RK. Anesthetic nuances in Segawa's syndrome: a case report and review of the literature. *Saudi J Anaesth*. 2020 Oct-Dec;14(4):524-27. doi: 10.4103/sja.SJA_809_19. Epub 2020 Sep 24. PubMed PMID: 33447199; PubMed Central PMCID: PMC7796737.

Kawahata I, Fukunaga K. Degradation of tyrosine hydroxylase by the ubiquitin-proteasome system in the pathogenesis of Parkinson's disease and dopa-responsive dystonia. *Int J Mol Sci*. 2020 May 27;21(11):3779. doi: 10.3390/ijms21113779. PubMed PMID: 32471089; PubMed Central PMCID: PMC7312529.

KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. KEGG PATHWAY Database. MAO [publicação online]. Disponível em https://www.kegg.jp/kegg-bin/search_pathway_text?map=map&keyword=MAO&mode=1&viewImage=true. Acesso em 05 jan 2023a.

KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. KEGG PATHWAY Database. Pathway: map04728. Dopaminergic synapse [publicação online]. Disponível em <https://www.kegg.jp/entry/map04728>. Acesso em 05 jan 2023b.

Kehagia AA. Neuropsychiatric symptoms in Parkinson's disease: beyond complications. *Front. Psychiatry*. 2016. vol. 7. doi: 10.3389/fpsy.2016.00110.

Keszthelyi D, Troost FJ, Masclee AAM. Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function. *Neurogastroenterol Motil*. 2009 Dec;21(12):1239–49. doi: 10.1111/j.1365-2982.2009.01370.x. Epub 2009 Jul 28. PubMed PMID: 19650771.

Khan M et al. The prevalence of restless leg syndrome among pregnant Saudi women. *Avicenna J Med*. 2018 Jan-Mar;8(1):18-23. doi: 10.4103/ajm.AJM_123_17. PubMed PMID: 29404269; PubMed Central PMCID: PMC5782416.

Kikuchi A et al. Arg(184)His mutant GTP cyclohydrolase I, causing recessive hyperphenylalaninemia, is responsible for dopa-responsive dystonia with parkinsonism: a case report. *Mov Disord*. 2004 May;19(5):590–3. doi: 10.1002/mds.10712. PubMed PMID: 15133828.

Kim JI et al. A novel missense mutation in GCH1 gene in a Korean family with Segawa disease. *Brain Dev*. 2015 Mar;37(3):359-61. doi: 10.1016/j.braindev.2014.05.008. Epub 2014 Jun 16. PubMed PMID: 24948553.

Kim MS, Yoon JH. Dopa-responsive dystonia presenting with predominant hemifacial dystonia. *Acta Neurol Belg*. 2017 Dec;117(4):955-6. doi: 10.1007/s13760-017-0771-1. Epub 2017 Mar 24. PubMed PMID: 28342019.

Kim R, Jeon B, Lee WW. A systematic review of treatment outcome in patients with dopa-responsive dystonia (DRD) and DRD-Plus. *Mov Disord Clin Pract*. 2016 Jun 6;3(5):435-42. doi: 10.1002/mdc3.12361. PubMed PMID: 30363598; PubMed Central PMCID: PMC6178724.

Kim W et al. Early-onset autosomal dominant GTP-cyclohydrolase I deficiency: diagnostic delay and residual motor signs. *Brain Dev*. 2021 Aug;43(7):759-67. doi: 10.1016/j.braindev.2021.02.006.

Kish SJ et al. Preferential loss of serotonin markers in caudate versus putamen in Parkinson's disease. *Brain*. 2008 Jan (Pt 1);131:120–31. doi: 10.1093/brain/awm239. Epub 2007 Oct 22. PubMed PMID: 17956909.

Kishore A et al. Striatal D2 receptors in symptomatic and asymptomatic carriers of dopa-responsive dystonia measured with [11C]-raclopride and positron-emission tomography. *Neurology*. 1998 Apr;50(4):1028–32. doi: 10.1212/wnl.50.4.1028. PubMed PMID: 9566390.

Klein C. Genetics in dystonia. *Parkinsonism Relat Disord*. 2014 Jan;20 Suppl 1:S137-42. doi: 10.1016/S1353-8020(13)70033-6. PubMed PMID: 24262166.

Klein C, Münchau A. Progressive dystonia. *Handb Clin Neurol*. 2013;113:1889-97. doi: 10.1016/B978-0-444-59565-2.00059-9. PubMed PMID: 23622412.

Koh J, Ito H. Differential diagnosis of Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders. *Nihon Rinsho*. 2017 Jan;75(1):56-62. PubMed PMID: 30566295.

Koht J et al. Clinical and genetic studies in a family with a novel mutation in the sepiapterin reductase gene. *Acta Neurol Scand Suppl*. 2014;(198):7-12. doi: 10.1111/ane.12230. PubMed PMID: 24588500.

Kondori MJ et al. Management of Restless Legs Syndrome in Pregnancy and Lactation. *J Prim Care Community Health*. 2020 Jan-Dec;11:2150132720905950. doi:

10.1177/2150132720905950. PubMed PMID: 32054396; PubMed Central PMCID: PMC7025421.

Koy A et al. Advances in management of movement disorders in children. *Lancet Neurol*. 2016 Jun;15(7):719-35. doi: 10.1016/S1474-4422(16)00132-0. Epub 2016 May 9. PubMed PMID: 27302239.

Kulshreshtha D et al. Dopa-responsive dystonia in a child misdiagnosed as cerebral palsy. *J Pediatr Neurosci*. 2017 Apr-Jun;12(2):172-3. doi: 10.4103/jpn.JPN_123_16. PubMed PMID: 28904579; PubMed PMCID: PMC5588646.

Kuwabara K et al. A novel compound heterozygous TH mutation in a Japanese case of dopa-responsive dystonia with mild clinical course. *Parkinsonism Relat Disord*. 2018 Jan;46:87-9. doi: 10.1016/j.parkreldis.2017.10.019. Epub 2017 Oct 26. PubMed PMID: 29126763.

Lee JH et al. Dopa-responsive dystonia with a novel initiation codon mutation in the *GCH1* gene misdiagnosed as cerebral palsy. *J Korean Med Sci*. 2011 Sep;26(9):1244-6. doi: 10.3346/jkms.2011.26.9.1244. Epub 2011 Sep 1. PubMed PMID: 21935284; PubMed Central PMCID: PMC3172666.

Lee WW, Jeon BS. Clinical spectrum of dopa-responsive dystonia and related disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2014 Jul;14(7):461-74. doi: 10.1007/s11910-014-0461-9. PubMed PMID: 24844652; PubMed Central PMCID: PMC4061475.

Lee WW, Jeon B, Kim R. Expanding the spectrum of dopa-responsive dystonia (DRD) and proposal for new definition: DRD, DRD-plus, and DRD Look-alike. *J Korean Med Sci*. 2018 May 24;33(28):e184. doi: 10.3346/jkms.2018.33.e184. PubMed PMID: 29983692; PubMed Central PMCID: PMC6033101.

Leentjens AF et al. Anxiety rating scales in Parkinson's disease: a validation study of the Hamilton anxiety rating scale, the Beck anxiety inventory, and the hospital anxiety and depression scale. *Mov Disord*. 2011 Feb 15;26(3):407-15. doi: 10.1002/mds.23184. Epub 2011 Mar 7. PubMed PMID: 21384425.

Leuzzi V et al. Urinary neopterin and phenylalanine loading test as tools for the biochemical diagnosis of Segawa disease. *JIMD Rep*. 2013;7:67-75. doi: 10.1007/8904_2012_144. Epub 2012 Apr 18. PubMed PMID: 23430498; PubMed Central PMCID: PMC3575044.

Lewthwaite AJ et al. Novel GCH1 variant in dopa-responsive dystonia and Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2015 Apr;21(4):394-7. doi: 10.1016/j.parkreldis.2015.01.004. Epub 2015 Jan 14. PubMed PMID: 25634433; PubMed Central PMCID: PMC4379065.

Lieb K, Frauenknecht S, Brunnhuber S. *Intensivkurs Psychiatrie und Psychotherapie [in German]*. 6th ed. Munich, Germany: Urban & Fischer; 2008.

Lin JJ, Lu CS, Tsai CH. Variability of presynaptic nigrostriatal dopaminergic function and clinical heterogeneity in a dopa-responsive dystonia family with GCH-1 gene mutation. *J Neurol*. 2018 Mar;265(3):478-85. doi: 10.1007/s00415-017-8723-5. Epub 2017 Dec 30. PubMed PMID: 29290055.

Lin L et al. Degree of dopaminergic degeneration measured by ^{99m}Tc -TRODAT-1 SPECT/CT imaging. *Neural Regen Res*. 2018 Jul;13(7):1281–7. doi: 10.4103/1673-5374.235077. PubMed PMID: 30028339; PubMed Central PMCID: PMC6065227.

Lin Y et al. Growth hormone deficiency in a dopa-responsive dystonia patient with a novel mutation of guanosine triphosphate cyclohydrolase 1 gene. *J Child Neurol*. 2015 May;30(6):796-9. doi: 10.1177/0883073814538498. Epub 2014 Jun 17. PubMed PMID: 24939974.

Ling H et al. An intragenic duplication in guanosine triphosphate cyclohydrolase-1 gene in a dopa-responsive dystonia family. *Mov Disord*. 2011 Apr;26(5):905-9. doi: 10.1002/mds.23593. Epub 2011 Feb 1. PubMed PMID: 21287604.

Liu X et al. GCH1 mutation and clinical study of Chinese patients with dopa-responsive dystonia. *Mov Disord*. 2010 Mar 15;25(4):447-51. doi: 10.1002/mds.22976. PubMed PMID: 20108370.

Lohmann K et al. Complex and dynamic chromosomal rearrangements in a family with seemingly non-mendelian inheritance of dopa-responsive dystonia. *JAMA Neurol*. 2017 Jul 1;74(7):806-12. doi: 10.1001/jamaneurol.2017.0666. PubMed PMID: 28558098; PubMed Central PMCID: PMC5710536.

López-Laso E et al. Dyskinesias as a limiting factor in the treatment of Segawa disease. *Pediatr Neurol*. 2012 Jun;46(6):404-6. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2012.03.003. PubMed PMID: 22633640; PubMed Central PMCID: PMC3361688.

López-Laso E et al. Neuropsychiatric symptoms and intelligence quotient in autosomal dominant Segawa disease. *J Neurol*. 2011 Dec;258(12):2155-62. doi: 10.1007/s00415-011-6079-9. Epub 2011 May 10. PubMed PMID: 21556877.

Luc QN, Querubin J. Clinical management of dystonia in childhood. *Paediatr Drugs*. 2017 Oct;19(5):447-61. doi: 10.1007/s40272-017-0243-3. PubMed PMID: 28620849.

Lüdecke B, Dworniczak B, Bartholomé K. A point mutation in the tyrosine hydroxylase gene associated with Segawa's syndrome. *Hum Genet*. 1995 Jan;95(1):123-5. doi: 10.1007/BF00225091. PubMed PMID: 7814018.

Lumsden DE et al. Medication use in childhood dystonia. *Eur J Paediatr Neurol*. 2016 Jul;20(4):625-9. doi: 10.1016/j.ejpn.2016.02.003. Epub 2016 Feb 17. PubMed PMID: 26924167.

Lurie S, Priscu V, Hagay Z. The perinatal emphasis of Segawa's syndrome. *J Perinat Med*. 1996;24(6):699-701. PubMed PMID: 9120755.

Maas RPPWM et al. L-dopa in dystonia: a modern perspective. *Neurology*. 2017 May 9;88(19):1865-71. doi: 10.1212/WNL.0000000000003897. Epub 2017 Apr 7. PubMed PMID: 28389587.

Maier F et al. Hypomania and mania related to dopamine replacement therapy in Parkinson's

Disease. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2014 Apr;20(4):421–7. doi: 10.1016/j.parkreldis.2014.01.001. Epub 2014 Jan 12. PubMed PMID: 24467817.

Malek N, Fletcher N, Newman E. Diagnosing dopamine-responsive dystonias. *Pract Neurol* 2015 Oct;15(5):340-5. doi: 10.1136/practneurol-2015-001101. Epub 2015 Jun 4. PubMed PMID: 26045581.

Malloy-Diniz LF et al. Tradução e adaptação cultural da Barratt Impulsiveness Scale (BIS-11) para aplicação em adultos brasileiros. *J Bras Psiquiatr*. 2010;59(2):99-105.

Manconi M et al. Restless legs syndrome and pregnancy. *Neurology*. 2004 Sep 28;63(6):1065-9. doi: 10.1212/01.wnl.0000138427.83574.a6. PubMed PMID: 15452299.

Marras C et al. Nomenclature of genetic movement disorders: recommendations of the international Parkinson and movement disorder society task force. *Mov Disord*. 2016 Apr;31(4):436–57. doi: 10.1002/mds.26527. PubMed PMID: 27079681.

Masuko AH et al. Translation and validation into the Brazilian Portuguese of the restless legs syndrome rating scale of the International Restless Legs Syndrome Study Group. *Arq Neuropsiquiatr*. 2008 Dec;66(4):832-6.

Medical Literature Analysis and Retrieval System Online. MEDLINE. Bethesda: U.S. National Library of Medicine [publicação online]. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>. Acesso em 2022.

Mencacci NE et al; International Parkinson's Disease Genomics Consortium and UCL-exomes consortium. Parkinson's disease in GTP cyclohydrolase 1 mutation carriers. *Brain*. 2014 Sep;137(Pt 9):2480-92. doi: 10.1093/brain/awu179. Epub 2014 Jul 2. PubMed PMID: 24993959; PMCID: PMC4132650.

Mendes EV. A gestão de caso. In: *Desafios do SUS*. Brasília, DF: CONASS; 2019. p. 815-19.

Méneret A et al. Treatable hyperkinetic movement disorders not to be missed. *Front Neurol*. 2021 Dec 1;12:659805. doi: 10.3389/fneur.2021.659805. PubMed PMID: 34925200; PubMed Central PMCID: PMC8671871.

Merchant CA et al. Human transplacental transmission of carbidopa/levodopa. *Neurology*. 1994;44 Suppl. 2:A247–8.

Mishra S et al. Series of dopa responsive dystonia masquerading as other diseases with short review. *J Pediatr Neurosci*. 2020 Oct-Dec;15(4):421-425. doi: 10.4103/jpn.JPN_74_19. Epub 2021 Jan 19. PubMed PMID: 33936308; PubMed Central PMCID: PMC8078628.

Missale C et al. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev*. 1998 Jan;78:189-225. doi: 10.1152/physrev.1998.78.1.189. PubMed PMID: 9457173.

Mizuno S et al. CSF iron, ferritin and transferrin levels in restless legs syndrome. *J Sleep Res*. 2005 Mar;14(1):43-7. doi: 10.1111/j.1365-2869.2004.00403.x. PubMed PMID: 15743333.

Montplaisir J et al. Clinical, polysomnographic, and genetic characteristics of restless legs syndrome: a study of 133 patients diagnosed with new standard criteria. *Mov Disord.* 1997 Jan;12(1):61-5. doi: 10.1002/mds.870120111. PubMed PMID: 8990055.

Mucchiut M et al. Pramipexole-treated Parkinson's disease during pregnancy. *Mov Disord.* 2004 Sep;19(9):1114-5. doi: 10.1002/mds.20148. PubMed PMID: 15372610.

Mullaly CB. In: *The case manager's handbook*. Maryland: Aspen Publ; 1998.

Müller U, Steinberger D, Topka H. Mutations of GCH1 in dopa-responsive dystonia. *J Neural Transm (Vienna)*. 2002 Mar;109(3):321-28. doi: 10.1007/s007020200026. PubMed PMID: 11956954.

Nagatsu T et al. Human tyrosine hydroxylase in Parkinson's disease and in related disorders. *J Neural Transm (Vienna)*. 2019 Apr;126(4):397-409. doi: 10.1007/s00702-018-1903-3. Epub 2018 Jul 11. PubMed PMID: 29995172.

Nałęcz KA. Solute carriers in the blood-brain barrier: safety in abundance. *Neurochem Res.* 2017 Mar;42(3):795-809. doi: 10.1007/s11064-016-2030-x. Epub 2016 Aug 9. PubMed PMID: 27503090.

Nascimento MVM, Silva GO, Santos MS. Fatores genéticos associados a depressão: uma revisão sistemática sobre os genes e polimorfismos associados / Genetic factors associated with depression: a systematic review on genes and associated polymorphisms. *Braz. J. Develop.* 2021 Aug. 27;7(8):84703-18.

Nasser A, Møller LB. GCH1 variants, tetrahydrobiopterin and their effects on pain sensitivity. *Scand J Pain.* 2014 Apr 1;5(2):121-8. doi: 10.1016/j.sjpain.2013.12.001. PubMed PMID: 29913682.

National Institute for Health and Care Excellence. Miscarriage United Kingdom. 2018 [publicação online]. Disponível em <https://cks.nice.org.uk/miscarriage#!backgroundSub:2>. Acesso em 23 dez 2019.

NC-IUBMB - Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology. (2022). *Enzyme Nomenclature. Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on the Nomenclature and Classification of Enzymes by the Reactions they Catalyse* [publicação online]. Disponível em <https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/EC3/5/4/16.html>. Acesso em 05 jan 2022.

Neau JP et al. Restless legs syndrome and pregnancy: follow-up of pregnant women before and after delivery. *Eur Neurol.* 2010;64(6):361-6. doi: 10.1159/000322124. Epub 2010 Nov 19. PubMed PMID: 21088424.

Nedelea F et al. Prenatal genetic testing for dopa-responsive dystonia - clinical judgment in the context of next generation sequencing. *J Med Life.* 2018 Oct-Dec;11(4):343-5. doi: 10.25122/jml-2018-0076. PubMed PMID: 30894892; PubMed Central PMCID: PMC6418328.

- Neuwelt EA et al. Engaging neuroscience to advance translational research in brain barrier biology. *Nat. Rev. Neurosci.* 2011 Mar;12(3):169–82. doi: 10.1038/nrn2995. PubMed PMID: 21331083; PubMed Central PMCID: PMC3335275.
- Neve KA, Seamans JK, Trantham-Davidson H. Dopamine receptor signaling. *J Recept Signal Transduct Res.* 2004 Aug; 24(3):165-205. doi: 10.1081/rrs-200029981. PubMed PMID: 15521361.
- Niederwieser A et al. GTP cyclohydrolase I deficiency, a new enzyme defect causing hyperphenylalaninemia with neopterin, biopterin, dopamine, and serotonin deficiencies and muscular hypotonia. *Europ J Pediatr.* 1984 Feb;141(4):208-14. doi: 10.1007/BF00572762. PubMed PMID: 6734669.
- Nishiyama N et al. Gene mutation in hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation (HPD), strictly defined dopa-responsive dystonia. *Brain Dev.* 2000;22:S102-6.
- Ng J, Heales SJ, Kurian MA. Clinical features and pharmacotherapy of childhood monoamine neurotransmitter disorders. *Paediatr Drugs.* 2014 Aug;16(4):275-91. doi: 10.1007/s40272-014-0079-z. PubMed PMID: 25011953; PubMed Central PMCID: PMC4102824.
- Ng J et al. Monoamine neurotransmitter disorders - clinical advances and future perspectives. *Nat Rev Neurol.* 2015 Oct;11(10):567-84. doi: 10.1038/nrneurol.2015.172. Epub 2015 Sep 22. PubMed PMID: 26392380.
- Nygaard G et al. Personalized medicine to improve treatment of dopa-responsive dystonia - A focus on tyrosine hydroxylase deficiency. *J Pers Med.* 2021 Nov 12;11(11):1186. doi: 10.3390/jpm11111186. PubMed PMID: 34834538; PubMed Central PMCID: PMC8625014.
- Nygaard TG. Dopa-responsive dystonia. *Curr Opin Neurol.* 1995 Aug;8(4):310-3. doi: 10.1097/00019052-199508000-00011. PubMed PMID: 7582048.
- Nygaard TG, Marsden CD, Fahn S. Dopa-responsive dystonia: long-term treatment response and prognosis. *Neurology.* 1991 Feb;41(2 (Pt 1)):174-81. doi: 10.1212/wnl.41.2_part_1.174. PubMed PMID: 1899474.
- Nygaard TG et al. Dopa-responsive dystonia: the spectrum of clinical manifestations in a large North American family. *Neurology.* 1990 Jan;40(1):66-9. doi: 10.1212/wnl.40.1.66. PubMed PMID: 2296384.
- Nygaard TG et al. Dopa-responsive dystonia: clinical characteristics and definition. In: Segawa M, ed. *Hereditary Progressive Dystonia with Marked Diurnal Fluctuation*. NY: Parthenon Publishing; 1993a. p. 21-35.
- Nygaard TG et al. Long-term treatment response and fluorodopa positron emission tomographic scanning of parkinsonism in a family with dopa-responsive dystonia. *Ann Neurol.* 1992 Nov;32(5):603–8. doi: 10.1002/ana.410320502. PubMed PMID: 1449240.
- Nygaard TG et al. Linkage mapping of dopa-responsive dystonia (DRD) to chromosome 14q. *Nature Genet.* 1993b Dec;5(4):386-91. doi: 10.1038/ng1293-386. PubMed PMID: 8298648.

Nygaard TG, Marsden CD, Duvoisin RC. Dopa responsive dystonia. *Adv Neurol*. 1988;50:377–84. PubMed PMID: 3041760.

Nomoto M et al. Levodopa in pregnancy. *Mov Disord*. 1997 Mar;12(2):261. PubMed PMID: 9087994.

Oertel W et al. Long-term safety and efficacy of rotigotine transdermal patch for moderate-to-severe idiopathic restless legs syndrome: a 5-year open-label extension study. *Lancet Neurol*. 2011 Aug;10(8):710-20. doi: 10.1016/S1474-4422(11)70127-2. Epub 2011 Jun 24. PubMed PMID: 21705273.

O’Kane RL, Hawkins RA. Na⁺-dependent transport of large neutral amino acids occurs at the abluminal membrane of the blood-brain barrier. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003 Dec;285(6):E1167–E1173. doi: 10.1152/ajpendo.00193.2003. Epub 2003 Aug 21. PubMed PMID: 12933350.

Okun ML, Schetter CD, Glynn LM. Poor Sleep Quality is Associated with Preterm Birth. *Sleep*. 2011 Nov 1;34(11):1493–8. doi: 10.5665/sleep.1384. PubMed PMID: 22043120; PubMed Central PMCID: PMC3198204.

Olivola S et al. Parkinson’s Disease in Pregnancy: a Case Report and Review of the literature. *Front Neurol*. 2020 Feb 19;10:1349. doi: 10.3389/fneur.2019.01349. PubMed PMID: 32140133; PubMed Central PMCID: PMC7042376.

Online Mendelian Inheritance in Man®, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM NUMBER: {128230}: {04/01/2020} [publicação online]. Disponível em <https://www.omim.org/entry/128230>. Acesso em 05 jan 2022.

Online Mendelian Inheritance in Man®, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM NUMBER: {233910}: {02/24/2014} [publicação online]. Disponível em <https://www.omim.org/entry/233910>. Acesso em 09 jan 2022.

Online Mendelian Inheritance in Man®, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM NUMBER: {605407}: {09/20/2021} [publicação online]. Disponível em <https://www.omim.org/entry/605407>. Acesso em 09 jan 2022.

Opladen T et al. Phenylalanine loading in pediatric patients with dopa-responsive dystonia: revised test protocol and pediatric cutoff values. *J Inherit Metab Dis*. 2010 Dec;33(6):697-703. doi: 10.1007/s10545-010-9164-9. Epub 2010 Jul 29. Erratum in: *J Inherit Metab Dis*. 2010 Dec;33(6):811-2. PubMed PMID: 20668943.

Opladen T et al. Pitfalls in phenylalanine loading test in the diagnosis of dopa-responsive dystonia. *Mol Genet Metab*. 2013 Mar;108(3):195-7. doi: 10.1016/j.ymgme.2013.01.001. Epub 2013 Jan 12. PubMed PMID: 23375473.

Opladen T, Hoffmann GF, Blau N. An international survey of patients with tetrahydrobiopterin deficiencies presenting with hyperphenylalaninaemia. *J Inherit Metab Dis*. 2012 Nov;35(6):963-73. doi: 10.1007/s10545-012-9506-x. Epub 2012 Jun 23. PubMed PMID: 22729819.

Orphanet: The portal for rare diseases and orphan drugs. INSERM. (2022). Dopa-responsive dystonia [publicação online]. Disponível em [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=484&Disease_Disease_Search_diseaseType=ORPHA&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=255&Krankheite\(n\)/Krankheitsgruppe=DYT5&title=DYT5&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=484&Disease_Disease_Search_diseaseType=ORPHA&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=255&Krankheite(n)/Krankheitsgruppe=DYT5&title=DYT5&search=Disease_Search_Simple). Acesso em 10 jan 2022.

O'Sullivan JD et al. SPECT imaging of the dopamine transporter in juvenile-onset dystonia. *Neurology*. 2001 Jan 23;56(2):266–7. doi: 10.1212/wnl.56.2.266. PubMed PMID: 11160970.

Pattij T, Vanderschuren LJ. The neuropharmacology of impulsive behaviour. *Trends Pharmacol Sci*. 2008 Apr;29(4):192–9. doi: 10.1016/j.tips.2008.01.002. Epub 2008 Mar 4. PubMed PMID: 18304658.

Peall KJ et al. Non-motor symptoms in genetically defined dystonia: homogenous groups require systematic assessment. *Parkinsonism Relat Disord*. 2015 Sep;21(9):1031-40. doi: 10.1016/j.parkreldis.2015.07.003. Epub 2015 Jul 17. PubMed PMID: 26210889.

Pearl PL. Monoamine neurotransmitter deficiencies. *Handb Clin Neurol*. 2013;113:1819-25. doi: 10.1016/B978-0-444-59565-2.00051-4. PubMed PMID: 23622404.

Pearl PL, Hartka TR, Taylor J. Diagnosis and treatment of neurotransmitter disorders. *Curr Treat Options Neurol*. 2006 Nov;8(6):441-50. doi: 10.1007/s11940-006-0033-7. PubMed PMID: 17032564.

Pearl PL, Wallis DD, Gibson KM. Pediatric neurotransmitter diseases. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2004 Mar;4(2):147-52. doi: 10.1007/s11910-004-0029-1. PubMed PMID: 14984687.

Picchiatti DL et al; International Restless Legs Syndrome Study Group (IRLSSG). Consensus clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of restless legs syndrome/Willis-Ekbom disease during pregnancy and lactation. *Sleep Med Rev*. 2015 Aug;22:64-77. doi: 10.1016/j.smrv.2014.10.009. Epub 2014 Nov 4. PubMed PMID: 25553600.

Pons R et al. Levodopa-induced dyskinesias in tyrosine hydroxylase deficiency. *Mov Disord*. 2013 Jul;28(8):1058–63. doi: 10.1002/mds.25382. Epub 2013 Feb 6. PubMed PMID: 23389938.

Porter ME, Teisberg EO. Repensando a saúde: estratégias para melhorar a qualidade e reduzir os custos. Porto Alegre: Bookman Companhia Editora; 2007.

Postuma RB et al. Dopa-responsive dystonia presenting with prominent isolated bilateral resting leg tremor: evidence for a role of parkin? *Mov Disord*. 2003 Sep;18(9):1070–2.

Powell SK, Tahan HM. Case management: a practical guide for education and practice. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2019.

Prefeitura Municipal de Barroso. Nossa história [publicação online]. Disponível em https://www.barroso.mg.gov.br/?Meio=Pagina&INT_PAG=1828#:~:text=%E2%80%9CBarr%20oso%E2%80%9D%20foi%20denomina%C3%A7%C3%A3o%20escolhida%20numa,prefeito%20eleito%20do%20novo%20munic%C3%ADpio. Acesso em 05 jan 2023.

Priscu V et al. The choice of anesthesia in Segawa's syndrome. *J Clin Anesth*. 1998 Mar;10(2):153-5. doi: 10.1016/s0952-8180(97)00225-0. PubMed PMID: 9524902.

Prosperetti C, Manconi M: Restless legs syndrome/willis-ekbom disease and pregnancy. *Sleep Med Clin*. 2015 Sep;10(3):323-9, xiv. doi: 10.1016/j.jsmc.2015.05.016. Epub 2015 Jun 22. PubMed PMID: 26329442.

Rahbari R et al. Timing, rates and spectra of human germline mutation. *Nat Genet*. 2016 Feb;48(2):126–33. doi: 10.1038/ng.3469. Epub 2015 Dec 14. PubMed PMID: 26656846; PubMed Central PMCID: PMC4731925.

Randby H et al. Dopa-responsive dystonia. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2018 Nov 26;138(19). English, Norwegian. doi: 10.4045/tidsskr.17.0595. PubMed PMID: 30497245.

Rajput AH et al. Dopa-responsive dystonia: pathological and biochemical observations in a case. *Ann Neurol*. 1994 Apr;35(4):396-402. doi: 10.1002/ana.410350405. PubMed PMID: 7908789.

Rebour R et al. Dopa-responsive dystonia and gait analysis: a case study of levodopa therapeutic effects. *Brain Dev*. 2015 Jun;37(6):643-50. doi: 10.1016/j.braindev.2014.09.005. Epub 2014 Oct 2. PubMed PMID: 25282485.

Reijnders JS et al. A systematic review of prevalence studies of depression in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2008 Jan 30;23(2):183-9, quiz 313. doi: 10.1002/mds.21803. PubMed PMID: 17987654.

Riboldi GM et al. A Practical Approach to Early-Onset Parkinsonism. *J Parkinsons Dis*. 2022;12(1):1-26. doi: 10.3233/JPD-212815. PubMed PMID: 34569973; PubMed Central PMCID: PMC8842790.

Robottom BJ, Mullins RJ, Shulman LM. Pregnancy in parkinson's disease: case report and discussion. *Expert Rev Neurother*. 2008 Dec;8(12):1799–805. doi: 10.1586/14737175.8.12.1799. PubMed PMID: 19086876.

Rodan LH, Gibson KM, Pearl PL. Clinical use of CSF neurotransmitters. *Pediatr Neurol*. 2015 Oct;53(4):277-86. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2015.04.016. Epub 2015 Jun 11. PubMed PMID: 26194033.

Rudakou U et al. Common and rare GCH1 variants are associated with Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2019 Jan;73:231.e1-231.e6. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2018.09.008. Epub 2018 Sep 15. PubMed PMID: 30314816; PubMed Central PMCID: PMC6251729.

Salles PA et al. Recognizing atypical dopa-responsive dystonia and its mimics. *Neurol Clin Pract*. 2021 Dec;11(6):e876-e84. doi: 10.1212/CPJ.0000000000001125. PubMed PMID: 34992971; PubMed Central PMCID: PMC8723939.

Satishchandra P, Mullati N, Suresh TG. Progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. *J Assoc Physicians India*. 1992 Jan;40(1):55-6. PubMed PMID: 1634470.

Saturni S et al. Randomized controlled trials and real life studies. Approaches and methodologies: a clinical point of view. *Pulm Pharmacol Ther.* 2014 Apr;27(2):129-38. doi: 10.1016/j.pupt.2014.01.005. Epub 2014 Jan 24. PubMed PMID: 24468677.

Schneider SA, Bhatia KP. Rare causes of dystonia parkinsonism. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2010 Nov;10(6):431-9. doi: 10.1007/s11910-010-0136-0. PubMed PMID: 20694531.

Scola RH et al. A novel missense mutation pattern of the GCH1 gene in dopa-responsive dystonia. *Arq Neuropsiquiatr.* 2007 Dec;65(4B):1224-7. doi: 10.1590/s0004-282x2007000700026.

Segawa M. Dopa-responsive dystonia. *Handb Clin Neurol.* 2011a;100:539-57. doi: 10.1016/B978-0-444-52014-2.00039-2. PubMed PMID: 21496606.

Segawa M. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. *Brain Dev.* 2000 Sep;22 Suppl 1:S65-80. doi: 10.1016/s0387-7604(00)00148-0. PubMed PMID: 10984664.

Segawa M. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. *Brain Dev.* 2011b Mar;33(3):195-201. doi: 10.1016/j.braindev.2010.10.015. Epub 2010 Nov 20. PubMed PMID: 21094587.

Segawa M et al. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. *Adv Neurol.* 1976;14:215-33. PubMed PMID: 945938.

Segawa M, Nomura Y, Hayashi M. Dopa-responsive dystonia is caused by particular impairment of nigrostriatal dopamine neurons different from those involved in Parkinson disease: evidence observed in studies on Segawa disease. *Neuropediatrics.* 2013 Mar;44(2):61-6. doi: 10.1055/s-0033-1337337. Epub 2013 Mar 6. PubMed PMID: 23468278.

Segawa M, Nomura Y, Nishiyama N. Autosomal dominant guanosine triphosphate cyclohydrolase I deficiency (Segawa disease). *Ann Neurol.* 2003;54 Suppl 6:S32-S45. doi: 10.1002/ana.10630. PubMed PMID: 12891652.

Segawa M et al. Childhood basal ganglia disease with marked response to L-Dopa: hereditary progressive basal ganglia disease with marked diurnal fluctuation. *Shinryo.* 1972;24:667-72.

Shimoji M et al. GTP cyclohydrolase I gene expression in the brains of male and female hph-1 mice. *J Neurochem.* 1999 Feb;72(2):757-64. doi: 10.1046/j.1471-4159.1999.0720757.x. PubMed PMID: 9930750.

Shulman LM, Minagar A, Weiner WJ. The effect of pregnancy in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2000 Jan;15(1):132-5. doi: 10.1002/1531-8257(200001)15:1<132::aid-mds1020>3.0.co;2-c. PubMed PMID: 10634252.

Silva RCG, Abreu EMC. Efeitos da cinesioterapia sobre o equilíbrio e a marcha de uma paciente com distonia de Segawa / Effects of kinesiotherapy on balance and gait in a patient with Segawa dystonia. *J Health Sci Inst.* 2017 Oct-Dec;35(4):276-80.

Smith KA, Fairburn GG, Cowen PJ. Relapse of depression after rapid depletion of tryptophan. *Lancet*. 1997 Mar 29;349(9056):915–9. doi: 10.1016/s0140-6736(96)07044-4. PubMed PMID: 9093253.

Smith QR, Stoll JS. Blood–brain barrier amino acid transport. In: W.M. Pardridge (Ed.), *Introduction to the Blood–Brain Barrier*, Cambridge: Cambridge University Press; 1998. p. 188–97.

Soma V et al. Dopa-responsive dystonia in a ten-year-old girl. *J Family Med Prim Care*. 2012 Jul;1(2):151-2. doi: 10.4103/2249-4863.104988. PubMed PMID: 24479026; PubMed Central PMCID: PMC3893975.

Souza CP et al. Mutation in intron5 of GTP cyclohydrolase 1 gene causes dopa-responsive dystonia (Segawa syndrome) in a Brazilian family. *Genet Mol Res*. 2008 Aug;7(3):687-94. doi: 10.4238/vol7-3gmr467. PubMed PMID: 18752196.

Stamelou M et al. The non-motor syndrome of primary dystonia: clinical and pathophysiological implications. *Brain*. 2012 Jun;135(Pt 6):1668–81. doi: 10.1093/brain/awr224. Epub 2011 Sep 20. PubMed PMID: 21933808; PubMed Central PMCID: PMC3359748.

Staples RE, Mattis PA. Teratology of L-dopa. *Teratology*. 1973;8:238

Steinberger D et al. High penetrance and pronounced variation in expressivity of GCH1 mutations in five families with dopa-responsive dystonia. *Ann Neurol*. 1998 May;43(5):634-9. doi: 10.1002/ana.410430512. Erratum in: *Ann Neurol* 1998 Jul;44(1):147. PubMed PMID: 9585358.

Steinberger D et al. Utility of MLPA in deletion analysis of GCH1 in dopa-responsive dystonia. *Neurogenetics*. 2007 Jan;8(1):51-5. doi: 10.1007/s10048-006-0069-6. Epub 2006 Nov 17. Erratum in: *Neurogenetics*. 2007 Jan;8(1):69. PubMed PMID: 17111153.

Stiasny-Kolster K et al. Normal dopaminergic and serotonergic metabolites in cerebrospinal fluid and blood of restless legs syndrome patients. *Mov Disord*. 2004 Feb;19(2):192-6. doi: 10.1002/mds.10631. PMID: 14978675.

Stone TW, Darlington LG. Endogenous kynurenines as targets for drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov*. 2002 Aug;1(8):609–20. doi: 10.1038/nrd870. PubMed PMID: 12402501.

Strauss KA et al. Safety, efficacy and physiological actions of a lysine-free, arginine-rich formula to treat glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency: focus on cerebral amino acid influx. *Mol Genet Metab*. 2011 Sep-Oct;104(1-2):93–106. doi: 10.1016/j.ymgme.2011.07.003. Epub 2011 Jul 12. PubMed PMID: 21820344.

Sumi-Ichinose C et al. Advanced research on dopamine signaling to develop drugs for the treatment of mental disorders: regulation of dopaminergic neural transmission by tyrosine hydroxylase protein at nerve terminals. *J Pharmacol Sci*. 2010;114(1):17-24. doi: 10.1254/jphs.09r28fm. Epub 2010 Aug 12. PubMed PMID: 20716859.

Sumi-Ichinose C et al. Catecholamines and serotonin are differently regulated by tetrahydrobiopterin: a study from 6-pyruvoyltetrahydropterin synthase knockout mice. *J Biol Chem*. 2001 Nov 2;276(44):41150–60. doi: 10.1074/jbc.M102237200. Epub 2001 Aug 21. PubMed PMID: 11517215.

Sumi-Ichinose C et al. Genetically rescued tetrahydrobiopterin-depleted mice survive with hyperphenylalaninemia and regionspecific monoaminergic abnormalities. *J Neurochem*. 2005 Nov;95(3):703–14. doi: 10.1111/j.1471-4159.2005.03402.x. Epub 2005 Aug 31. PubMed PMID: 16135092.

Sun ZF et al. Genetic diagnosis of two dopa-responsive dystonia families by exome sequencing. *PLoS One*. 2014 Sep 2;9(9):e106388. doi: 10.1371/journal.pone.0106388. PubMed PMID: 25181484.247; PMCID: PMC4152247.

Surmeier DJ et al. D1 and D2 dopamine-receptor modulation of striatal glutamatergic signaling in striatal medium spiny neurons. *Trends Neurosci*. 2007 May;30(5):228–35. doi: 10.1016/j.tins.2007.03.008. Epub 2007 Apr 3. PubMed PMID: 17408758.

Tachi N et al. A new mutation of GCH1 in triplets family with dopa-responsive dystonia. *Eur J Neurol*. 2011 Sep;18(9):1191–3. doi: 10.1111/j.1468-1331.2011.03354.x. Epub 2011 Jan 31. PubMed PMID: 21834904.

Tachibana N. Living with restless legs syndrome/Willis-Ekbom disease. *Sleep Med Clin*. 2015 Sep;10(3):359–67, xv. doi: 10.1016/j.jsmc.2015.05.019. Epub 2015 Jul 2. PubMed PMID: 26329446.

Tadic V et al. Dopa-responsive dystonia revisited: diagnostic delay, residual signs, and nonmotor signs. *Arch Neurol*. 2012 Dec;69(12):1558–62. doi: 10.1001/archneurol.2012.574. PubMed PMID: 22986512.

Talvik I et al. Cases of dopa-responsive dystonia (Segawa disease) in Estonia. *Brain Dev*. 2010 May;32(5):428–31. doi: 10.1016/j.braindev.2009.04.007. Epub 2009 May 7. PubMed PMID: 19427147.

Tashkin DP et al. Comparing randomized controlled trials and real-world studies in chronic obstructive pulmonary disease pharmacotherapy. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2020 Jun 2;15:1225–43. doi: 10.2147/COPD.S244942. PubMed PMID: 32581529; PubMed Central PMCID: PMC7276323.

Terbeek J et al. Parkinson's disease in GTP cyclohydrolase 1 mutation carriers. *Brain*. 2015 May;138(5):e350. PubMed PMID: 25433916.

Teva Galán MD et al. Distonía hereditària sensible a L-dopa secundaria a déficit de GTP ciclohidrolasa 1 [GTP cyclohydrolase 1-deficient dopa-responsive hereditary dystonia]. *An Pediatr (Barc)*. 2011 Jul;75(1):55–7. Spanish. doi: 10.1016/j.anpedi.2011.01.027. Epub 2011 Mar 22. PubMed PMID: 21429827.

Theiss E, Schärer K. Toxicity of L-dopa and a decarboxylase inhibitor in animal experiments. In: Ajuriaguerra J de, Gauthier G, editors. *Monoamines Noyoux Gris Centraux et Syndrome de Parkinson*. Geneva: George et Cie ; 1971. p. 497–504.

Thobois S et al. What a neurologist should know about PET and SPECT functional imaging for parkinsonism: a practical perspective. *Parkinsonism Relat Disord*. 2019 Feb;59:93-100. doi: 10.1016/j.parkreldis.2018.08.016. Epub 2018 Aug 30. PubMed PMID: 30181086.

Thompson S et al. Dopa-responsive dystonia and chorea as a presenting feature in ataxia-telangiectasia. *Mov Disord Clin Pract*. 2014 Jun 11;1(3):249-51. doi: 10.1002/mdc3.12048. PubMed PMID: 30713859; PubMed Central PMCID: PMC6353315.

Thulin PC et al. Levodopa in human breast milk: clinical implications. *Neurology* 1998 Jun;50(6):1920-1. doi: 10.1212/wnl.50.6.1920-a. PubMed PMID: 9633767.

Timmers ER et al. Non-motor symptoms and quality of life in dopa-responsive dystonia patients. *Parkinsonism Relat Disord*. 2017 Dec;45:57-62. doi: 10.1016/j.parkreldis.2017.10.005. Epub 2017 Oct 10. PubMed PMID: 29066160.

Timmers ER et al. Myoclonus-dystonia: distinctive motor and non-motor phenotype from other dystonia syndromes. *Parkinsonism Relat Disord*. 2019 Dec;69:85-90. doi: 10.1016/j.parkreldis.2019.10.015. Epub 2019 Oct 22. PubMed PMID: 31706131.

Tormenti MJ et al. Bilateral subthalamic nucleus deep brain stimulation for dopa-responsive dystonia in a 6-year-old child. *J Neurosurg Pediatr*. 2011 Jun;7(6):650-3. doi: 10.3171/2011.3.PEDS10402. Erratum in: *J Neurosurg Pediatr*. 2011 Nov;8(5):536. Crammond, Donald J [added]. PubMed PMID: 21631204.

Trau SP, Gallentine WB, Mikati MA. Child neurology: a young child with an undiagnosed case of dystonia responsive to l-dopa. *Neurology*. 2020 Feb 18;94(7):326-8. doi: 10.1212/WNL.00000000000008963. Epub 2020 Feb 3. PubMed PMID: 32015175.

Trender-Gerhard I et al. Autosomal-dominant GTPCH1-deficient DRD: clinical characteristics and long-term outcome of 34 patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009 Aug;80(8):839-45. doi: 10.1136/jnnp.2008.155861. Epub 2009 Mar 29. PubMed PMID: 19332422.

Trifu SC, Tudor A, Radulescu I. Aggressive behavior in psychiatric patients in relation to hormonal imbalance (Review). *Exp Ther Med*. 2020 Oct;20(4):3483-7. doi: 10.3892/etm.2020.8974. Epub 2020 Jul 7. PubMed PMID: 32905000; PubMed Central PMCID: PMC7465123.

Tsao CY. Guanine triphosphate-cyclohydrolase 1-deficient dopa-responsive dystonia presenting as frequent falling in 2 children. *J Child Neurol*. 2012 Mar;27(3):389-91. doi: 10.1177/0883073811420871. Epub 2011 Nov 8. PubMed PMID: 22068827; PMCID: PMC4005918.

Vahdat M et al. Prevalence and associated features of restless legs syndrome in a population of Iranian women during pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet*. 2013 Oct;123(1):46-9. doi: 10.1016/j.ijgo.2013.04.023. Epub 2013 Jul 22. PubMed PMID: 23886452.

Valldeoriola F et al; Grupo ESpañol para el EStudio de la EStimulación PALidal en la DISTonía. Efficacy and safety of pallidal stimulation in primary dystonia: results of the Spanish multicentric study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010 Jan;81(1):65-9. doi: 10.1136/jnnp.2009.174342. Epub 2009 Sep 10. PubMed PMID: 19744963.

Van Gaalen MM et al. Critical involvement of dopaminergic neurotransmission in impulsive decision-making. *Biol Psychiatry*. 2006 Jul 1;60(1):66-73. doi: 10.1016/j.biopsych.2005.06.005. Epub 2005 Aug 25. PubMed PMID: 16125144.

Van Hove JL et al. Expanded motor and psychiatric phenotype in autosomal dominant Segawa syndrome due to GTP cyclohydrolase deficiency. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006 Jan;77(1):18-23. doi: 10.1136/jnnp.2004.051664. PubMed PMID: 16361586; PubMed Central PMCID: PMC2117403.

Valdovinos-Flores C, Gonsebatt ME. The role of amino acid transporters in GSH synthesis in the blood-brain barrier and central nervous system. *Neurochem Int*. 2012 Aug;61(3):405-14. doi: 10.1016/j.neuint.2012.05.019. Epub 2012 May 24. PubMed PMID: 22634224.

Venna N, Sims KB, Grant PE. Case records of the Massachusetts General Hospital. Case 26—2006. A 19-year-old woman with difficulty walking. *N Engl J Med*. 2006 Aug 24;355(8):831-9. doi: 10.1056/NEJMcpc069015. PubMed PMID: 16928999.

Vetter MJ, Bristow L, Ahrens J. A model for home care clinician and home health aide collaboration: diabetes care by nurse case management and community health workers. *Home Healthc Nurse*. 2004 Sep;22(9):645-8. doi: 10.1097/00004045-200409000-00014. PubMed PMID: 15359179.

Vlasie A et al. Restless legs syndrome: an overview of pathophysiology, comorbidities and therapeutic approaches (Review). *Exp Ther Med*. 2022 Feb;23(2):185. doi: 10.3892/etm.2021.11108. Epub 2021 Dec 30. PubMed PMID: 35069866; PubMed Central PMCID: PMC8764906.

Volkow ND et al. Evaluating dopamine reward pathway in ADHD: clinical implications. *JAMA*. 2009 Sep 9;302(10):1084-91. doi: 10.1001/jama.2009.1308. Erratum in: *JAMA*. 2009 Oct 7;302(13):1420. PubMed PMID: 19738093; PubMed Central PMCID: PMC2958516.

Walters AS et al; International Restless Legs Syndrome Study Group. Validation of the International Restless Legs Syndrome Study Group rating scale for restless legs syndrome. *Sleep Med*. 2003 Mar;4(2):121-32. doi: 10.1016/s1389-9457(02)00258-7. PubMed PMID: 14592342.

Wang M, Sison JJ. Management of psychosis in a patient with probable dopa-responsive dystonia. *Case Rep Psychiatry*. 2018 Jun 14;2018:8040491. doi: 10.1155/2018/8040491. PubMed PMID: 30013806.

Wang W, Xin B, Wang H. Dopa-responsive dystonia: a male patient inherited a novel GCH1 deletion from an asymptomatic mother. *J Mov Disord*. 2020 May;13(2):150-3. doi: 10.14802/jmd.19069. Epub 2020 Mar 18. PubMed PMID: 32183506; PubMed Central PMCID: PMC7280944.

Wang X et al. Case report: clinical outcome from pallidal stimulation in a patient with levodopa-resistant dopa-responsive dystonia. *Front Neurol*. 2022 Jun 6;13:921577. doi: 10.3389/fneur.2022.921577. PubMed PMID: 35747429; PubMed Central PMCID: PMC9211437.

Watanabe T, Matsubara S. Good obstetric outcome in a patient with Segawa disease. *Arq Neuropsiquiatr*. 2012 Jul;70(7):559-60. doi: 10.1590/s0004-282x2012000700022. PubMed PMID: 22836471.

Watanabe T et al. Successful management of pregnancy in a patient with Segawa disease: case report and literature review. *J Obstet Gynaecol Res*. 2009 Jun;35(3):562-4. doi: 10.1111/j.1447-0756.2008.00956.x. PubMed PMID: 19527400.

Weissbach A et al. Relationship of genotype, phenotype, and treatment in dopa-responsive dystonia: MDSGene Review. *Mov Disord*. 2022 Feb;37(2):237-52 doi: 10.1002/mds.28874.

Weissbach A, Saranza G, Domingo A. Combined dystonias: clinical and genetic updates. *J Neural Transm (Vienna)*. 2021 Apr;128(4):417-29. doi: 10.1007/s00702-020-02269-w. Epub 2020 Oct 24. PubMed PMID: 33099685.

Weng YC, Wang CC, Wu YR. Atypical presentation of dopa-responsive dystonia in Taiwan. *Brain Behav*. 2018 Jan 20;8(2):e00906. doi: 10.1002/brb3.906. PubMed PMID: 29484265; PubMed Central PMCID: PMC5822572.

Wesström J et al. Pre-pregnancy restless legs syndrome (Willis-Ekbom disease) is associated with perinatal depression. *J Clin Sleep Med*. 2014 May 15;10(5):527–33. doi: 10.5664/jcsm.3704. PubMed PMID: 24812538; PubMed Central PMCID: PMC4013381.

Wider C et al. Study of a Swiss dopa-responsive dystonia family with a deletion in GCH1: redefining DYT14 as DYT5. *Neurology*. 2008 Apr 15;70(16 Pt 2):1377–83. doi: 10.1212/01.wnl.0000275527.35752.c5. Epub 2007 Sep 5. PubMed PMID: 17804835; PubMed Central PMCID: PMC2330252.

Wijemanne S et al. *SPG11* mutations associated with a complex phenotype resembling dopa-responsive dystonia. *Mov Disord Clin Pract*. 2015 Apr 28;2(2):149-54. doi: 10.1002/mdc3.12144. PubMed PMID: 30363882; PubMed Central PMCID: PMC6183009.

Wijemanne S, Jankovic J. Dopa-responsive dystonia - clinical and genetic heterogeneity. *Nat Rev Neurol*. 2015 Jul;11(7):414-24. doi: 10.1038/nrneurol.2015.86. Epub 2015 Jun 23. PubMed PMID: 26100751.

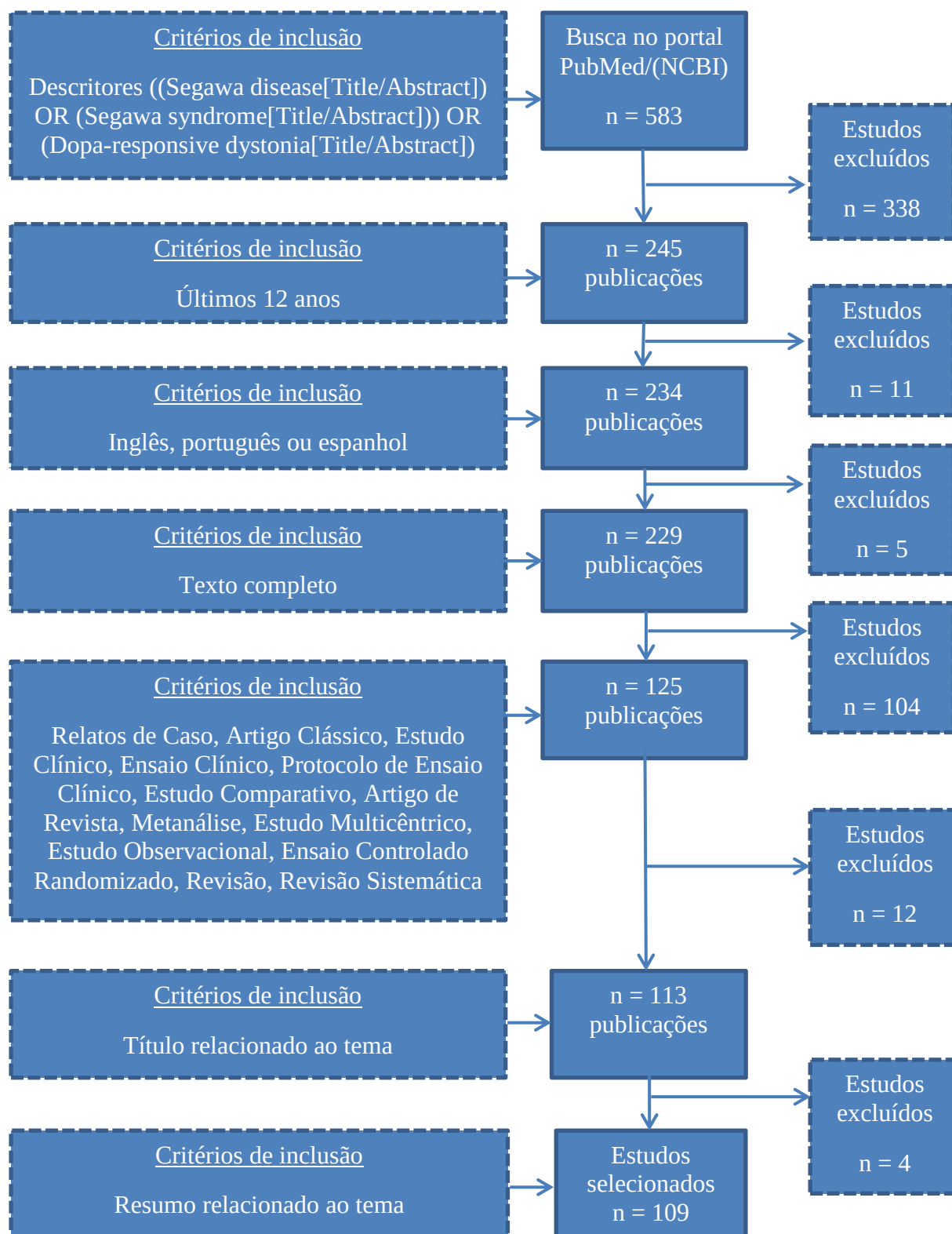
Willemsen MA et al. Tyrosine hydroxylase deficiency: a treatable disorder of brain catecholamine biosynthesis. *Brain*. 2010 Jun;133(Pt 6):1810-22. doi: 10.1093/brain/awq087. Epub 2010 Apr 29. PubMed PMID: 20430833.

Yaltho TC, Jankovic J, Lotze T. The association of Tourette syndrome and dopa-responsive dystonia. *Mov Disord*. 2011 Feb 1;26(2):359-60. doi: 10.1002/mds.23424. Epub 2010 Nov 10. PubMed PMID: 21412842.

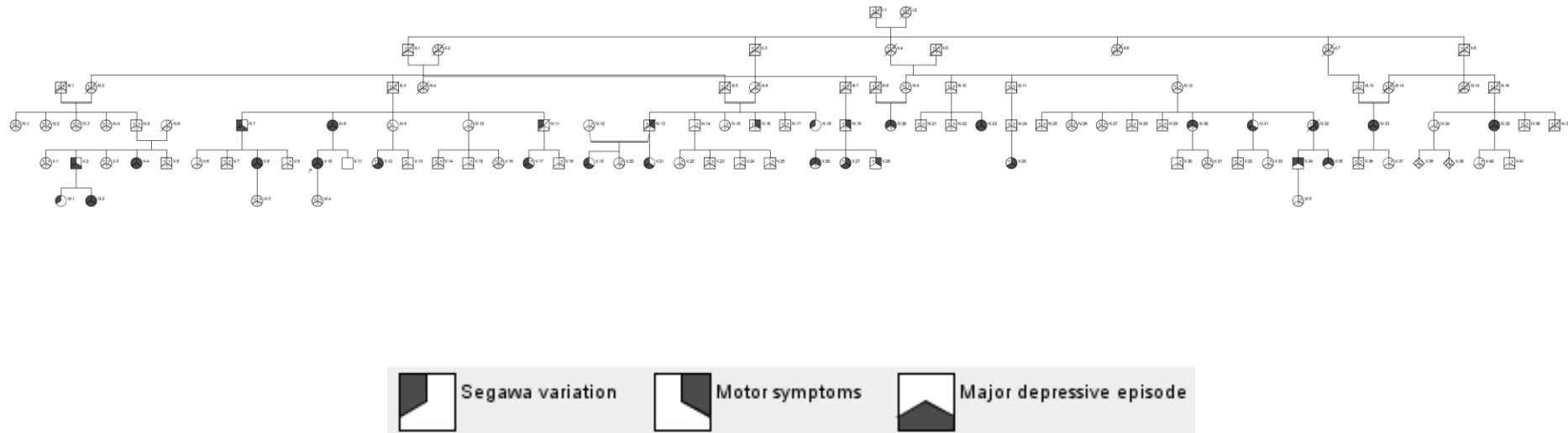
- Yang CC et al. A novel missense mutation of the GTP cyclohydrolase 1 gene in a Taiwanese family with dopa-responsive dystonia: a case report. *Clin Neurol Neurosurg*. 2018 Feb;165:21-3. doi: 10.1016/j.clineuro.2017.12.018. Epub 2017 Dec 26. PubMed PMID: 29289916.
- Yoshii F et al. PARK2 patient presenting with dopa-responsive dystonia. *Case Rep Neurol*. 2021 Nov 23;13(3):749-754. doi: 10.1159/000520436. PubMed PMID: 35082644; PubMed Central PMCID: PMC8739933.
- Yosunkaya E et al. Marked improvement in Segawa syndrome after L-dopa and selegiline treatment. *Pediatr Neurol*. 2010 May;42(5):348-50. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2010.01.008.
- Youdim MB, Bakhle YS. Monoamine oxidase: isoforms and inhibitors in Parkinson's disease and depressive illness. *Br J Pharmacol*. 2006 Jan;147 Suppl 1(Suppl 1):S287-96. doi: 10.1038/sj.bjp.0706464. PubMed PMID: 16402116; PubMed Central PMCID: PMC1760741.
- Young C et al. Management of Parkinson's disease during pregnancy: literature review and multidisciplinary input. *Mov Disord Clin Pract*. 2020 Apr 9;7(4):419-30. doi: 10.1002/mdc3.12925. PMID: 32373659; PMCID: PMC7197310.
- Zaragozá R. Transport of amino acids across the blood-brain barrier. *Front Physiol*. 2020 Sep 23;11:973. doi: 10.3389/fphys.2020.00973. PubMed PMID: 33071801; PubMed Central PMCID: PMC7538855.
- Zhang W et al. Dopa-responsive dystonia in Chinese patients: including a novel heterozygous mutation in the GCH1 gene with an intermediate phenotype and one case of prenatal diagnosis. *Neurosci Lett*. 2017 Mar 22;644:48-54. doi: 10.1016/j.neulet.2017.01.019. Epub 2017 Jan 10. PubMed PMID: 28087438.

ANEXOS

ANEXO A – Fluxograma: Busca bibliográfica no portal PubMed de publicações com os descritores afins à Síndrome de Segawa, mediante os critérios selecionados para o período 2010-2022



ANEXO B – Heredograma da família estudada



Fonte: Elaborado pelo autor.

Onde: Segawa variation: variante identificada de *GCH1*, Motor symptoms: sintomas motores, Major depressive episode: episódio depressivo maior

ANEXO C – Módulo Z do M.I.N.I. PLUS (Mini International Neuropsychiatric Interview Plus) – Versão brasileira 5.0.0

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – FACULDADE DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE
PESQUISA - SÍNDROME DE SEGAWA: TRANSTORNOS NEUROPSIQUIÁTRICOS E DO SONO
M.I.N.I. - MINI INTERNATIONAL NEUROPSYCHIATRIC INTERVIEW (BRAZILIAN VERSION 5.0.0)**

NOME: _____
 IDADE (EM ANOS): _____ DATA: ____/____/____ LOCAL: _____
 ENTREVISTADOR(A): _____
 HORA DE INÍCIO DA ENTREVISTA: _____ HORA DO FIM DA ENTREVISTA: _____

NÚMERO DO ENTREVISTADO: _____

Z. TRANSTORNO MISTO DE ANSIEDADE-DEPRESSÃO

NÃO UTILIZAR ESSE MÓDULO ISOLADAMENTE SEM ANTES COMPLETAR TODOS OS MÓDULOS REFERENTES AOS TRANSTORNOS ANSIOSOS E DO HUMOR.
[PULAR ESSE MÓDULO SE OS CRITÉRIOS PARA QUALQUER OUTRO TRANSTORNO JÁ FORAM PREENCHIDOS E ASSINALAR NÃO NO QUADRO DIAGNÓSTICO].

(→ SIGNIFICA: IR DIRETAMENTE AO(S) QUADRO(S) DIAGNÓSTICO(S), ASSINALAR NÃO EM CADA UM.)

Z1	Alguma vez sentiu-se constantemente triste, desanimado(a), deprimido(a), durante pelo menos 1 mês ?	→ NÃO	SIM	1
Z2	Quando sentiu-se constantemente deprimido(a), teve algum dos problemas seguintes, durante pelo menos 1 mês:			
	a. Teve dificuldade de se concentrar ou "brancos na mente" ?	NÃO	SIM	2
	b. Teve problemas de sono (dificuldade de pegar no sono, acordar no meio da noite ou muito cedo, dormir demais)?	NÃO	SIM	3
	c. Sentiu-se cansado (a), sem energia ?	NÃO	SIM	4
	d. Sentiu-se particularmente irritável ?	NÃO	SIM	5
	e. Ficou excessivamente preocupado(a) por pelo menos um mês?	NÃO	SIM	6
	f. Chorava facilmente ?	NÃO	SIM	7
	g. Ficou constantemente alerta com relação a possíveis perigos?	NÃO	SIM	8
	h. Temia sempre o pior ?	NÃO	SIM	9
	i. Sentiu-se sem esperança ?	NÃO	SIM	10
	j. Perdeu a auto-confiança ou sentiu-se inútil ?	NÃO	SIM	11
	Z2 (SUMÁRIO): HÁ PELO MENOS 4 RESPOSTAS "SIM" EM Z2 ?	→ NÃO	SIM	
Z3	Esses problemas lhe causaram sofrimento importante ou perturbaram de forma significativa seu trabalho, suas atividades cotidianas ou suas relações sociais?	→ NÃO	SIM	12
Z4	a. Estava usando alguma droga ou medicamento logo antes desses problemas começarem ?	☐ Não	☐ Sim	
	b. Teve alguma doença física logo antes desses problemas começarem?	☐ Não	☐ Sim	
	NO JULGAMENTO DO CLÍNICO: O USO DE DROGAS/ MEDICAMENTOS OU UMA DOENÇA FÍSICA É PROVAVELMENTE A CAUSA DIRETA DA SINTOMATOLOGIA ? (FAZER PERGUNTAS ABERTAS ADIACINAIS SE NECESSÁRIO).			
	UMA CAUSA ORGÂNICA FOI EXCLUÍDA?	→ NÃO	SIM	INCERTO 13
Z5	a. O(A) ENTREVISTADO(A) PREENCHE OS CRITÉRIOS PARA:			
	Depressão Maior VIDA INTEIRA	NÃO	→ SIM	14
	Distímia VIDA INTEIRA	NÃO	→ SIM	15
	Transtorno de Pânico VIDA INTEIRA	NÃO	→ SIM	16
	Transtorno de Ansiedade Generalizada VIDA INTEIRA	NÃO	→ SIM	17
	b. ATUALMENTE O(A) ENTREVISTADO(A) PREENCHE OS CRITÉRIOS PARA: qualquer outro Transtorno Ansioso	NÃO	→ SIM	18
	qualquer outro Transtorno do Humor	NÃO	→ SIM	19
	c. A SINTOMATOLOGIA PRESENTE É MELHOR EXPLICADA POR QUALQUER OUTRO TRANSTORNO PSIQUIÁTRICO ?	NÃO	→ SIM	20
Z6	Z5c É COTADA NÃO?	NÃO SIM TRANSTORNO MISTO DE ANSIEDADE-DEPRESSÃO ATUAL		

ANEXO D - Inventário de Depressão de Beck – II (BDI-II)

ARG.04.11

BDI-II

Inventário de Depressão de Beck

Folha de Aplicação/Respostas

Nome: _____

RG: _____ CPF: _____

Data de Nascimento: ____ / ____ / ____ Local de Nascimento: ____ / ____ / ____
 dia mês ano Cidade Estado País

Idade: _____ Sexo: M () F () Escolaridade: _____

Curso/Série: _____ Escola/Instituição: _____ Públ. () Priv. ()

Ocupação: _____ Data da Aplicação: ____ / ____ / ____
 dia mês ano

Aplicador: _____

Autorizo uso sigiloso em pesquisa: _____

assinatura

Instruções:

Este questionário consiste em 21 grupos de afirmações. Por favor, leia cada uma delas cuidadosamente. Depois, escolha uma frase de cada grupo, que melhor descreve o modo como você tem se sentido nas **duas últimas semanas, incluindo o dia de hoje**. Faça um círculo em volta do número (0, 1, 2 ou 3), correspondente à afirmação escolhida em cada grupo. Se mais de uma afirmação em um grupo lhe parecer igualmente apropriada, escolha a de número mais alto neste grupo. Verifique se não marcou mais de uma afirmação por grupo, incluindo o item 16 (alterações no padrão de sono) e o item 18 (alterações de apetite).

PEARSON

BOMI. Copyright © 1996 NCS Pearson, Inc.
Brazilian adaptation Copyright © 2011 NCS Pearson, Inc. All rights reserved. No part
of this publication may be reproduced or transmitted in any form or by any means,
electronic or mechanical, including photocopy, recording, or any information storage
and retrieval system, without permission in writing from NCS Pearson, Inc.



© 2011 Casapshi Livraria e Editora Ltda
É proibida a reprodução total ou parcial desta obra para
qualquer finalidade. Todos os direitos reservados.
Av. Francisco Matarazzo, 1500 - Conjunto 501-1 Ed. New York
Centro Empresarial Água Branca - CEP 05001-100
Tel. Fax: (11) 3572 1240 - www.casapshipsicologo.com.br

A presente Folha de Aplicação/Respostas é impressa em cores.
Caso desconfie de sua autenticidade,
ligue para (11) 3672.1240

1. Tristeza 0 Não me sinto triste. 1 Eu me sinto triste grande parte do tempo. 2 Estou triste o tempo todo. 3 Estou tão triste ou tão infeliz que não consigo suportar. 2. Pessimismo 0 Não estou desanimado(a) a respeito do meu futuro. 1 Eu me sinto mais desanimado(a) a respeito do meu futuro do que de costume. 2 Não espero que as coisas dêem certo para mim. 3 Sinto que não há esperança quanto ao meu futuro. Acho que só vai piorar. 3. Fracasso passado 0 Não me sinto um(a) fracassado(a). 1 Tenho fracassado mais do que deveria. 2 Quando penso no passado vejo muitos fracassos. 3 Sinto que como pessoa sou um fracasso total. 4. Perda de prazer 0 Continuo sentindo o mesmo prazer que sentia com as coisas de que eu gosto. 1 Não sinto tanto prazer com as coisas como costumava sentir. 2 Tenho muito pouco prazer nas coisas que eu costumava gostar. 3 Não tenho mais nenhum prazer nas coisas que costumava gostar. 5. Sentimentos de culpa 0 Não me sinto particularmente culpado(a). 1 Eu me sinto culpado(a) a respeito de várias coisas que fiz e/ou que deveria ter feito. 2 Eu me sinto culpado(a) a maior parte do tempo. 3 Eu me sinto culpado(a) o tempo todo. 6. Sentimentos de punição 0 Não sinto que estou sendo punido(a). 1 Sinto que posso ser punido(a). 2 Eu acho que serei punido(a). 3 Sinto que estou sendo punido(a).	7. Auto-estima 0 Eu me sinto como sempre me senti em relação a mim mesmo(a). 1 Perdi a confiança em mim mesmo(a). 2 Estou desapontado(a) comigo mesmo(a). 3 Não gosto de mim. 8. Autocrítica 0 Não me critico nem me culpo mais do que o habitual. 1 Estou sendo mais crítico(a) comigo mesmo(a) do que costumava ser. 2 Eu me critico por todos os meus erros. 3 Eu me culpo por tudo de ruim que acontece. 9. Pensamentos ou desejos suicidas 0 Não tenho nenhum pensamento de me matar. 1 Tenho pensamentos de me matar, mas não levaria isso adiante. 2 Gostaria de me matar. 3 Eu me mataria se tivesse oportunidade. 10. Choro 0 Não choro mais do que chorava antes. 1 Choro mais agora do que costumava chorar. 2 Choro por qualquer coisinha. 3 Sinto vontade de chorar, mas não consigo. 11. Agitação 0 Não me sinto mais inquieto(a) ou agitado(a) do que me sentia antes. 1 Eu me sinto mais inquieto(a) ou agitado(a) do que me sentia antes. 2 Eu me sinto tão inquieto(a) ou agitado(a) que é difícil ficar parado(a). 3 Estou tão inquieto(a) ou agitado(a) que tenho que estar sempre me mexendo ou fazendo alguma coisa. 12. Perda de interesse 0 Não perdi o interesse por outras pessoas ou por minhas atividades. 1 Estou menos interessado pelas outras pessoas ou coisas do que costumava estar. 2 Perdi quase todo o interesse por outras pessoas ou coisas. 3 É difícil me interessar por alguma coisa.
--	--

Subtotal da página 1

13. Indecisão 0 Tomo minhas decisões tão bem quanto antes. 1 Acho mais difícil tomar decisões agora do que antes. 2 Tenho muito mais dificuldade em tomar decisões agora do que antes. 3 Tenho dificuldade para tomar qualquer decisão. 14. Desvalorização 0 Não me sinto sem valor. 1 Não me considero hoje tão útil ou não me valorizo como antes. 2 Eu me sinto com menos valor quando me comparo com outras pessoas. 3 Eu me sinto completamente sem valor. 15. Falta de energia 0 Tenho tanta energia hoje como sempre tive. 1 Tenho menos energia do que costumava ter. 2 Não tenho energia suficiente para fazer muita coisa. 3 Não tenho energia suficiente para nada. 16. Alterações no padrão de sono 0 Não percebi nenhuma mudança no meu sono. 1a Durmo um pouco mais do que o habitual. 1b Durmo um pouco menos do que o habitual. 2a Durmo muito mais do que o habitual. 2b Durmo muito menos do que o habitual. 3a Durmo a maior parte do dia. 3b Acordo 1 ou 2 horas mais cedo e não consigo voltar a dormir. 17. Irritabilidade 0 Não estou mais irritado(a) do que o habitual. 1 Estou mais irritado(a) do que o habitual. 2 Estou muito mais irritado(a) do que o habitual. 3 Fico irritado(a) o tempo todo.	18. Alterações de apetite 0 Não percebi nenhuma mudança no meu apetite. 1a Meu apetite está um pouco menor do que o habitual. 1b Meu apetite está um pouco maior do que o habitual. 2a Meu apetite está muito menor do que antes. 2b Meu apetite está muito maior do que antes. 3a Não tenho nenhum apetite. 3b Quero comer o tempo todo. 19. Dificuldade de concentração 0 Posso me concentrar tão bem quanto antes. 1 Não posso me concentrar tão bem como habitualmente. 2 É muito difícil manter a concentração em alguma coisa por muito tempo. 3 Eu acho que não consigo me concentrar em nada. 20. Cansaço ou fadiga 0 Não estou mais cansado(a) ou fatigado(a) do que o habitual. 1 Fico cansado(a) ou fatigado(a) mais facilmente do que o habitual. 2 Eu me sinto muito cansado(a) ou fatigado(a) para fazer muitas das coisas que costumava fazer. 3 Eu me sinto muito cansado(a) ou fatigado(a) para fazer a maioria das coisas que costumava fazer. 21. Perda de interesse por sexo 0 Não notei qualquer mudança recente no meu interesse por sexo. 1 Estou menos interessado(a) em sexo do que costumava estar. 2 Estou muito menos interessado(a) em sexo agora. 3 Perdi completamente o interesse por sexo.
--	--

Subtotal da página 1 _____

Subtotal da página 2 _____

Subtotal da página 2 _____

Pontuação total _____

ANEXO E – Escala de Impulsividade de Barratt 11

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS - FACULDADE DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE
PESQUISA – SÍNDROME DE SEGAWA: TRANSTORNOS NEUROPSIQUIÁTRICOS E DO SONO
ESCALA DE IMPULSIVIDADE DE BARRATT – BIS 11

NOME: _____ DATA: ____/____/____
IDADE (EM ANOS): _____ NÚMERO DO ENTREVISTADO: _____

Escala de Impulsividade de Barratt - BIS 11

Instruções: As pessoas divergem nas formas em que agem e pensam em diferentes situações. Esta é uma escala para avaliar algumas das maneiras que você age ou pensa. Leia cada afirmação e preencha o círculo apropriado no lado direito da página. Não gaste muito tempo em cada afirmação. Responda de forma rápida e honestamente.

Afirmações	Raramente ou nunca	De vez em quando	Com frequência	Quase sempre / Sempre
1. Eu planejo tarefas cuidadosamente.	☐	☐	☐	☐
2. Eu faço coisas sem pensar.	☐	☐	☐	☐
3. Eu tomo decisões rapidamente.	☐	☐	☐	☐
4. Eu sou despreocupado (confio na sorte, "desencanado").	☐	☐	☐	☐
5. Eu não presto atenção.	☐	☐	☐	☐
6. Eu tenho pensamentos que se atropelam.	☐	☐	☐	☐
7. Eu planejo viagens com bastante antecedência.	☐	☐	☐	☐
8. Eu tenho autocontrole.	☐	☐	☐	☐
9. Eu me concentro facilmente.	☐	☐	☐	☐
10. Eu economizo (poupo) regularmente.	☐	☐	☐	☐
11. Eu fico me contorcendo na cadeira em peças de teatro ou palestras	☐	☐	☐	☐
12. Eu penso nas coisas com cuidado.	☐	☐	☐	☐
13. Eu faço planos para me manter no emprego (eu cuido para não perder meu emprego).	☐	☐	☐	☐
14. Eu falo coisas sem pensar.	☐	☐	☐	☐
15. Eu gosto de pensar em problemas complexos.	☐	☐	☐	☐
16. Eu troco de emprego.	☐	☐	☐	☐
17. Eu ajo por impulso.	☐	☐	☐	☐
18. Eu fico entediado com facilidade quando estou resolvendo problemas mentalmente.	☐	☐	☐	☐
19. Eu ajo no "calor" do momento.	☐	☐	☐	☐
20. Eu mantenho a linha de raciocínio ("não perco o fio da meada").	☐	☐	☐	☐
21. Eu troco de casa (residência).	☐	☐	☐	☐
22. Eu compro coisas por impulso.	☐	☐	☐	☐
23. Eu só consigo pensar em uma coisa de cada vez.	☐	☐	☐	☐
24. Eu troco de interesses e passatempos ("hobby").	☐	☐	☐	☐
25. Eu gasto ou compro a prestação mais do que ganho.	☐	☐	☐	☐
26. Enquanto estou pensando em uma coisa, é comum que outras idéias me venham à cabeça ou ao mesmo tempo.	☐	☐	☐	☐
27. Eu tenho mais interesse no presente do que no futuro.	☐	☐	☐	☐
28. Eu me sinto inquieto em palestras ou aulas.	☐	☐	☐	☐
29. Eu gosto de jogos e desafios mentais.	☐	☐	☐	☐
30. Eu me preparo para o futuro.	☐	☐	☐	☐

**ANEXO F – Escala de Graduação para a Síndrome de Pernas Inquietas do Grupo de
Estudo Internacional da Síndrome de Pernas Inquietas (Walters AS et al., 2003)**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FACULDADE DE MEDICINA

PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

PESQUISA - APRIMORANDO AS INTERFACES DA SINTOMATOLOGIA NÃO MOTORA NA
DOENÇA DE SEGAWA: estudo neuropsiquiátrico e do ciclo sono vigília em uma família
acometida

ESCALA DE GRADUAÇÃO PARA A SÍNDROME DE PERNAS INQUIETAS DO GRUPO DE ESTUDO
INTERNACIONAL DA SÍNDROME DE PERNAS INQUIETAS (Walters AS et al., 2003)

(Com tradução e validação para a língua portuguesa por Masuko AH et al., 2008).

(AUTOAPLICÁVEL)

DATA: ____/____/____

NOME: _____

NÚMERO (A SER ATRIBUÍDO PELA EQUIPE PESQUISADORA): _____

DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____ IDADE (EM ANOS): _____ SEXO: _____

ENDEREÇO: _____

TEL. FIXO (COM DDD): _____ TEL. CEL (COM DDD): _____

E-MAIL: _____

NOME DO ENTREVISTADOR(A) (OPCIONAL): _____

MEDICAMENTOS EM USO/DOSE ATUAL/HÁ QUANTO TEMPO USA O MEDICAMENTO: _____

Por favor, leia cada questão e circule o número que lhe parece a melhor resposta.

1. Em geral, como você considera o desconforto da síndrome de pernas inquietas nas suas pernas ou braços?

- (4) Muito intenso
- (3) Intenso
- (2) Moderado
- (1) Leve
- (0) Nenhum

2. Em geral, como você considera a necessidade de se mexer ou andar por causa dos seus sintomas da síndrome de pernas inquietas?

- (4) Muito grande
- (3) Grande
- (2) Moderada
- (1) Pequena
- (0) Nenhuma

3. Em geral, quanto de alívio no desconforto das pernas ou braços você consegue ao andar?

- (4) Nenhum alívio
- (3) Pouco alívio
- (2) Alívio moderado
- (1) Alívio total ou quase total
- (0) Sem sintomas de síndrome de pernas inquietas, portanto a questão não se aplica

4. Em geral, qual a intensidade do seu distúrbio de sono por causa dos sintomas da síndrome de pernas inquietas?

- (4) Muito intenso
- (3) Intenso
- (2) Moderado
- (1) Leve
- (0) Nenhum

5. Qual a intensidade do seu cansaço ou sonolência por causa dos sintomas da síndrome de pernas inquietas?

- (4) Muito intenso(a)
- (3) Intenso(a)
- (2) Moderado(a)
- (1) Leve
- (0) Nenhum

6. Em geral qual a gravidade da sua síndrome de pernas inquietas como um todo?

- (4) Muito grave
- (3) Grave
- (2) Moderada
- (1) Leve
- (0) Nenhuma

7. Com que frequência você tem sintomas da síndrome de pernas inquietas?

- (4) De 6 a 7 dias por semana
- (3) De 4 a 5 dias por semana
- (2) De 2 a 3 dias por semana
- (1) 1 dia ou menos por semana
- (0) Nunca

8. Quando você tem sintomas da síndrome de pernas inquietas, qual a duração dos sintomas num dia corriqueiro?

- (4) Dura 8hs ou mais nas 24hs do dia
- (3) Dura 3 a 8hs nas 24hs do dia
- (2) Dura 1 a 3hs nas 24hs do dia
- (1) Dura 1 hora ou menos nas 24 hs do dia
- (0) Nenhuma duração

9. No geral, qual a intensidade do impacto dos seus sintomas da síndrome de pernas inquietas na sua capacidade de realizar suas atividades diárias, como por exemplo, atividades familiares, no seu lar, na sociedade, na escola ou na vida profissional?

- (4) Muito grande
- (3) Grande
- (2) Moderada
- (1) Pequena
- (0) Nenhuma

10. Qual a intensidade do seu distúrbio de humor por causa dos sintomas da síndrome de pernas inquietas, por exemplo, raiva, depressão, tristeza, ansiedade, irritação?

- (4) Muito grande
- (3) Grande
- (2) Moderada
- (1) Pequena
- (0) Nenhuma

Masuko AH et al. Translation and validation into the Brazilian Portuguese of the restless legs syndrome rating scale of the International Restless Legs Syndrome Study Group. Arq Neuropsiquiatr. 2008;66(4):832-6.

ANEXO G – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa – UFMG do Projeto de Pesquisa “Síndrome de Segawa, transtornos neuropsiquiátricos e do sono”
Documento de aprovação do Projeto de Pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 06803312.8.0000.5149

Interessado(a): Profa. Eugenia Ribeiro Valadares
Departamento de Propedêutica Complementar
Faculdade de Medicina- UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 22 de fevereiro de 2016, o projeto de pesquisa intitulado **"Síndrome de Segawa, transtornos neuropsiquiátricos e do sono"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto através da Plataforma Brasil.


Profa. Dra. Telma Campos Medeiros Lorentz
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO H – Resultados estatísticos do item 6.3 Artigo: “Altered amino acids and melatonin in individuals with autosomal dominant Segawa syndrome: impact of levodopa use and relation to non-motor symptoms”

Siglas, abreviaturas e símbolos
***** – teste com valor de “p” estatisticamente significante ($\leq 0,05$)
G1 – grupo 1
G2 – grupo 2
N – não
S – sim
EDM_ATUAL – episódio depressivo maior atual
EDM_RECOR – episódio depressivo maior recorrente
EDM_PASS – episódio depressivo maior passado
Dpsic20 – escore do domínio psicológico do Questionário de Qualidade de Vida da OMS abreviado
Geral20 – escore total do Questionário de Qualidade de Vida da OMS abreviado
Score_bruto – escore bruto do Inventário de Depressão de Beck - II
Categ – Categorizacao do escore_bruto do Inventário de Depressão de Beck - II (1,2,3 ou 4), sendo score <14 -> categ=1, 14<=score <20 -> categ=2, 20<=score <29 -> categ=3, score >=29 -> categ=4
Sono – qualidade de sono pobre no Índice de Qualidade de Sono de Pittsburgh, sendo 0=ausente e 1=presente
MelNoturna – melatonina noturna
MelDiurna – melatonina diurna
AcAsp – ácido aspártico
AcGlut – ácido glutâmico
Aspar – asparagina
Hist – histidina
Serin – serina
Glutam – glutamina
Argin – arginina
Tiros – tirosina
Alanin – alanina
Trip – triptofano
Metion – metionina
Valin – valina
Fenil – fenilalanina
Isol – isoleucina
Leuc – leucina
InfLeuc – influxo cerebral estimado de leucina
InfFenil – influxo cerebral estimado de fenilalanina
InfTrip – influxo cerebral estimado de triptofano
InfTiros – influxo cerebral estimado de tirosina
InfIsol – influxo cerebral estimado de isoleucina
InfHist – influxo cerebral estimado de histidina
InfValin – influxo cerebral estimado de valina
InfGlut – influxo cerebral estimado de glutamina
InfMetion – influxo cerebral estimado de metionina
NAO SEGAWA – indivíduos sem a variação genética
SEGAWA – indivíduos com a variação genética
NAO LDOPA – indivíduos que não faziam uso da levodopa
LDOPA – indivíduos que faziam uso da levodopa

SEGAWA NAO LDOPA – indivíduos com a variação genética que não faziam uso da levodopa
SEGAWA LDOPA – indivíduos com a variação genética que faziam uso da levodopa
NAO SEGAWA PSICOF – indivíduos sem a variação genética que faziam uso de psicofármacos
NAO SEGAWA NAO PSICOF – indivíduos sem a variação genética que não faziam uso de psicofármacos
SEGAWA PSICOF – indivíduos com a variação genética que faziam uso de outros psicofármacos (além da levodopa)
SEGAWA NAO PSICOF – indivíduos com a variação genética que não faziam uso de psicofármacos (exceto levodopa)
SEGAWA LDOPA PSICOF – indivíduos com a variação genética que faziam uso levodopa e outros psicofármacos
SEGAWA LDOPA NAO PSICOF – indivíduos com a variação genética que faziam uso levodopa e não usavam outros psicofármacos
SEGAWA NAO LDOPA NAO PSICOF – indivíduos com a variação genética que não faziam uso de levodopa nem outros psicofármacos
SEGAWA NAO LDOPA PSICOF – indivíduos com a variação genética que não faziam uso de levodopa e usavam outros psicofármacos

Resultados para os testes de diferenças de média entre os grupos, para cada variável, por experimento

*****Experiment G1: NAO SEGAWA x G2: SEGAWA

Categorical variable EDM_ATUAL with levels, N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	19	14
S	2	3

Fisher P = 0.6396396

Categorical variable EDM_RECOR with levels, N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	17	11
S	4	6

Fisher P = 0.2931786

***** Categorical variable EDM_PASS with levels, N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	16	7
S	5	10

Fisher P = 0.04577124

Test of different means for Normal variable Dpsic20

G1, N = (21) with mean(sd) = 14 (2.93):

G2, N = (17) with mean(sd) = 13.18 (2.51)

t = -0.93, p-value = 0.357, e-size = -0.3

Test of different means for Normal variable geral20

G1, N = (21) with mean(sd) = 15.43 (2.91):

G2, N = (17) with mean(sd) = 14.82 (2.65)

t = -0.67, p-value = 0.507, e-size = -0.22

Test of different means for Normal variable score_bruto

G1, N = (21) with mean(sd) = 13.52 (10.52):

G2, N = (17) with mean(sd) = 13.24 (7.75)

t = -0.1, p-value = 0.923, e-size = -0.03

Test of different means for NON Normal variable categ

G1, N=(21) with mean(sd) = 1.81 (1.12):

G2, N=(17) with mean(sd) = 1.71 (0.92)

Wilcoxon = 173, p-value = 0.869, e-size = -0.1

Categorical variable sono with levels, 0 1:

Contingency table:

	G1	G2
0	7	7
1	14	10

Fisher P = 0.7395545

Test of different means for NON Normal variable Serotonina

G1, N = (14) with mean(sd) = 62.22 (43.44):

G2, N = (17) with mean(sd) = 65.37 (39.01)

Wilcoxon = 123, p-value = 0.889, e-size = 0.08

Test of different means for NON Normal variable MelNoturna

G1, N = (12) with mean(sd) = 157.41 (22.74):

G2, N = (16) with mean(sd) = 148.93 (40.36)

Wilcoxon = 93, p-value = 0.908, e-size = -0.25

Test of different means for NON Normal variable MelDiurna

G1, N = (14) with mean(sd) = 162.1 (19.25):

G2, N = (17) with mean(sd) = 160.94 (33.26)

Wilcoxon = 128, p-value = 0.736, e-size = -0.04

Test of different means for NON Normal variable AcAsp

G1, N = (14) with mean(sd) = 3.89 (1.26):

G2, N = (17) with mean(sd) = 3.92 (1.49)

Wilcoxon = 113.5, p-value = 0.842, e-size = 0.02

Test of different means for NON Normal variable AcGlut

G1, N = (14) with mean(sd) = 90.04 (46.79):

G2, N = (17) with mean(sd) = 76.18 (31.29)

Wilcoxon = 98, p-value = 0.416, e-size = -0.36

Test of different means for Normal variable Aspar

G1, N = (14) with mean(sd) = 43.73 (7.83):

G2, N = (17) with mean(sd) = 39.65 (8.16)

t = -1.42, p-value = 0.167, e-size = -0.51

Test of different means for Normal variable Hist

G1, N = (14) with mean(sd) = 101.84 (20.25):

G2, N = (17) with mean(sd) = 93.55 (20.49)

t = -1.13, p-value = 0.269, e-size = -0.41

Test of different means for NON Normal variable Serin

G1, N = (14) with mean(sd) = 94.74 (23.81):

G2, N = (17) with mean(sd) = 86.46 (21.48)

Wilcoxon = 95, p-value = 0.351, e-size = -0.37

Test of different means for Normal variable Glutam

G1, N = (14) with mean(sd) = 508.13 (53.47):

G2, N = (17) with mean(sd) = 502.15 (97.88)

t = -0.22, p-value = 0.831, e-size = -0.07

Test of different means for Normal variable Argin

G1, N = (14) with mean(sd) = 102.28 (25.76):

G2, N = (17) with mean(sd) = 88.59 (22.66)

t = -1.55, p-value = 0.132, e-size = -0.57

Test of different means for Normal variable Tiros

G1, N=(14) with mean(sd)= 68.12 (17.83):

G2, N=(17) with mean(sd)= 65.53 (11.08)

t= -0.47, p-value = 0.64, e-size = -0.18

Test of different means for Normal variable Alanin

G1, N = (14) with mean(sd) = 395.47 (74.06):

G2, N = (17) with mean(sd) = 398.66 (94.05)

t = 0.11, p-value = 0.917, e-size = 0.04

Test of different means for Normal variable Trip

G1, N = (14) with mean(sd) = 59.39 (8.6):

G2, N = (17) with mean(sd) = 58.31 (8.32)

t = -0.36, p-value = 0.725, e-size = -0.13

Test of different means for Normal variable Metion

G1, N = (14) with mean(sd) = 23.43 (3.74):

G2, N = (17) with mean(sd) = 22.63 (2.95)

t = -0.65, p-value = 0.522, e-size = -0.24

Test of different means for NON Normal variable Valin

G1, N = (14) with mean(sd) = 211.24 (34.83):

G2, N = (17) with mean(sd) = 212.51 (31.55)

Wilcoxon = 122, p-value = 0.921, e-size = 0.04

Test of different means for Normal variable Fenil

G1, N = (14) with mean(sd) = 66.95 (11.07):

G2, N = (17) with mean(sd) = 71.25 (7.5)

t = 1.24, p-value = 0.228, e-size = 0.46

Test of different means for NON Normal variable Isol

G1, N = (14) with mean(sd) = 66.04 (15.32):

G2, N = (17) with mean(sd) = 66.68 (13.25)

Wilcoxon = 127.5, p-value = 0.751, e-size = 0.04

Test of different means for NON Normal variable Leuc

G1, N = (14) with mean(sd) = 125.11 (26.84):

G2, N = (17) with mean(sd) = 123.81 (20.74)

Wilcoxon = 128, p-value = 0.736, e-size = -0.05

Test of different means for Normal variable InfLeuc

G1, N = (14) with mean(sd) = 12.17 (1.33):

G2, N = (17) with mean(sd) = 11.99 (1.01)

t = -0.42, p-value = 0.68, e-size = -0.15

***** Test of different means for Normal variable InfFenil

G1, N = (14) with mean(sd) = 11.98 (0.77):

G2, N = (17) with mean(sd) = 12.71 (0.78)

t = 2.6, p-value = 0.015, e-size = 0.94

Test of different means for Normal variable InfTrip

G1, N = (14) with mean(sd) = 10.53 (1.23):

G2, N = (17) with mean(sd) = 10.21 (1.02)

t = -0.79, p-value = 0.436, e-size = -0.29

Test of different means for Normal variable InfTiros

G1, N = (14) with mean(sd) = 4.9 (0.99):

G2, N = (17) with mean(sd) = 4.69 (0.61)

t = -0.68, p-value = 0.505, e-size = -0.26

Test of different means for Normal variable InfIsol

G1, N=(14) with mean(sd)= 3.38 (0.39):

G2, N=(17) with mean(sd)= 3.4 (0.42)

t= 0.14 , p-value= 0.887 , e-size= 0.05

Test of different means for Normal variable InfHist

G1, N=(14) with mean(sd)= 2.99 (0.46):

G2, N=(17) with mean(sd)= 2.72 (0.51)

t= -1.54 , p-value= 0.135 , e-size= -0.55

Test of different means for Normal variable InfValin

G1, N=(14) with mean(sd)= 2.37 (0.22):

G2, N=(17) with mean(sd)= 2.37 (0.19)

t= -0.09 , p-value= 0.925 , e-size= -0.03

Test of different means for Normal variable InfGlut

G1, N=(14) with mean(sd)= 1.21 (0.16):

G2, N=(17) with mean(sd)= 1.18 (0.25)

t= -0.36 , p-value= 0.718 , e-size= -0.13

Test of different means for Normal variable InfMetion

G1, N=(14) with mean(sd)= 0.71 (0.07):

G2, N=(17) with mean(sd)= 0.68 (0.06)

t= -1.24 , p-value= 0.226 , e-size= -0.46

*****Experiment G1: NAO LDOPA x G2: LDOPA

Categorical variable EDM_ATUAL with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	24	9
S	5	0

Fisher P= 0.3120659

Categorical variable EDM_RECOR with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	21	7
S	8	2

Fisher P= 1

Categorical variable EDM_PASS with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	19	4
S	10	5

Fisher P= 0.4364711

Test of different means for NON Normal variable Dpsic20

G1, N=(29) with mean(sd)= 13.62 (2.97):

G2, N=(9) with mean(sd)= 13.67 (2)

wilcoxon= 128 , p-value= 0.944 , e-size= 0.02

Test of different means for Normal variable geral20

G1, N=(29) with mean(sd)= 15.1 (2.96):

G2, N=(9) with mean(sd)= 15.33 (2.24)

t= 0.25 , p-value= 0.807 , e-size= 0.08

Test of different means for Normal variable score_bruto

G1, N=(29) with mean(sd)= 14.14 (9.79):

G2, N=(9) with mean(sd)= 11 (7.3)

t= -1.03 , p-value= 0.315 , e-size= -0.34

Test of different means for NON Normal variable categ

G1, N=(29) with mean(sd)= 1.86 (1.06):

G2, N=(9) with mean(sd)= 1.44 (0.88)

wilcoxon= 99.5 , p-value= 0.24 , e-size= -0.41

Categorical variable sono with levels , 0 1 :

Contingency table:

	G1	G2
0	10	4
1	19	5

Fisher P= 0.6994513

Test of different means for Normal variable Serotonina

G1, N=(22) with mean(sd)= 59.48 (40.1):

G2, N=(9) with mean(sd)= 74.88 (41.36)

t= 0.95 , p-value= 0.358 , e-size= 0.38

Test of different means for NON Normal variable MelNoturna

G1, N=(20) with mean(sd)= 160.76 (21.66):

G2, N=(8) with mean(sd)= 132.06 (49.27)

wilcoxon= 43 , p-value= 0.063 , e-size= -0.91

Test of different means for NON Normal variable MelDiurna

G1, N=(22) with mean(sd)= 166.07 (19.31):

G2, N=(9) with mean(sd)= 150.2 (40.44)

wilcoxon= 74 , p-value= 0.286 , e-size= -0.59

Test of different means for NON Normal variable AcAsp

G1, N=(22) with mean(sd)= 3.84 (1.24):

G2, N=(9) with mean(sd)= 4.06 (1.71)

wilcoxon= 97 , p-value= 0.948 , e-size= 0.15

Test of different means for NON Normal variable AcGlut

G1, N=(22) with mean(sd)= 83.58 (43.2):

G2, N=(9) with mean(sd)= 79.67 (28.1)

wilcoxon= 96 , p-value= 0.913 , e-size= -0.1

Test of different means for Normal variable Aspar

G1, N=(22) with mean(sd)= 42.65 (6.78):

G2, N=(9) with mean(sd)= 38.64 (10.73)

t= -1.04 , p-value= 0.322 , e-size= -0.5

***** Test of different means for Normal variable Hist

G1, N=(22) with mean(sd)= 102.67 (18.08):

G2, N=(9) with mean(sd)= 84.14 (20.97)

t= -2.32 , p-value= 0.037 , e-size= -0.98

Test of different means for NON Normal variable Serin

G1, N=(22) with mean(sd)= 91.33 (23.29):

G2, N=(9) with mean(sd)= 87.44 (21.76)

wilcoxon= 93 , p-value= 0.811 , e-size= -0.17

Test of different means for Normal variable Glutam

G1, N=(22) with mean(sd)= 517.7 (59.94):

G2, N=(9) with mean(sd)= 473.43 (113.32)

t= -1.11 , p-value= 0.293 , e-size= -0.56

Test of different means for Normal variable Argin

G1, N=(22) with mean(sd)= 97.2 (22.84):

G2, N=(9) with mean(sd)= 88.84 (29.32)

t= -0.76 , p-value= 0.459 , e-size= -0.34

Test of different means for Normal variable Tiros

G1, N=(22) with mean(sd)= 69.01 (14.83):

G2, N=(9) with mean(sd)= 61.06 (11.86)

t= -1.57 , p-value= 0.133 , e-size= -0.57

Test of different means for Normal variable Alanin

G1, N=(22) with mean(sd)= 406.66 (80.13):

G2, N=(9) with mean(sd)= 374.14 (94.42)

t= -0.91 , p-value= 0.38 , e-size= -0.39

Test of different means for Normal variable Trip

G1, N=(22) with mean(sd)= 60.5 (7.42):

G2, N=(9) with mean(sd)= 54.62 (9.37)

t= -1.68 , p-value= 0.118 , e-size= -0.73

Test of different means for Normal variable Metion

G1, N=(22) with mean(sd)= 23.4 (3.37):

G2, N=(9) with mean(sd)= 21.98 (3.05)

t= -1.15 , p-value= 0.268 , e-size= -0.43

Test of different means for NON Normal variable Valin

G1, N=(22) with mean(sd)= 213.73 (34.5):

G2, N=(9) with mean(sd)= 207.57 (28.44)

wilcoxon= 87 , p-value= 0.617 , e-size= -0.19

Test of different means for Normal variable Fenil

G1, N=(22) with mean(sd)= 69.55 (9.94):

G2, N=(9) with mean(sd)= 68.72 (8.34)

t= -0.24 , p-value= 0.816 , e-size= -0.09

Test of different means for NON Normal variable Isol

G1, N=(22) with mean(sd)= 67.14 (15.13):

G2, N=(9) with mean(sd)= 64.56 (11.24)

wilcoxon= 96.5 , p-value= 0.931 , e-size= -0.18

Test of different means for Normal variable Leuc

G1, N=(22) with mean(sd)= 127.4 (25.21):

G2, N=(9) with mean(sd)= 117.04 (16.68)

t= -1.34 , p-value= 0.194 , e-size= -0.45

Test of different means for Normal variable InfLeuc

G1, N=(22) with mean(sd)= 12.13 (1.27):

G2, N=(9) with mean(sd)= 11.92 (0.83)

t= -0.54 , p-value= 0.596 , e-size= -0.18

***** Test of different means for Normal variable InfFenil

G1, N=(22) with mean(sd)= 12.19 (0.84):

G2, N=(9) with mean(sd)= 12.84 (0.7)

t= 2.22 , p-value= 0.04 , e-size= 0.81

Test of different means for Normal variable InfTrip

G1, N=(22) with mean(sd)= 10.49 (1.08):

G2, N=(9) with mean(sd)= 10.02 (1.17)

t= -1.04 , p-value= 0.318 , e-size= -0.42

Test of different means for Normal variable InfTiros

G1, N=(22) with mean(sd)= 4.86 (0.82):

G2, N=(9) with mean(sd)= 4.59 (0.72)

t= -0.93 , p-value= 0.368 , e-size= -0.35

Test of different means for Normal variable InfIsol

G1, N=(22) with mean(sd)= 3.36 (0.42):

G2, N=(9) with mean(sd)= 3.46 (0.34)

t= 0.68 , p-value= 0.505 , e-size= 0.25

***** Test of different means for Normal variable InfHist

G1, N=(22) with mean(sd)= 2.96 (0.47):

G2, N=(9) with mean(sd)= 2.56 (0.46)

t= -2.15 , p-value= 0.048 , e-size= -0.85

Test of different means for Normal variable InfValin

G1, N=(22) with mean(sd)= 2.35 (0.22):

G2, N=(9) with mean(sd)= 2.43 (0.15)

t= 1.18 , p-value= 0.25 , e-size= 0.39

Test of different means for Normal variable InfGlut

G1, N=(22) with mean(sd)= 1.2 (0.15):

G2, N=(9) with mean(sd)= 1.17 (0.32)

t= -0.24 , p-value= 0.817 , e-size= -0.12

Test of different means for Normal variable InfMetion

G1, N=(22) with mean(sd)= 0.69 (0.07):

G2, N=(9) with mean(sd)= 0.69 (0.06)

t= -0.05 , p-value= 0.958 , e-size= -0.02

*****Experiment G1: SEGAWA NAO LDOPA x G2: SEGAWA LDOPA

Categorical variable EDM_ATUAL with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	5	9
S	3	0

Fisher P= 0.08235294

Categorical variable EDM_RECOR with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	4	7
S	4	2

Fisher P= 0.3348416

Categorical variable EDM_PASS with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	3	4
S	5	5

Fisher P= 1

Test of different means for NON Normal variable Dpsic20

G1, N=(8) with mean(sd)= 12.62 (3.02):

G2, N=(9) with mean(sd)= 13.67 (2)

wilcoxon= 49 , p-value= 0.217 , e-size= 0.41

Test of different means for Normal variable geral20

G1, N=(8) with mean(sd)= 14.25 (3.11):

G2, N=(9) with mean(sd)= 15.33 (2.24)

t= 0.82 , p-value= 0.429 , e-size= 0.4

Test of different means for Normal variable score_bruto

G1, N=(8) with mean(sd)= 15.75 (7.92):

G2, N=(9) with mean(sd)= 11 (7.3)

t= -1.28 , p-value= 0.221 , e-size= -0.63

Test of different means for NON Normal variable categ

G1, N=(8) with mean(sd)= 2 (0.93):

G2, N=(9) with mean(sd)= 1.44 (0.88)

wilcoxon= 23.5 , p-value= 0.189 , e-size= -0.62

Categorical variable sono with levels , 0 1:

Contingency table:

	G1	G2
0	3	4
1	5	5

Fisher P= 1

Test of different means for Normal variable Serotonina

G1, N=(8) with mean(sd)= 54.68 (35.74):

G2, N=(9) with mean(sd)= 74.88 (41.36)

t= 1.08 , p-value= 0.297 , e-size= 0.52

***** Test of different means for NON Normal variable MelNoturna

G1, N=(8) with mean(sd)= 165.79 (20.31):

G2, N=(8) with mean(sd)= 132.06 (49.27)

wilcoxon= 11 , p-value= 0.031 , e-size= -0.9

Test of different means for NON Normal variable MelDiurna

G1, N=(8) with mean(sd)= 173.02 (18.56):

G2, N=(9) with mean(sd)= 150.2 (40.44)

wilcoxon= 20 , p-value= 0.136 , e-size= -0.71

Test of different means for NON Normal variable AcAsp

G1, N=(8) with mean(sd)= 3.76 (1.29):

G2, N=(9) with mean(sd)= 4.06 (1.71)

wilcoxon= 38 , p-value= 0.884 , e-size= 0.19

Test of different means for Normal variable AcGlut

G1, N=(8) with mean(sd)= 72.26 (36.08):

G2, N=(9) with mean(sd)= 79.67 (28.1)

t= 0.47 , p-value= 0.648 , e-size= 0.23

Test of different means for Normal variable Aspar

G1, N=(8) with mean(sd)= 40.77 (4.2):

G2, N=(9) with mean(sd)= 38.64 (10.73)

t= -0.55 , p-value= 0.594 , e-size= -0.26

***** Test of different means for Normal variable Hist

G1, N=(8) with mean(sd)= 104.14 (14.68):

G2, N=(9) with mean(sd)= 84.14 (20.97)

t= -2.3 , p-value= 0.037 , e-size= -1.09

Test of different means for NON Normal variable Serin

G1, N=(8) with mean(sd)= 85.35 (22.61):

G2, N=(9) with mean(sd)= 87.44 (21.76)

wilcoxon= 38 , p-value= 0.885 , e-size= 0.09

Test of different means for Normal variable Glutam

G1, N=(8) with mean(sd)= 534.45 (70.48):

G2, N=(9) with mean(sd)= 473.43 (113.32)

t= -1.35 , p-value= 0.2 , e-size= -0.64

Test of different means for Normal variable Argin

G1, N=(8) with mean(sd)= 88.3 (13.81):

G2, N=(9) with mean(sd)= 88.84 (29.32)

t= 0.05 , p-value= 0.961 , e-size= 0.02

Test of different means for Normal variable Tiros

G1, N=(8) with mean(sd)= 70.56 (8.07):

G2, N=(9) with mean(sd)= 61.06 (11.86)
t= -1.95 , p-value= 0.071 , e-size= -0.93

Test of different means for Normal variable Alanin

G1, N=(8) with mean(sd)= 426.24 (91.58):
G2, N=(9) with mean(sd)= 374.14 (94.42)
t= -1.15 , p-value= 0.267 , e-size= -0.56

***** Test of different means for Normal variable Trip

G1, N=(8) with mean(sd)= 62.45 (4.57):
G2, N=(9) with mean(sd)= 54.62 (9.37)
t= -2.23 , p-value= 0.046 , e-size= -1.04

Test of different means for Normal variable Metion

G1, N=(8) with mean(sd)= 23.36 (2.85):
G2, N=(9) with mean(sd)= 21.98 (3.05)
t= -0.97 , p-value= 0.349 , e-size= -0.47

Test of different means for Normal variable Valin

G1, N=(8) with mean(sd)= 218.07 (35.84):
G2, N=(9) with mean(sd)= 207.57 (28.44)
t= -0.66 , p-value= 0.518 , e-size= -0.33

Test of different means for Normal variable Fenil

G1, N=(8) with mean(sd)= 74.1 (5.63):
G2, N=(9) with mean(sd)= 68.72 (8.34)
t= -1.57 , p-value= 0.138 , e-size= -0.75

Test of different means for Normal variable Isol

G1, N=(8) with mean(sd)= 69.06 (15.63):
G2, N=(9) with mean(sd)= 64.56 (11.24)
t= -0.68 , p-value= 0.512 , e-size= -0.33

Test of different means for NON Normal variable Leuc

G1, N=(8) with mean(sd)= 131.41 (23.25):
G2, N=(9) with mean(sd)= 117.04 (16.68)
wilcoxon= 24 , p-value= 0.268 , e-size= -0.72

Test of different means for Normal variable InfLeuc

G1, N=(8) with mean(sd)= 12.06 (1.24):
G2, N=(9) with mean(sd)= 11.92 (0.83)
t= -0.27 , p-value= 0.79 , e-size= -0.14

Test of different means for Normal variable InfFenil

G1, N=(8) with mean(sd)= 12.56 (0.89):
G2, N=(9) with mean(sd)= 12.84 (0.7)
t= 0.73 , p-value= 0.479 , e-size= 0.36

Test of different means for Normal variable InfTrip

G1, N=(8) with mean(sd)= 10.42 (0.83):
G2, N=(9) with mean(sd)= 10.02 (1.17)
t= -0.81 , p-value= 0.43 , e-size= -0.39

Test of different means for Normal variable InfTiros

G1, N=(8) with mean(sd)= 4.81 (0.47):
G2, N=(9) with mean(sd)= 4.59 (0.72)
t= -0.75 , p-value= 0.466 , e-size= -0.35

Test of different means for Normal variable InfIsol

G1, N=(8) with mean(sd)= 3.33 (0.51):

G2, N=(9) with mean(sd)= 3.46 (0.34)
t= 0.6 , p-value= 0.557 , e-size= 0.3

Test of different means for Normal variable InfHist

G1, N=(8) with mean(sd)= 2.9 (0.52):
G2, N=(9) with mean(sd)= 2.56 (0.46)
t= -1.43 , p-value= 0.175 , e-size= -0.7

Test of different means for Normal variable InfValin

G1, N=(8) with mean(sd)= 2.3 (0.23):
G2, N=(9) with mean(sd)= 2.43 (0.15)
t= 1.34 , p-value= 0.204 , e-size= 0.67

Test of different means for Normal variable InfGlut

G1, N=(8) with mean(sd)= 1.19 (0.15):
G2, N=(9) with mean(sd)= 1.17 (0.32)
t= -0.12 , p-value= 0.909 , e-size= -0.05

Test of different means for Normal variable InfMetion

G1, N=(8) with mean(sd)= 0.66 (0.06):
G2, N=(9) with mean(sd)= 0.69 (0.06)
t= 0.92 , p-value= 0.371 , e-size= 0.45

*****Experiment G1: NAO SEGAWA x G2: SEGAWA NAO LDOPA

Categorical variable EDM_ATUAL with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	19	5
S	2	3

Fisher P= 0.1118774

Categorical variable EDM_RECOR with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	17	4
S	4	4

Fisher P= 0.1637803

Categorical variable EDM_PASS with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	16	3
S	5	5

Fisher P= 0.08340934

Test of different means for Normal variable Dpsic20

G1, N=(21) with mean(sd)= 14 (2.93):
G2, N=(8) with mean(sd)= 12.62 (3.02)
t= -1.1 , p-value= 0.29 , e-size= -0.47

Test of different means for Normal variable geral20

G1, N=(21) with mean(sd)= 15.43 (2.91):
G2, N=(8) with mean(sd)= 14.25 (3.11)
t= -0.93 , p-value= 0.371 , e-size= -0.4

Test of different means for Normal variable score_bruto

G1, N=(21) with mean(sd)= 13.52 (10.52):
G2, N=(8) with mean(sd)= 15.75 (7.92)

$t = 0.61$, $p\text{-value} = 0.547$, $e\text{-size} = 0.22$

Test of different means for NON Normal variable categ

G1, N=(21) with mean(sd)= 1.81 (1.12):

G2, N=(8) with mean(sd)= 2 (0.93)

wilcoxon= 97 , $p\text{-value} = 0.508$, $e\text{-size} = 0.18$

Categorical variable sono with levels , 0 1:

Contingency table:

	G1	G2
0	7	3
1	14	5

Fisher P= 1

Test of different means for Normal variable Serotonina

G1, N=(14) with mean(sd)= 62.22 (43.44):

G2, N=(8) with mean(sd)= 54.68 (35.74)

$t = -0.44$, $p\text{-value} = 0.666$, $e\text{-size} = -0.18$

Test of different means for Normal variable MelNoturna

G1, N=(12) with mean(sd)= 157.41 (22.74):

G2, N=(8) with mean(sd)= 165.79 (20.31)

$t = 0.86$, $p\text{-value} = 0.401$, $e\text{-size} = 0.38$

Test of different means for Normal variable MelDiurna

G1, N=(14) with mean(sd)= 162.1 (19.25):

G2, N=(8) with mean(sd)= 173.02 (18.56)

$t = 1.31$, $p\text{-value} = 0.21$, $e\text{-size} = 0.57$

Test of different means for Normal variable AcAsp

G1, N=(14) with mean(sd)= 3.89 (1.26):

G2, N=(8) with mean(sd)= 3.76 (1.29)

$t = -0.22$, $p\text{-value} = 0.831$, $e\text{-size} = -0.1$

Test of different means for NON Normal variable AcGlut

G1, N=(14) with mean(sd)= 90.04 (46.79):

G2, N=(8) with mean(sd)= 72.26 (36.08)

wilcoxon= 43 , $p\text{-value} = 0.394$, $e\text{-size} = -0.41$

Test of different means for Normal variable Aspar

G1, N=(14) with mean(sd)= 43.73 (7.83):

G2, N=(8) with mean(sd)= 40.77 (4.2)

$t = -1.15$, $p\text{-value} = 0.263$, $e\text{-size} = -0.44$

Test of different means for Normal variable Hist

G1, N=(14) with mean(sd)= 101.84 (20.25):

G2, N=(8) with mean(sd)= 104.14 (14.68)

$t = 0.31$, $p\text{-value} = 0.762$, $e\text{-size} = 0.12$

Test of different means for NON Normal variable Serin

G1, N=(14) with mean(sd)= 94.74 (23.81):

G2, N=(8) with mean(sd)= 85.35 (22.61)

wilcoxon= 40 , $p\text{-value} = 0.29$, $e\text{-size} = -0.4$

Test of different means for Normal variable Glutam

G1, N=(14) with mean(sd)= 508.13 (53.47):

G2, N=(8) with mean(sd)= 534.45 (70.48)

$t = 0.92$, $p\text{-value} = 0.378$, $e\text{-size} = 0.44$

Test of different means for Normal variable Argin

G1, N=(14) with mean(sd)= 102.28 (25.76):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 88.3 (13.81)
 t= -1.66 , p-value= 0.113 , e-size= -0.63

Test of different means for Normal variable Tiros

G1, N=(14) with mean(sd)= 68.12 (17.83):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 70.56 (8.07)
 t= 0.44 , p-value= 0.665 , e-size= 0.16

Test of different means for Normal variable Alanin

G1, N=(14) with mean(sd)= 395.47 (74.06):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 426.24 (91.58)
 t= 0.81 , p-value= 0.433 , e-size= 0.38

Test of different means for Normal variable Trip

G1, N=(14) with mean(sd)= 59.39 (8.6):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 62.45 (4.57)
 t= 1.09 , p-value= 0.29 , e-size= 0.41

Test of different means for Normal variable Metion

G1, N=(14) with mean(sd)= 23.43 (3.74):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 23.36 (2.85)
 t= -0.05 , p-value= 0.963 , e-size= -0.02

Test of different means for Normal variable Valin

G1, N=(14) with mean(sd)= 211.24 (34.83):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 218.07 (35.84)
 t= 0.43 , p-value= 0.67 , e-size= 0.19

Test of different means for Normal variable Fenil

G1, N=(14) with mean(sd)= 66.95 (11.07):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 74.1 (5.63)
 t= 2.01 , p-value= 0.059 , e-size= 0.75

Test of different means for NON Normal variable Isol

G1, N=(14) with mean(sd)= 66.04 (15.32):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 69.06 (15.63)
 wilcoxon= 62 , p-value= 0.707 , e-size= 0.2

Test of different means for NON Normal variable Leuc

G1, N=(14) with mean(sd)= 125.11 (26.84):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 131.41 (23.25)
 wilcoxon= 73 , p-value= 0.26 , e-size= 0.25

Test of different means for Normal variable InfLeuc

G1, N=(14) with mean(sd)= 12.17 (1.33):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 12.06 (1.24)
 t= -0.19 , p-value= 0.854 , e-size= -0.08

Test of different means for Normal variable InfFenil

G1, N=(14) with mean(sd)= 11.98 (0.77):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 12.56 (0.89)
 t= 1.54 , p-value= 0.148 , e-size= 0.71

Test of different means for Normal variable InfTrip

G1, N=(14) with mean(sd)= 10.53 (1.23):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 10.42 (0.83)
 t= -0.26 , p-value= 0.798 , e-size= -0.1

Test of different means for Normal variable InfTiros

G1, N=(14) with mean(sd)= 4.9 (0.99):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 4.81 (0.47)
 t= -0.29 , p-value= 0.778 , e-size= -0.11

Test of different means for Normal variable InfIsol

G1, N=(14) with mean(sd)= 3.38 (0.39):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 3.33 (0.51)
 t= -0.23 , p-value= 0.824 , e-size= -0.11

Test of different means for Normal variable InfHist

G1, N=(14) with mean(sd)= 2.99 (0.46):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 2.9 (0.52)
 t= -0.39 , p-value= 0.702 , e-size= -0.18

Test of different means for Normal variable InfValin

G1, N=(14) with mean(sd)= 2.37 (0.22):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 2.3 (0.23)
 t= -0.74 , p-value= 0.469 , e-size= -0.33

Test of different means for Normal variable InfGlut

G1, N=(14) with mean(sd)= 1.21 (0.16):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 1.19 (0.15)
 t= -0.28 , p-value= 0.783 , e-size= -0.12

Test of different means for Normal variable InfMetion

G1, N=(14) with mean(sd)= 0.71 (0.07):
 G2, N=(8) with mean(sd)= 0.66 (0.06)
 t= -1.54 , p-value= 0.142 , e-size= -0.65

*****Experiment G1: NAO SEGAWA x G2: SEGAWA LDOPA

Categorical variable EDM_ATUAL with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	19	9
S	2	0

Fisher P= 1

Categorical variable EDM_RECOR with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	17	7
S	4	2

Fisher P= 1

Categorical variable EDM_PASS with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	16	4
S	5	5

Fisher P= 0.1154674

Test of different means for NON Normal variable Dpsic20

G1, N=(21) with mean(sd)= 14 (2.93):
 G2, N=(9) with mean(sd)= 13.67 (2)
 wilcoxon= 79 , p-value= 0.489 , e-size= -0.12

Test of different means for Normal variable geral20

G1, N=(21) with mean(sd)= 15.43 (2.91):

G2, N=(9) with mean(sd)= 15.33 (2.24)
t= -0.1 , p-value= 0.923 , e-size= -0.03

Test of different means for Normal variable score_bruto

G1, N=(21) with mean(sd)= 13.52 (10.52):

G2, N=(9) with mean(sd)= 11 (7.3)

t= -0.75 , p-value= 0.459 , e-size= -0.26

Test of different means for NON Normal variable categ

G1, N=(21) with mean(sd)= 1.81 (1.12):

G2, N=(9) with mean(sd)= 1.44 (0.88)

wilcoxon= 76 , p-value= 0.344 , e-size= -0.34

Categorical variable sono with levels , 0 1:

Contingency table:

	G1	G2
0	7	4
1	14	5

Fisher P= 0.6870949

Test of different means for Normal variable Serotonina

G1, N=(14) with mean(sd)= 62.22 (43.44):

G2, N=(9) with mean(sd)= 74.88 (41.36)

t= 0.7 , p-value= 0.492 , e-size= 0.3

Test of different means for NON Normal variable MelNoturna

G1, N=(12) with mean(sd)= 157.41 (22.74):

G2, N=(8) with mean(sd)= 132.06 (49.27)

wilcoxon= 32 , p-value= 0.232 , e-size= -0.71

Test of different means for NON Normal variable MelDiurna

G1, N=(14) with mean(sd)= 162.1 (19.25):

G2, N=(9) with mean(sd)= 150.2 (40.44)

wilcoxon= 54 , p-value= 0.592 , e-size= -0.41

Test of different means for NON Normal variable AcAsp

G1, N=(14) with mean(sd)= 3.89 (1.26):

G2, N=(9) with mean(sd)= 4.06 (1.71)

wilcoxon= 59 , p-value= 0.825 , e-size= 0.12

Test of different means for NON Normal variable AcGlut

G1, N=(14) with mean(sd)= 90.04 (46.79):

G2, N=(9) with mean(sd)= 79.67 (28.1)

wilcoxon= 55 , p-value= 0.637 , e-size= -0.25

Test of different means for Normal variable Aspar

G1, N=(14) with mean(sd)= 43.73 (7.83):

G2, N=(9) with mean(sd)= 38.64 (10.73)

t= -1.23 , p-value= 0.241 , e-size= -0.56

Test of different means for Normal variable Hist

G1, N=(14) with mean(sd)= 101.84 (20.25):

G2, N=(9) with mean(sd)= 84.14 (20.97)

t= -2 , p-value= 0.062 , e-size= -0.86

Test of different means for NON Normal variable Serin

G1, N=(14) with mean(sd)= 94.74 (23.81):

G2, N=(9) with mean(sd)= 87.44 (21.76)

wilcoxon= 55 , p-value= 0.637 , e-size= -0.32

Test of different means for Normal variable Glutam

G1, N=(14) with mean(sd)= 508.13 (53.47):

G2, N=(9) with mean(sd)= 473.43 (113.32)

t= -0.86 , p-value= 0.41 , e-size= -0.43

Test of different means for Normal variable Argin

G1, N=(14) with mean(sd)= 102.28 (25.76):

G2, N=(9) with mean(sd)= 88.84 (29.32)

t= -1.12 , p-value= 0.278 , e-size= -0.49

Test of different means for Normal variable Tiros

G1, N=(14) with mean(sd)= 68.12 (17.83):

G2, N=(9) with mean(sd)= 61.06 (11.86)

t= -1.14 , p-value= 0.267 , e-size= -0.45

Test of different means for Normal variable Alanin

G1, N=(14) with mean(sd)= 395.47 (74.06):

G2, N=(9) with mean(sd)= 374.14 (94.42)

t= -0.57 , p-value= 0.575 , e-size= -0.26

Test of different means for Normal variable Trip

G1, N=(14) with mean(sd)= 59.39 (8.6):

G2, N=(9) with mean(sd)= 54.62 (9.37)

t= -1.23 , p-value= 0.236 , e-size= -0.54

Test of different means for Normal variable Metion

G1, N=(14) with mean(sd)= 23.43 (3.74):

G2, N=(9) with mean(sd)= 21.98 (3.05)

t= -1.02 , p-value= 0.321 , e-size= -0.42

Test of different means for Normal variable Valin

G1, N=(14) with mean(sd)= 211.24 (34.83):

G2, N=(9) with mean(sd)= 207.57 (28.44)

t= -0.28 , p-value= 0.785 , e-size= -0.11

Test of different means for Normal variable Fenil

G1, N=(14) with mean(sd)= 66.95 (11.07):

G2, N=(9) with mean(sd)= 68.72 (8.34)

t= 0.44 , p-value= 0.667 , e-size= 0.18

Test of different means for Normal variable Isol

G1, N=(14) with mean(sd)= 66.04 (15.32):

G2, N=(9) with mean(sd)= 64.56 (11.24)

t= -0.27 , p-value= 0.791 , e-size= -0.11

Test of different means for Normal variable Leuc

G1, N=(14) with mean(sd)= 125.11 (26.84):

G2, N=(9) with mean(sd)= 117.04 (16.68)

t= -0.89 , p-value= 0.384 , e-size= -0.34

Test of different means for Normal variable InfLeuc

G1, N=(14) with mean(sd)= 12.17 (1.33):

G2, N=(9) with mean(sd)= 11.92 (0.83)

t= -0.55 , p-value= 0.59 , e-size= -0.21

***** Test of different means for NON Normal variable InfFenil

G1, N=(14) with mean(sd)= 11.98 (0.77):

G2, N=(9) with mean(sd)= 12.84 (0.7)

wilcoxon= 98 , p-value= 0.03 , e-size= 1.16

Test of different means for Normal variable InfTrip

G1, N=(14) with mean(sd)= 10.53 (1.23):

G2, N=(9) with mean(sd)= 10.02 (1.17)

t= -1 , p-value= 0.33 , e-size= -0.42

Test of different means for Normal variable InfTiros

G1, N=(14) with mean(sd)= 4.9 (0.99):

G2, N=(9) with mean(sd)= 4.59 (0.72)

t= -0.86 , p-value= 0.398 , e-size= -0.34

Test of different means for Normal variable InfIsol

G1, N=(14) with mean(sd)= 3.38 (0.39):

G2, N=(9) with mean(sd)= 3.46 (0.34)

t= 0.53 , p-value= 0.602 , e-size= 0.22

***** Test of different means for Normal variable InfHist

G1, N=(14) with mean(sd)= 2.99 (0.46):

G2, N=(9) with mean(sd)= 2.56 (0.46)

t= -2.17 , p-value= 0.044 , e-size= -0.93

Test of different means for Normal variable InfValin

G1, N=(14) with mean(sd)= 2.37 (0.22):

G2, N=(9) with mean(sd)= 2.43 (0.15)

t= 0.69 , p-value= 0.496 , e-size= 0.27

Test of different means for Normal variable InfGlut

G1, N=(14) with mean(sd)= 1.21 (0.16):

G2, N=(9) with mean(sd)= 1.17 (0.32)

t= -0.29 , p-value= 0.776 , e-size= -0.14

Test of different means for Normal variable InfMetion

G1, N=(14) with mean(sd)= 0.71 (0.07):

G2, N=(9) with mean(sd)= 0.69 (0.06)

t= -0.63 , p-value= 0.539 , e-size= -0.26

*****Experiment G1: NAO SEGAWA PSICOF x G2: NAO SEGAWA NAO PSICOF

Categorical variable EDM_ATUAL with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	7	12
S	2	0

Fisher P= 0.1714286

***** Categorical variable EDM_RECOR with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	5	12
S	4	0

Fisher P= 0.02105263

***** Categorical variable EDM_PASS with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	4	12
S	5	0

Fisher P= 0.00619195

***** Test of different means for Normal variable Dpsic20

G1, N=(9) with mean(sd)= 12.44 (3.13):
 G2, N=(12) with mean(sd)= 15.17 (2.25)
 t= 2.22 , p-value= 0.044 , e-size= 1.03

Test of different means for Normal variable geral20

G1, N=(9) with mean(sd)= 14.67 (2.45):
 G2, N=(12) with mean(sd)= 16 (3.19)
 t= 1.08 , p-value= 0.292 , e-size= 0.46

***** Test of different means for Normal variable score_bruto

G1, N=(9) with mean(sd)= 22 (9.3):
 G2, N=(12) with mean(sd)= 7.17 (5.95)
 t= -4.18 , p-value= 0.001 , e-size= -1.97

***** Test of different means for NON Normal variable categ

G1, N=(9) with mean(sd)= 2.56 (1.24):
 G2, N=(12) with mean(sd)= 1.25 (0.62)
 wilcoxon= 19 , p-value= 0.006 , e-size= -1.4

Categorical variable sono with levels , 0 1:

Contingency table:

	G1	G2
0	1	6
1	8	6

Fisher P= 0.1588235

***** Test of different means for NON Normal variable Serotonina

G1, N=(8) with mean(sd)= 32.36 (28.54):
 G2, N=(6) with mean(sd)= 102.03 (20.91)
 wilcoxon= 45 , p-value= 0.007 , e-size= 2.72

Test of different means for Normal variable MelNoturna

G1, N=(6) with mean(sd)= 158.14 (18.96):
 G2, N=(6) with mean(sd)= 156.68 (27.88)
 t= -0.11 , p-value= 0.918 , e-size= -0.06

Test of different means for Normal variable MelDiurna

G1, N=(8) with mean(sd)= 162.08 (21.91):
 G2, N=(6) with mean(sd)= 162.12 (17.06)
 t= 0 , p-value= 0.997 , e-size= 0

Test of different means for Normal variable AcAsp

G1, N=(8) with mean(sd)= 3.41 (0.62):
 G2, N=(6) with mean(sd)= 4.52 (1.67)
 t= 1.54 , p-value= 0.174 , e-size= 0.94

Test of different means for Normal variable AcGlut

G1, N=(8) with mean(sd)= 83.17 (23.32):
 G2, N=(6) with mean(sd)= 99.2 (68.95)
 t= 0.55 , p-value= 0.605 , e-size= 0.33

Test of different means for Normal variable Aspar

G1, N=(8) with mean(sd)= 43.71 (9.58):
 G2, N=(6) with mean(sd)= 43.75 (5.53)
 t= 0.01 , p-value= 0.993 , e-size= 0

Test of different means for Normal variable Hist

G1, N=(8) with mean(sd)= 99.11 (15.59):
 G2, N=(6) with mean(sd)= 105.47 (26.42)
 t= 0.52 , p-value= 0.615 , e-size= 0.31

Test of different means for Normal variable Serin

G1, N=(8) with mean(sd)= 102.19 (26.3):

G2, N=(6) with mean(sd)= 84.82 (17.27)

t= -1.49 , p-value= 0.163 , e-size= -0.76

Test of different means for Normal variable Glutam

G1, N=(8) with mean(sd)= 507.62 (46.82):

G2, N=(6) with mean(sd)= 508.8 (66.05)

t= 0.04 , p-value= 0.971 , e-size= 0.02

Test of different means for Normal variable Argin

G1, N=(8) with mean(sd)= 105.59 (28.27):

G2, N=(6) with mean(sd)= 97.87 (23.79)

t= -0.55 , p-value= 0.59 , e-size= -0.29

Test of different means for Normal variable Tiros

G1, N=(8) with mean(sd)= 71.22 (20.68):

G2, N=(6) with mean(sd)= 63.98 (13.84)

t= -0.78 , p-value= 0.448 , e-size= -0.4

Test of different means for Normal variable Alanin

G1, N=(8) with mean(sd)= 413.36 (62.41):

G2, N=(6) with mean(sd)= 371.62 (87.25)

t= -1 , p-value= 0.346 , e-size= -0.57

Test of different means for Normal variable Trip

G1, N=(8) with mean(sd)= 59.99 (7.52):

G2, N=(6) with mean(sd)= 58.6 (10.57)

t= -0.27 , p-value= 0.791 , e-size= -0.16

Test of different means for Normal variable Metion

G1, N=(8) with mean(sd)= 23.98 (4.42):

G2, N=(6) with mean(sd)= 22.7 (2.82)

t= -0.66 , p-value= 0.524 , e-size= -0.33

Test of different means for NON Normal variable Valin

G1, N=(8) with mean(sd)= 202.4 (36.78):

G2, N=(6) with mean(sd)= 223.03 (31.1)

wilcoxon= 35 , p-value= 0.175 , e-size= 0.6

Test of different means for Normal variable Fenil

G1, N=(8) with mean(sd)= 66.66 (11.85):

G2, N=(6) with mean(sd)= 67.33 (11.03)

t= 0.11 , p-value= 0.915 , e-size= 0.06

Test of different means for Normal variable Isol

G1, N=(8) with mean(sd)= 63.84 (15.22):

G2, N=(6) with mean(sd)= 68.98 (16.36)

t= 0.6 , p-value= 0.561 , e-size= 0.33

Test of different means for Normal variable Leuc

G1, N=(8) with mean(sd)= 118.78 (25.58):

G2, N=(6) with mean(sd)= 133.55 (28.42)

t= 1 , p-value= 0.338 , e-size= 0.55

Test of different means for Normal variable InfLeuc

G1, N=(8) with mean(sd)= 11.7 (1.19):

G2, N=(6) with mean(sd)= 12.8 (1.34)

t= 1.59 , p-value= 0.142 , e-size= 0.88

Test of different means for Normal variable InfFenil

G1, N=(8) with mean(sd)= 12.07 (0.91):

G2, N=(6) with mean(sd)= 11.87 (0.6)

t= -0.5 , p-value= 0.626 , e-size= -0.25

Test of different means for Normal variable InfTrip

G1, N=(8) with mean(sd)= 10.78 (1.11):

G2, N=(6) with mean(sd)= 10.21 (1.41)

t= -0.81 , p-value= 0.437 , e-size= -0.45

Test of different means for Normal variable InfTiros

G1, N=(8) with mean(sd)= 5.17 (1.17):

G2, N=(6) with mean(sd)= 4.52 (0.56)

t= -1.38 , p-value= 0.198 , e-size= -0.67

Test of different means for Normal variable InfIsol

G1, N=(8) with mean(sd)= 3.3 (0.38):

G2, N=(6) with mean(sd)= 3.47 (0.4)

t= 0.8 , p-value= 0.44 , e-size= 0.44

Test of different means for Normal variable InfHist

G1, N=(8) with mean(sd)= 2.96 (0.4):

G2, N=(6) with mean(sd)= 3.03 (0.57)

t= 0.26 , p-value= 0.803 , e-size= 0.15

Test of different means for Normal variable InfValin

G1, N=(8) with mean(sd)= 2.3 (0.24):

G2, N=(6) with mean(sd)= 2.47 (0.16)

t= 1.62 , p-value= 0.132 , e-size= 0.83

Test of different means for Normal variable InfGlut

G1, N=(8) with mean(sd)= 1.22 (0.16):

G2, N=(6) with mean(sd)= 1.19 (0.18)

t= -0.35 , p-value= 0.731 , e-size= -0.19

Test of different means for Normal variable InfMetion

G1, N=(8) with mean(sd)= 0.73 (0.08):

G2, N=(6) with mean(sd)= 0.68 (0.06)

t= -1.46 , p-value= 0.169 , e-size= -0.76

*****Experiment G1: SEGAWA PSICOF x G2: SEGAWA NAO PSICOF

Categorical variable EDM_ATUAL with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	7	7
S	2	1

Fisher P= 1

Categorical variable EDM_RECOR with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	5	6
S	4	2

Fisher P= 0.6199095

Categorical variable EDM_PASS with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	2	5
S	7	3

Fisher P= 0.1534348

Test of different means for Normal variable Dpsic20

G1, N=(9) with mean(sd)= 13.67 (2.87):

G2, N=(8) with mean(sd)= 12.62 (2.07)

t= -0.87 , p-value= 0.401 , e-size= -0.41

Test of different means for Normal variable geral20

G1, N=(9) with mean(sd)= 14.22 (2.11):

G2, N=(8) with mean(sd)= 15.5 (3.16)

t= 0.97 , p-value= 0.352 , e-size= 0.48

Test of different means for Normal variable score_bruto

G1, N=(9) with mean(sd)= 11.78 (7.41):

G2, N=(8) with mean(sd)= 14.88 (8.29)

t= 0.81 , p-value= 0.432 , e-size= 0.4

Test of different means for NON Normal variable categ

G1, N=(9) with mean(sd)= 1.67 (0.87):

G2, N=(8) with mean(sd)= 1.75 (1.04)

wilcoxon= 36.5 , p-value= 1 , e-size= 0.09

Categorical variable sono with levels , 0 1:

Contingency table:

	G1	G2
0	4	3
1	5	5

Fisher P= 1

Test of different means for Normal variable Serotonina

G1, N=(9) with mean(sd)= 59.34 (43.34):

G2, N=(8) with mean(sd)= 72.15 (35.12)

t= 0.67 , p-value= 0.512 , e-size= 0.32

Test of different means for NON Normal variable MelNoturna

G1, N=(8) with mean(sd)= 153.4 (24.96):

G2, N=(8) with mean(sd)= 144.46 (53.12)

wilcoxon= 35 , p-value= 0.793 , e-size= -0.22

Test of different means for NON Normal variable MelDiurna

G1, N=(9) with mean(sd)= 166.83 (16.79):

G2, N=(8) with mean(sd)= 154.3 (45.95)

wilcoxon= 32 , p-value= 0.736 , e-size= -0.37

Test of different means for NON Normal variable AcAsp

G1, N=(9) with mean(sd)= 3.99 (1.5):

G2, N=(8) with mean(sd)= 3.84 (1.57)

wilcoxon= 30 , p-value= 0.594 , e-size= -0.1

***** Test of different means for Normal variable AcGlut

G1, N=(9) with mean(sd)= 90.71 (30.18):

G2, N=(8) with mean(sd)= 59.84 (24.89)

t= -2.31 , p-value= 0.036 , e-size= -1.11

Test of different means for Normal variable Aspar

G1, N=(9) with mean(sd)= 37.76 (7.66):

G2, N=(8) with mean(sd)= 41.77 (8.68)

t= 1.01 , p-value= 0.331 , e-size= 0.49

Test of different means for Normal variable Hist

G1, N=(9) with mean(sd)= 94.41 (21.08):

G2, N=(8) with mean(sd)= 92.59 (21.21)

t= -0.18 , p-value= 0.862 , e-size= -0.09

Test of different means for NON Normal variable Serin

G1, N=(9) with mean(sd)= 82.97 (20.82):

G2, N=(8) with mean(sd)= 90.39 (22.93)

wilcoxon= 47 , p-value= 0.312 , e-size= 0.34

Test of different means for Normal variable Glutam

G1, N=(9) with mean(sd)= 493.01 (101.24):

G2, N=(8) with mean(sd)= 512.42 (99.77)

t= 0.4 , p-value= 0.697 , e-size= 0.19

Test of different means for Normal variable Argin

G1, N=(9) with mean(sd)= 80.83 (18.27):

G2, N=(8) with mean(sd)= 97.31 (25.05)

t= 1.53 , p-value= 0.15 , e-size= 0.76

Test of different means for Normal variable Tiros

G1, N=(9) with mean(sd)= 70.53 (7.77):

G2, N=(8) with mean(sd)= 59.9 (11.97)

t= -2.14 , p-value= 0.054 , e-size= -1.07

Test of different means for Normal variable Alanin

G1, N=(9) with mean(sd)= 417.62 (114.5):

G2, N=(8) with mean(sd)= 377.32 (65.22)

t= -0.9 , p-value= 0.383 , e-size= -0.43

Test of different means for Normal variable Trip

G1, N=(9) with mean(sd)= 61.43 (6.87):

G2, N=(8) with mean(sd)= 54.79 (8.81)

t= -1.72 , p-value= 0.109 , e-size= -0.85

Test of different means for Normal variable Metion

G1, N=(9) with mean(sd)= 22.98 (3.28):

G2, N=(8) with mean(sd)= 22.24 (2.7)

t= -0.51 , p-value= 0.618 , e-size= -0.24

Test of different means for Normal variable Valin

G1, N=(9) with mean(sd)= 221.9 (38.9):

G2, N=(8) with mean(sd)= 201.95 (17.47)

t= -1.39 , p-value= 0.191 , e-size= -0.65

Test of different means for Normal variable Fenil

G1, N=(9) with mean(sd)= 71.8 (7.56):

G2, N=(8) with mean(sd)= 70.64 (7.92)

t= -0.31 , p-value= 0.762 , e-size= -0.15

Test of different means for Normal variable Isol

G1, N=(9) with mean(sd)= 70.86 (16.42):

G2, N=(8) with mean(sd)= 61.98 (6.71)

t= -1.49 , p-value= 0.165 , e-size= -0.69

Test of different means for Normal variable Leuc

G1, N=(9) with mean(sd)= 128.68 (27.14):

G2, N=(8) with mean(sd)= 118.33 (8.76)

t= -1.08 , p-value= 0.305 , e-size= -0.5

Test of different means for Normal variable InfLeuc

G1, N=(9) with mean(sd)= 12.05 (1.34):

G2, N=(8) with mean(sd)= 11.92 (0.53)

t= -0.26 , p-value= 0.801 , e-size= -0.12

Test of different means for Normal variable InfFenil

G1, N=(9) with mean(sd)= 12.45 (0.87):

G2, N=(8) with mean(sd)= 13 (0.6)

t= 1.53 , p-value= 0.147 , e-size= 0.73

Test of different means for Normal variable InfTrip

G1, N=(9) with mean(sd)= 10.48 (0.86):

G2, N=(8) with mean(sd)= 9.91 (1.15)

t= -1.15 , p-value= 0.271 , e-size= -0.57

Test of different means for Normal variable InfTiros

G1, N=(9) with mean(sd)= 4.93 (0.48):

G2, N=(8) with mean(sd)= 4.42 (0.65)

t= -1.81 , p-value= 0.093 , e-size= -0.9

Test of different means for Normal variable InfIsol

G1, N=(9) with mean(sd)= 3.49 (0.47):

G2, N=(8) with mean(sd)= 3.29 (0.36)

t= -0.97 , p-value= 0.35 , e-size= -0.46

Test of different means for Normal variable InfHist

G1, N=(9) with mean(sd)= 2.65 (0.39):

G2, N=(8) with mean(sd)= 2.8 (0.63)

t= 0.57 , p-value= 0.581 , e-size= 0.28

Test of different means for Normal variable InfValin

G1, N=(9) with mean(sd)= 2.39 (0.21):

G2, N=(8) with mean(sd)= 2.34 (0.19)

t= -0.58 , p-value= 0.572 , e-size= -0.28

Test of different means for Normal variable InfGlut

G1, N=(9) with mean(sd)= 1.13 (0.22):

G2, N=(8) with mean(sd)= 1.24 (0.27)

t= 0.99 , p-value= 0.341 , e-size= 0.48

Test of different means for Normal variable InfMetion

G1, N=(9) with mean(sd)= 0.67 (0.06):

G2, N=(8) with mean(sd)= 0.69 (0.06)

t= 0.7 , p-value= 0.493 , e-size= 0.34

*****Experiment G1: SEGAWA LDOPA PSICOF x G2: SEGAWA LDOPA NAO PSICOF

Categorical variable EDM_ATUAL with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	5	4
S	0	0

Fisher P= 1

Categorical variable EDM_RECOR with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	3	4
S	2	0

Fisher P= 0.4444444

Categorical variable EDM_PASS with levels , N S:
Contingency table:

	G1	G2
N	1	3
S	4	1

Fisher P= 0.2063492

Test of different means for Normal variable Dpsic20

G1, N=(5) with mean(sd)= 13.8 (2.39):

G2, N=(4) with mean(sd)= 13.5 (1.73)

t= -0.22 , p-value= 0.834 , e-size= -0.14

Test of different means for Normal variable geral20

G1, N=(5) with mean(sd)= 15.2 (1.1):

G2, N=(4) with mean(sd)= 15.5 (3.42)

t= 0.17 , p-value= 0.875 , e-size= 0.13

Test of different means for NON Normal variable score_bruto

G1, N=(5) with mean(sd)= 10.6 (7.57):

G2, N=(4) with mean(sd)= 11.5 (8.06)

wilcoxon= 11.5 , p-value= 0.804 , e-size= 0.12

Test of different means for NON Normal variable categ

G1, N=(5) with mean(sd)= 1.4 (0.89):

G2, N=(4) with mean(sd)= 1.5 (1)

wilcoxon= 10.5 , p-value= 1 , e-size= 0.11

Categorical variable sono with levels , 0 1:

Contingency table:

	G1	G2
0	2	2
1	3	2

Fisher P= 1

Test of different means for Normal variable Serotonina

G1, N=(5) with mean(sd)= 64.78 (55.47):

G2, N=(4) with mean(sd)= 87.5 (8.68)

t= 0.9 , p-value= 0.415 , e-size= 0.54

Test of different means for Normal variable MelNoturna

G1, N=(4) with mean(sd)= 146.26 (21.55):

G2, N=(4) with mean(sd)= 117.86 (68.28)

t= -0.79 , p-value= 0.477 , e-size= -0.56

Test of different means for Normal variable MelDiurna

G1, N=(5) with mean(sd)= 162.96 (12.88):

G2, N=(4) with mean(sd)= 134.24 (59.4)

t= -0.95 , p-value= 0.408 , e-size= -0.72

Test of different means for NON Normal variable AcAsp

G1, N=(5) with mean(sd)= 3.82 (1.88):

G2, N=(4) with mean(sd)= 4.35 (1.71)

wilcoxon= 12.5 , p-value= 0.621 , e-size= 0.29

Test of different means for NON Normal variable AcGlut

G1, N=(5) with mean(sd)= 85.22 (32.23):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 72.72 (24.58)
 wilcoxon= 6 , p-value= 0.391 , e-size= -0.43

Test of different means for Normal variable Aspar

G1, N=(5) with mean(sd)= 35.9 (9.31):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 42.08 (12.78)
 t= 0.81 , p-value= 0.453 , e-size= 0.56

Test of different means for Normal variable Hist

G1, N=(5) with mean(sd)= 86.32 (24.94):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 81.42 (18.04)
 t= -0.34 , p-value= 0.743 , e-size= -0.22

Test of different means for Normal variable Serin

G1, N=(5) with mean(sd)= 89.88 (25.68):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 84.4 (19)
 t= -0.37 , p-value= 0.724 , e-size= -0.24

Test of different means for Normal variable Glutam

G1, N=(5) with mean(sd)= 459 (99.28):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 491.48 (142.56)
 t= 0.39 , p-value= 0.714 , e-size= 0.27

Test of different means for Normal variable Argin

G1, N=(5) with mean(sd)= 81.48 (23.52):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 98.05 (36.76)
 t= 0.78 , p-value= 0.47 , e-size= 0.55

***** Test of different means for Normal variable Tiros

G1, N=(5) with mean(sd)= 68.22 (9.24):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 52.1 (8.29)
 t= -2.75 , p-value= 0.029 , e-size= -1.82

Test of different means for Normal variable Alanin

G1, N=(5) with mean(sd)= 368.38 (110.1):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 381.35 (86.52)
 t= 0.2 , p-value= 0.849 , e-size= 0.13

Test of different means for Normal variable Trip

G1, N=(5) with mean(sd)= 59.34 (8.68):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 48.73 (7.09)
 t= -2.02 , p-value= 0.083 , e-size= -1.32

Test of different means for Normal variable Metion

G1, N=(5) with mean(sd)= 22.84 (3.52):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 20.9 (2.34)
 t= -0.99 , p-value= 0.356 , e-size= -0.63

Test of different means for Normal variable Valin

G1, N=(5) with mean(sd)= 213.58 (34.81):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 200.05 (20.11)
 t= -0.73 , p-value= 0.491 , e-size= -0.46

Test of different means for Normal variable Fenil

G1, N=(5) with mean(sd)= 71.24 (10.15):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 65.58 (4.93)
 t= -1.1 , p-value= 0.315 , e-size= -0.68

Test of different means for Normal variable Isol

G1, N=(5) with mean(sd)= 65.74 (15.14):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 63.08 (5.11)
 t= -0.37 , p-value= 0.728 , e-size= -0.22

Test of different means for Normal variable Leuc

G1, N=(5) with mean(sd)= 119.06 (22.18):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 114.53 (8.41)
 t= -0.42 , p-value= 0.69 , e-size= -0.26

Test of different means for Normal variable InfLeuc

G1, N=(5) with mean(sd)= 11.63 (1.04):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 12.29 (0.29)
 t= 1.36 , p-value= 0.236 , e-size= 0.82

Test of different means for Normal variable InfFenil

G1, N=(5) with mean(sd)= 12.8 (0.81):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 12.9 (0.64)
 t= 0.21 , p-value= 0.843 , e-size= 0.13

Test of different means for Normal variable InfTrip

G1, N=(5) with mean(sd)= 10.51 (1.08):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 9.42 (1.12)
 t= -1.48 , p-value= 0.187 , e-size= -0.99

Test of different means for Normal variable InfTiros

G1, N=(5) with mean(sd)= 4.96 (0.6):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 4.13 (0.62)
 t= -2.03 , p-value= 0.085 , e-size= -1.37

Test of different means for Normal variable Infsol

G1, N=(5) with mean(sd)= 3.37 (0.45):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 3.56 (0.13)
 t= 0.91 , p-value= 0.405 , e-size= 0.55

Test of different means for Normal variable InfHist

G1, N=(5) with mean(sd)= 2.5 (0.41):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 2.63 (0.58)
 t= 0.36 , p-value= 0.734 , e-size= 0.25

Test of different means for Normal variable InfValin

G1, N=(5) with mean(sd)= 2.4 (0.15):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 2.46 (0.15)
 t= 0.62 , p-value= 0.555 , e-size= 0.42

Test of different means for Normal variable InfGlut

G1, N=(5) with mean(sd)= 1.09 (0.25):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 1.28 (0.4)
 t= 0.8 , p-value= 0.46 , e-size= 0.57

Test of different means for Normal variable InfMetion

G1, N=(5) with mean(sd)= 0.69 (0.06):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 0.69 (0.07)
 t= 0.03 , p-value= 0.979 , e-size= 0.02

*****Experiment G1: SEGAWA LDOPA PSICOF x G2: SEGAWA NAO LDOPA NAO PSICOF

Categorical variable EDM_ATUAL with levels , N S:
 Contingency table:

	G1	G2
N	5	3
S	0	1

Fisher P= 0.4444444

Categorical variable EDM_RECOR with levels , N S:
Contingency table:

	G1	G2
N	3	2
S	2	2

Fisher P= 1

Categorical variable EDM_PASS with levels , N S:
Contingency table:

	G1	G2
N	1	2
S	4	2

Fisher P= 0.5238095

Test of different means for Normal variable Dpsic20

G1, N=(5) with mean(sd)= 13.8 (2.39):

G2, N=(4) with mean(sd)= 11.75 (2.22)

t= -1.33 , p-value= 0.226 , e-size= -0.89

Test of different means for Normal variable geral20

G1, N=(5) with mean(sd)= 15.2 (1.1):

G2, N=(4) with mean(sd)= 15.5 (3.42)

t= 0.17 , p-value= 0.875 , e-size= 0.13

Test of different means for Normal variable score_bruto

G1, N=(5) with mean(sd)= 10.6 (7.57):

G2, N=(4) with mean(sd)= 18.25 (8.06)

t= 1.45 , p-value= 0.194 , e-size= 0.98

Test of different means for Normal variable categ

G1, N=(5) with mean(sd)= 1.4 (0.89):

G2, N=(4) with mean(sd)= 2 (1.15)

t= 0.85 , p-value= 0.428 , e-size= 0.59

Categorical variable sono with levels , 0 1:

Contingency table:

	G1	G2
0	2	1
1	3	3

Fisher P= 1

Test of different means for Normal variable Serotonina

G1, N=(5) with mean(sd)= 64.78 (55.47):

G2, N=(4) with mean(sd)= 56.8 (46.63)

t= -0.23 , p-value= 0.821 , e-size= -0.15

Test of different means for Normal variable MelNoturna

G1, N=(4) with mean(sd)= 146.26 (21.55):

G2, N=(4) with mean(sd)= 171.06 (5.9)

t= 2.22 , p-value= 0.101 , e-size= 1.57

Test of different means for Normal variable MelDiurna

G1, N=(5) with mean(sd)= 162.96 (12.88):

G2, N=(4) with mean(sd)= 174.36 (18.01)

t= 1.07 , p-value= 0.332 , e-size= 0.75

Test of different means for NON Normal variable AcAsp

G1, N=(5) with mean(sd)= 3.82 (1.88):

G2, N=(4) with mean(sd)= 3.33 (1.47)

wilcoxon= 6.5 , p-value= 0.459 , e-size= -0.29

Test of different means for Normal variable AcGlut

G1, N=(5) with mean(sd)= 85.22 (32.23):

G2, N=(4) with mean(sd)= 46.95 (19.96)

t= -2.18 , p-value= 0.067 , e-size= -1.38

Test of different means for Normal variable Aspar

G1, N=(5) with mean(sd)= 35.9 (9.31):

G2, N=(4) with mean(sd)= 41.48 (3.48)

t= 1.24 , p-value= 0.269 , e-size= 0.75

Test of different means for Normal variable Hist

G1, N=(5) with mean(sd)= 86.32 (24.94):

G2, N=(4) with mean(sd)= 103.75 (19.81)

t= 1.17 , p-value= 0.281 , e-size= 0.76

Test of different means for Normal variable Serin

G1, N=(5) with mean(sd)= 89.88 (25.68):

G2, N=(4) with mean(sd)= 96.38 (27.76)

t= 0.36 , p-value= 0.73 , e-size= 0.24

Test of different means for Normal variable Glutam

G1, N=(5) with mean(sd)= 459 (99.28):

G2, N=(4) with mean(sd)= 533.38 (41.62)

t= 1.52 , p-value= 0.184 , e-size= 0.93

Test of different means for Normal variable Argin

G1, N=(5) with mean(sd)= 81.48 (23.52):

G2, N=(4) with mean(sd)= 96.58 (10.58)

t= 1.28 , p-value= 0.249 , e-size= 0.79

Test of different means for Normal variable Tiros

G1, N=(5) with mean(sd)= 68.22 (9.24):

G2, N=(4) with mean(sd)= 67.7 (10.15)

t= -0.08 , p-value= 0.939 , e-size= -0.05

Test of different means for Normal variable Alanin

G1, N=(5) with mean(sd)= 368.38 (110.1):

G2, N=(4) with mean(sd)= 373.3 (48.96)

t= 0.09 , p-value= 0.932 , e-size= 0.06

Test of different means for Normal variable Trip

G1, N=(5) with mean(sd)= 59.34 (8.68):

G2, N=(4) with mean(sd)= 60.85 (5.74)

t= 0.31 , p-value= 0.764 , e-size= 0.2

Test of different means for Normal variable Metion

G1, N=(5) with mean(sd)= 22.84 (3.52):

G2, N=(4) with mean(sd)= 23.58 (2.6)

t= 0.36 , p-value= 0.73 , e-size= 0.23

Test of different means for Normal variable Valin

G1, N=(5) with mean(sd)= 213.58 (34.81):

G2, N=(4) with mean(sd)= 203.85 (17.27)

t= -0.55 , p-value= 0.604 , e-size= -0.34

Test of different means for Normal variable Fenil

G1, N=(5) with mean(sd)= 71.24 (10.15):

G2, N=(4) with mean(sd)= 75.7 (7.32)

t= 0.77 , p-value= 0.469 , e-size= 0.49

Test of different means for Normal variable Isol

G1, N=(5) with mean(sd)= 65.74 (15.14):

G2, N=(4) with mean(sd)= 60.88 (8.7)

t= -0.6 , p-value= 0.566 , e-size= -0.38

Test of different means for Normal variable Leuc

G1, N=(5) with mean(sd)= 119.06 (22.18):

G2, N=(4) with mean(sd)= 122.12 (8.34)

t= 0.28 , p-value= 0.787 , e-size= 0.17

Test of different means for Normal variable InfLeuc

G1, N=(5) with mean(sd)= 11.63 (1.04):

G2, N=(4) with mean(sd)= 11.56 (0.46)

t= -0.14 , p-value= 0.893 , e-size= -0.09

Test of different means for Normal variable InfFenil

G1, N=(5) with mean(sd)= 12.8 (0.81):

G2, N=(4) with mean(sd)= 13.1 (0.64)

t= 0.62 , p-value= 0.552 , e-size= 0.41

Test of different means for Normal variable InfTrip

G1, N=(5) with mean(sd)= 10.51 (1.08):

G2, N=(4) with mean(sd)= 10.4 (1.08)

t= -0.15 , p-value= 0.885 , e-size= -0.1

Test of different means for Normal variable InfTiros

G1, N=(5) with mean(sd)= 4.96 (0.6):

G2, N=(4) with mean(sd)= 4.72 (0.61)

t= -0.59 , p-value= 0.576 , e-size= -0.4

Test of different means for Normal variable InfIsol

G1, N=(5) with mean(sd)= 3.37 (0.45):

G2, N=(4) with mean(sd)= 3.02 (0.29)

t= -1.41 , p-value= 0.203 , e-size= -0.9

Test of different means for Normal variable InfHist

G1, N=(5) with mean(sd)= 2.5 (0.41):

G2, N=(4) with mean(sd)= 2.97 (0.71)

t= 1.15 , p-value= 0.305 , e-size= 0.83

Test of different means for Normal variable InfValin

G1, N=(5) with mean(sd)= 2.4 (0.15):

G2, N=(4) with mean(sd)= 2.21 (0.14)

t= -1.92 , p-value= 0.098 , e-size= -1.27

Test of different means for Normal variable InfGlut

G1, N=(5) with mean(sd)= 1.09 (0.25):

G2, N=(4) with mean(sd)= 1.21 (0.06)

t= 1.04 , p-value= 0.35 , e-size= 0.62

Test of different means for Normal variable InfMetion

G1, N=(5) with mean(sd)= 0.69 (0.06):

G2, N=(4) with mean(sd)= 0.68 (0.06)

t= -0.08 , p-value= 0.935 , e-size= -0.06

*****Experiment G1: SEGAWA LDOPA PSICOF x G2: SEGAWA NAO LDOPA PSICOF

Categorical variable EDM_ATUAL with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	5	2
S	0	2

Fisher P= 0.1666667

Categorical variable EDM_RECOR with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	3	2
S	2	2

Fisher P= 1

Categorical variable EDM_PASS with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	1	1
S	4	3

Fisher P= 1

Test of different means for Normal variable Dpsic20

G1, N=(5) with mean(sd)= 13.8 (2.39):

G2, N=(4) with mean(sd)= 13.5 (3.79)

t= -0.14 , p-value= 0.896 , e-size= -0.1

Test of different means for Normal variable geral20

G1, N=(5) with mean(sd)= 15.2 (1.1):

G2, N=(4) with mean(sd)= 13 (2.58)

t= -1.59 , p-value= 0.189 , e-size= -1.17

Test of different means for Normal variable score_bruto

G1, N=(5) with mean(sd)= 10.6 (7.57):

G2, N=(4) with mean(sd)= 13.25 (8.06)

t= 0.5 , p-value= 0.632 , e-size= 0.34

Test of different means for Normal variable categ

G1, N=(5) with mean(sd)= 1.4 (0.89):

G2, N=(4) with mean(sd)= 2 (0.82)

t= 1.05 , p-value= 0.33 , e-size= 0.7

Categorical variable sono with levels , 0 1:

Contingency table:

	G1	G2
0	2	2
1	3	2

Fisher P= 1

Test of different means for Normal variable Serotonina

G1, N=(5) with mean(sd)= 64.78 (55.47):

G2, N=(4) with mean(sd)= 52.55 (28.19)

t= -0.43 , p-value= 0.683 , e-size= -0.27

Test of different means for Normal variable MelNoturna

G1, N=(4) with mean(sd)= 146.26 (21.55):

G2, N=(4) with mean(sd)= 160.53 (29.22)
t= 0.79 , p-value= 0.464 , e-size= 0.56

Test of different means for Normal variable MelDiurna

G1, N=(5) with mean(sd)= 162.96 (12.88):

G2, N=(4) with mean(sd)= 171.67 (21.78)

t= 0.71 , p-value= 0.514 , e-size= 0.5

Test of different means for NON Normal variable AcAsp

G1, N=(5) with mean(sd)= 3.82 (1.88):

G2, N=(4) with mean(sd)= 4.2 (1.1)

wilcoxon= 14.5 , p-value= 0.323 , e-size= 0.24

Test of different means for NON Normal variable AcGlut

G1, N=(5) with mean(sd)= 85.22 (32.23):

G2, N=(4) with mean(sd)= 97.58 (30.51)

wilcoxon= 14 , p-value= 0.391 , e-size= 0.39

Test of different means for Normal variable Aspar

G1, N=(5) with mean(sd)= 35.9 (9.31):

G2, N=(4) with mean(sd)= 40.08 (5.27)

t= 0.85 , p-value= 0.427 , e-size= 0.53

Test of different means for Normal variable Hist

G1, N=(5) with mean(sd)= 86.32 (24.94):

G2, N=(4) with mean(sd)= 104.53 (10.5)

t= 1.48 , p-value= 0.194 , e-size= 0.91

Test of different means for Normal variable Serin

G1, N=(5) with mean(sd)= 89.88 (25.68):

G2, N=(4) with mean(sd)= 74.32 (9.9)

t= -1.24 , p-value= 0.265 , e-size= -0.76

Test of different means for Normal variable Glutam

G1, N=(5) with mean(sd)= 459 (99.28):

G2, N=(4) with mean(sd)= 535.52 (99.27)

t= 1.15 , p-value= 0.291 , e-size= 0.77

Test of different means for Normal variable Argin

G1, N=(5) with mean(sd)= 81.48 (23.52):

G2, N=(4) with mean(sd)= 80.03 (12.27)

t= -0.12 , p-value= 0.909 , e-size= -0.07

Test of different means for Normal variable Tiros

G1, N=(5) with mean(sd)= 68.22 (9.24):

G2, N=(4) with mean(sd)= 73.42 (5.2)

t= 1.07 , p-value= 0.324 , e-size= 0.67

Test of different means for Normal variable Alanin

G1, N=(5) with mean(sd)= 368.38 (110.1):

G2, N=(4) with mean(sd)= 479.17 (98.5)

t= 1.59 , p-value= 0.157 , e-size= 1.05

Test of different means for Normal variable Trip

G1, N=(5) with mean(sd)= 59.34 (8.68):

G2, N=(4) with mean(sd)= 64.05 (3)

t= 1.13 , p-value= 0.308 , e-size= 0.69

Test of different means for Normal variable Metion

G1, N=(5) with mean(sd)= 22.84 (3.52):

G2, N=(4) with mean(sd)= 23.15 (3.48)
t= 0.13 , p-value= 0.899 , e-size= 0.09

Test of different means for Normal variable Valin

G1, N=(5) with mean(sd)= 213.58 (34.81):

G2, N=(4) with mean(sd)= 232.3 (46.47)

t= 0.67 , p-value= 0.531 , e-size= 0.47

Test of different means for Normal variable Fenil

G1, N=(5) with mean(sd)= 71.24 (10.15):

G2, N=(4) with mean(sd)= 72.5 (3.7)

t= 0.26 , p-value= 0.807 , e-size= 0.16

Test of different means for Normal variable Isol

G1, N=(5) with mean(sd)= 65.74 (15.14):

G2, N=(4) with mean(sd)= 77.25 (17.76)

t= 1.03 , p-value= 0.343 , e-size= 0.71

Test of different means for Normal variable Leuc

G1, N=(5) with mean(sd)= 119.06 (22.18):

G2, N=(4) with mean(sd)= 140.7 (31.01)

t= 1.18 , p-value= 0.29 , e-size= 0.82

Test of different means for Normal variable InfLeuc

G1, N=(5) with mean(sd)= 11.63 (1.04):

G2, N=(4) with mean(sd)= 12.57 (1.64)

t= 1 , p-value= 0.364 , e-size= 0.71

Test of different means for Normal variable InfFenil

G1, N=(5) with mean(sd)= 12.8 (0.81):

G2, N=(4) with mean(sd)= 12.02 (0.81)

t= -1.44 , p-value= 0.197 , e-size= -0.96

Test of different means for Normal variable InfTrip

G1, N=(5) with mean(sd)= 10.51 (1.08):

G2, N=(4) with mean(sd)= 10.44 (0.66)

t= -0.11 , p-value= 0.916 , e-size= -0.07

Test of different means for Normal variable InfTiros

G1, N=(5) with mean(sd)= 4.96 (0.6):

G2, N=(4) with mean(sd)= 4.89 (0.34)

t= -0.2 , p-value= 0.844 , e-size= -0.13

Test of different means for Normal variable InfIsol

G1, N=(5) with mean(sd)= 3.37 (0.45):

G2, N=(4) with mean(sd)= 3.63 (0.52)

t= 0.79 , p-value= 0.458 , e-size= 0.54

Test of different means for Normal variable InfHist

G1, N=(5) with mean(sd)= 2.5 (0.41):

G2, N=(4) with mean(sd)= 2.84 (0.32)

t= 1.35 , p-value= 0.22 , e-size= 0.88

Test of different means for Normal variable InfValin

G1, N=(5) with mean(sd)= 2.4 (0.15):

G2, N=(4) with mean(sd)= 2.38 (0.29)

t= -0.08 , p-value= 0.94 , e-size= -0.06

Test of different means for Normal variable InfGlut

G1, N=(5) with mean(sd)= 1.09 (0.25):

G2, N=(4) with mean(sd)= 1.17 (0.22)
 t= 0.46 , p-value= 0.658 , e-size= 0.31

Test of different means for Normal variable InfMetion

G1, N=(5) with mean(sd)= 0.69 (0.06):

G2, N=(4) with mean(sd)= 0.64 (0.06)

t= -1.27 , p-value= 0.245 , e-size= -0.85

*****Experiment G1: SEGAWA NAO LDOPA PSICOF x G2: SEGAWA NAO LDOPA
 NAO PSICOF

Categorical variable EDM_ATUAL with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	2	3
S	2	1

Fisher P= 1

Categorical variable EDM_RECOR with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	2	2
S	2	2

Fisher P= 1

Categorical variable EDM_PASS with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	1	2
S	3	2

Fisher P= 1

Test of different means for NON Normal variable Dpsic20

G1, N=(4) with mean(sd)= 13.5 (3.79):

G2, N=(4) with mean(sd)= 11.75 (2.22)

wilcoxon= 5 , p-value= 0.442 , e-size= -0.56

Test of different means for Normal variable geral20

G1, N=(4) with mean(sd)= 13 (2.58):

G2, N=(4) with mean(sd)= 15.5 (3.42)

t= 1.17 , p-value= 0.29 , e-size= 0.83

Test of different means for Normal variable score_bruto

G1, N=(4) with mean(sd)= 13.25 (8.06):

G2, N=(4) with mean(sd)= 18.25 (8.06)

t= 0.88 , p-value= 0.414 , e-size= 0.62

Test of different means for NON Normal variable categ

G1, N=(4) with mean(sd)= 2 (0.82):

G2, N=(4) with mean(sd)= 2 (1.15)

wilcoxon= 8 , p-value= 1 , e-size= 0

Categorical variable sono with levels , 0 1:

Contingency table:

	G1	G2
0	2	1
1	2	3

Fisher P= 1

Test of different means for Normal variable Serotonina

G1, N=(4) with mean(sd)= 52.55 (28.19):

G2, N=(4) with mean(sd)= 56.8 (46.63)

t= 0.16 , p-value= 0.882 , e-size= 0.11

Test of different means for Normal variable MelNoturna

G1, N=(4) with mean(sd)= 160.53 (29.22):

G2, N=(4) with mean(sd)= 171.06 (5.9)

t= 0.71 , p-value= 0.527 , e-size= 0.5

Test of different means for Normal variable MelDiurna

G1, N=(4) with mean(sd)= 171.67 (21.78):

G2, N=(4) with mean(sd)= 174.36 (18.01)

t= 0.19 , p-value= 0.855 , e-size= 0.13

Test of different means for Normal variable AcAsp

G1, N=(4) with mean(sd)= 4.2 (1.1):

G2, N=(4) with mean(sd)= 3.33 (1.47)

t= -0.95 , p-value= 0.38 , e-size= -0.67

***** Test of different means for Normal variable AcGlut

G1, N=(4) with mean(sd)= 97.58 (30.51):

G2, N=(4) with mean(sd)= 46.95 (19.96)

t= -2.78 , p-value= 0.038 , e-size= -1.96

Test of different means for Normal variable Aspar

G1, N=(4) with mean(sd)= 40.08 (5.27):

G2, N=(4) with mean(sd)= 41.48 (3.48)

t= 0.44 , p-value= 0.675 , e-size= 0.31

Test of different means for Normal variable Hist

G1, N=(4) with mean(sd)= 104.53 (10.5):

G2, N=(4) with mean(sd)= 103.75 (19.81)

t= -0.07 , p-value= 0.948 , e-size= -0.05

Test of different means for Normal variable Serin

G1, N=(4) with mean(sd)= 74.32 (9.9):

G2, N=(4) with mean(sd)= 96.38 (27.76)

t= 1.5 , p-value= 0.213 , e-size= 1.06

Test of different means for Normal variable Glutam

G1, N=(4) with mean(sd)= 535.52 (99.27):

G2, N=(4) with mean(sd)= 533.38 (41.62)

t= -0.04 , p-value= 0.97 , e-size= -0.03

Test of different means for Normal variable Argin

G1, N=(4) with mean(sd)= 80.03 (12.27):

G2, N=(4) with mean(sd)= 96.58 (10.58)

t= 2.04 , p-value= 0.088 , e-size= 1.44

Test of different means for Normal variable Tiros

G1, N=(4) with mean(sd)= 73.42 (5.2):

G2, N=(4) with mean(sd)= 67.7 (10.15)

t= -1 , p-value= 0.367 , e-size= -0.71

Test of different means for Normal variable Alanin

G1, N=(4) with mean(sd)= 479.17 (98.5):

G2, N=(4) with mean(sd)= 373.3 (48.96)

t= -1.93 , p-value= 0.12 , e-size= -1.36

Test of different means for Normal variable Trip

G1, N=(4) with mean(sd)= 64.05 (3):

G2, N=(4) with mean(sd)= 60.85 (5.74)

t= -0.99 , p-value= 0.373 , e-size= -0.7

Test of different means for Normal variable Metion

G1, N=(4) with mean(sd)= 23.15 (3.48):

G2, N=(4) with mean(sd)= 23.58 (2.6)

t= 0.2 , p-value= 0.852 , e-size= 0.14

Test of different means for Normal variable Valin

G1, N=(4) with mean(sd)= 232.3 (46.47):

G2, N=(4) with mean(sd)= 203.85 (17.27)

t= -1.15 , p-value= 0.318 , e-size= -0.81

Test of different means for Normal variable Fenil

G1, N=(4) with mean(sd)= 72.5 (3.7):

G2, N=(4) with mean(sd)= 75.7 (7.32)

t= 0.78 , p-value= 0.475 , e-size= 0.55

Test of different means for Normal variable Isol

G1, N=(4) with mean(sd)= 77.25 (17.76):

G2, N=(4) with mean(sd)= 60.88 (8.7)

t= -1.66 , p-value= 0.167 , e-size= -1.17

Test of different means for Normal variable Leuc

G1, N=(4) with mean(sd)= 140.7 (31.01):

G2, N=(4) with mean(sd)= 122.12 (8.34)

t= -1.16 , p-value= 0.321 , e-size= -0.82

Test of different means for Normal variable InfLeuc

G1, N=(4) with mean(sd)= 12.57 (1.64):

G2, N=(4) with mean(sd)= 11.56 (0.46)

t= -1.19 , p-value= 0.308 , e-size= -0.84

Test of different means for Normal variable InfFenil

G1, N=(4) with mean(sd)= 12.02 (0.81):

G2, N=(4) with mean(sd)= 13.1 (0.64)

t= 2.1 , p-value= 0.083 , e-size= 1.49

Test of different means for Normal variable InfTrip

G1, N=(4) with mean(sd)= 10.44 (0.66):

G2, N=(4) with mean(sd)= 10.4 (1.08)

t= -0.07 , p-value= 0.946 , e-size= -0.05

Test of different means for Normal variable InfTiros

G1, N=(4) with mean(sd)= 4.89 (0.34):

G2, N=(4) with mean(sd)= 4.72 (0.61)

t= -0.5 , p-value= 0.641 , e-size= -0.35

Test of different means for Normal variable InfIsol

G1, N=(4) with mean(sd)= 3.63 (0.52):

G2, N=(4) with mean(sd)= 3.02 (0.29)

t= -2.03 , p-value= 0.101 , e-size= -1.44

Test of different means for Normal variable InfHist

G1, N=(4) with mean(sd)= 2.84 (0.32):

G2, N=(4) with mean(sd)= 2.97 (0.71)

t= 0.34 , p-value= 0.75 , e-size= 0.24

Test of different means for Normal variable InfValin

G1, N=(4) with mean(sd)= 2.38 (0.29):

G2, N=(4) with mean(sd)= 2.21 (0.14)

t= -1.08 , p-value= 0.339 , e-size= -0.76

Test of different means for Normal variable InfGlut

G1, N=(4) with mean(sd)= 1.17 (0.22):

G2, N=(4) with mean(sd)= 1.21 (0.06)

t= 0.4 , p-value= 0.714 , e-size= 0.28

Test of different means for Normal variable InfMetion

G1, N=(4) with mean(sd)= 0.64 (0.06):

G2, N=(4) with mean(sd)= 0.68 (0.06)

t= 1.09 , p-value= 0.316 , e-size= 0.77

*****Experiment G1: SEGAWA NAO LDOPA PSICOF x G2: SEGAWA LDOPA NAO PSICOF

Categorical variable EDM_ATUAL with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	2	4
S	2	0

Fisher P= 0.4285714

Categorical variable EDM_RECOR with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	2	4
S	2	0

Fisher P= 0.4285714

Categorical variable EDM_PASS with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	1	3
S	3	1

Fisher P= 0.4857143

Test of different means for Normal variable Dpsic20

G1, N=(4) with mean(sd)= 13.5 (3.79):

G2, N=(4) with mean(sd)= 13.5 (1.73)

t= 0 , p-value= 1 , e-size= 0

Test of different means for Normal variable geral20

G1, N=(4) with mean(sd)= 13 (2.58):

G2, N=(4) with mean(sd)= 15.5 (3.42)

t= 1.17 , p-value= 0.29 , e-size= 0.83

Test of different means for Normal variable score_bruto

G1, N=(4) with mean(sd)= 13.25 (8.06):

G2, N=(4) with mean(sd)= 11.5 (8.06)

t= -0.31 , p-value= 0.769 , e-size= -0.22

Test of different means for Normal variable categ

G1, N=(4) with mean(sd)= 2 (0.82):

G2, N=(4) with mean(sd)= 1.5 (1)

t= -0.77 , p-value= 0.469 , e-size= -0.55

Categorical variable sono with levels , 0 1:

Contingency table:

	G1	G2
0	2	2
1	2	2

Fisher P= 1

Test of different means for Normal variable Serotonina

G1, N=(4) with mean(sd)= 52.55 (28.19):

G2, N=(4) with mean(sd)= 87.5 (8.68)

t= 2.37 , p-value= 0.085 , e-size= 1.68

Test of different means for Normal variable MelNoturna

G1, N=(4) with mean(sd)= 160.53 (29.22):

G2, N=(4) with mean(sd)= 117.86 (68.28)

t= -1.15 , p-value= 0.314 , e-size= -0.81

Test of different means for Normal variable MelDiurna

G1, N=(4) with mean(sd)= 171.67 (21.78):

G2, N=(4) with mean(sd)= 134.24 (59.4)

t= -1.18 , p-value= 0.305 , e-size= -0.84

Test of different means for Normal variable AcAsp

G1, N=(4) with mean(sd)= 4.2 (1.1):

G2, N=(4) with mean(sd)= 4.35 (1.71)

t= 0.15 , p-value= 0.888 , e-size= 0.1

Test of different means for Normal variable AcGlut

G1, N=(4) with mean(sd)= 97.58 (30.51):

G2, N=(4) with mean(sd)= 72.72 (24.58)

t= -1.27 , p-value= 0.254 , e-size= -0.9

Test of different means for Normal variable Aspar

G1, N=(4) with mean(sd)= 40.08 (5.27):

G2, N=(4) with mean(sd)= 42.08 (12.78)

t= 0.29 , p-value= 0.787 , e-size= 0.2

Test of different means for Normal variable Hist

G1, N=(4) with mean(sd)= 104.53 (10.5):

G2, N=(4) with mean(sd)= 81.42 (18.04)

t= -2.21 , p-value= 0.08 , e-size= -1.56

Test of different means for Normal variable Serin

G1, N=(4) with mean(sd)= 74.32 (9.9):

G2, N=(4) with mean(sd)= 84.4 (19)

t= 0.94 , p-value= 0.394 , e-size= 0.67

Test of different means for Normal variable Glutam

G1, N=(4) with mean(sd)= 535.52 (99.27):

G2, N=(4) with mean(sd)= 491.48 (142.56)

t= -0.51 , p-value= 0.632 , e-size= -0.36

Test of different means for Normal variable Argin

G1, N=(4) with mean(sd)= 80.03 (12.27):

G2, N=(4) with mean(sd)= 98.05 (36.76)

t= 0.93 , p-value= 0.409 , e-size= 0.66

***** Test of different means for Normal variable Tiros

G1, N=(4) with mean(sd)= 73.42 (5.2):

G2, N=(4) with mean(sd)= 52.1 (8.29)

t= -4.36 , p-value= 0.007 , e-size= -3.08

Test of different means for Normal variable Alanin

G1, N=(4) with mean(sd)= 479.17 (98.5):

G2, N=(4) with mean(sd)= 381.35 (86.52)

t= -1.49 , p-value= 0.187 , e-size= -1.06

***** Test of different means for Normal variable Trip

G1, N=(4) with mean(sd)= 64.05 (3):

G2, N=(4) with mean(sd)= 48.73 (7.09)

t= -3.98 , p-value= 0.016 , e-size= -2.81

Test of different means for Normal variable Metion

G1, N=(4) with mean(sd)= 23.15 (3.48):

G2, N=(4) with mean(sd)= 20.9 (2.34)

t= -1.07 , p-value= 0.33 , e-size= -0.76

Test of different means for Normal variable Valin

G1, N=(4) with mean(sd)= 232.3 (46.47):

G2, N=(4) with mean(sd)= 200.05 (20.11)

t= -1.27 , p-value= 0.27 , e-size= -0.9

Test of different means for Normal variable Fenil

G1, N=(4) with mean(sd)= 72.5 (3.7):

G2, N=(4) with mean(sd)= 65.58 (4.93)

t= -2.25 , p-value= 0.069 , e-size= -1.59

Test of different means for Normal variable Isol

G1, N=(4) with mean(sd)= 77.25 (17.76):

G2, N=(4) with mean(sd)= 63.08 (5.11)

t= -1.53 , p-value= 0.21 , e-size= -1.08

Test of different means for Normal variable Leuc

G1, N=(4) with mean(sd)= 140.7 (31.01):

G2, N=(4) with mean(sd)= 114.53 (8.41)

t= -1.63 , p-value= 0.19 , e-size= -1.15

Test of different means for Normal variable InfLeuc

G1, N=(4) with mean(sd)= 12.57 (1.64):

G2, N=(4) with mean(sd)= 12.29 (0.29)

t= -0.34 , p-value= 0.756 , e-size= -0.24

Test of different means for Normal variable InfFenil

G1, N=(4) with mean(sd)= 12.02 (0.81):

G2, N=(4) with mean(sd)= 12.9 (0.64)

t= 1.71 , p-value= 0.141 , e-size= 1.21

Test of different means for Normal variable InfTrip

G1, N=(4) with mean(sd)= 10.44 (0.66):

G2, N=(4) with mean(sd)= 9.42 (1.12)

t= -1.58 , p-value= 0.177 , e-size= -1.12

Test of different means for Normal variable InfTiros

G1, N=(4) with mean(sd)= 4.89 (0.34):

G2, N=(4) with mean(sd)= 4.13 (0.62)

t= -2.17 , p-value= 0.086 , e-size= -1.53

Test of different means for Normal variable InfIsol

G1, N=(4) with mean(sd)= 3.63 (0.52):

G2, N=(4) with mean(sd)= 3.56 (0.13)

t= -0.26 , p-value= 0.812 , e-size= -0.18

Test of different means for Normal variable InfHist

G1, N=(4) with mean(sd)= 2.84 (0.32):

G2, N=(4) with mean(sd)= 2.63 (0.58)

t= -0.63 , p-value= 0.561 , e-size= -0.44

Test of different means for Normal variable InfValin

G1, N=(4) with mean(sd)= 2.38 (0.29):

G2, N=(4) with mean(sd)= 2.46 (0.15)

t= 0.46 , p-value= 0.664 , e-size= 0.33

Test of different means for Normal variable InfGlut

G1, N=(4) with mean(sd)= 1.17 (0.22):

G2, N=(4) with mean(sd)= 1.28 (0.4)

t= 0.49 , p-value= 0.649 , e-size= 0.34

Test of different means for Normal variable InfMetion

G1, N=(4) with mean(sd)= 0.64 (0.06):

G2, N=(4) with mean(sd)= 0.69 (0.07)

t= 1.13 , p-value= 0.304 , e-size= 0.8

*****Experiment G1: SEGAWA LDOPA NAO PSICOF x G2: SEGAWA NAO LDOPA NAO PSICOF

Categorical variable EDM_ATUAL with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	4	3
S	0	1

Fisher P= 1

Categorical variable EDM_RECOR with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	4	2
S	0	2

Fisher P= 0.4285714

Categorical variable EDM_PASS with levels , N S:

Contingency table:

	G1	G2
N	3	2
S	1	2

Fisher P= 1

Test of different means for Normal variable Dpsic20

G1, N=(4) with mean(sd)= 13.5 (1.73):

G2, N=(4) with mean(sd)= 11.75 (2.22)

t= -1.24 , p-value= 0.262 , e-size= -0.88

Test of different means for Normal variable geral20

G1, N=(4) with mean(sd)= 15.5 (3.42):

G2, N=(4) with mean(sd)= 15.5 (3.42)

t= 0 , p-value= 1 , e-size= 0

Test of different means for Normal variable score_bruto

G1, N=(4) with mean(sd)= 11.5 (8.06):

G2, N=(4) with mean(sd)= 18.25 (8.06)

$t = 1.18$, $p\text{-value} = 0.281$, $e\text{-size} = 0.84$

Test of different means for Normal variable categ

G1, N=(4) with mean(sd)= 1.5 (1):

G2, N=(4) with mean(sd)= 2 (1.15)

$t = 0.65$, $p\text{-value} = 0.537$, $e\text{-size} = 0.46$

Categorical variable sono with levels , 0 1:

Contingency table:

	G1	G2
0	2	1
1	2	3

Fisher P= 1

Test of different means for Normal variable Serotonina

G1, N=(4) with mean(sd)= 87.5 (8.68):

G2, N=(4) with mean(sd)= 56.8 (46.63)

$t = -1.29$, $p\text{-value} = 0.281$, $e\text{-size} = -0.92$

Test of different means for NON Normal variable MelNoturna

G1, N=(4) with mean(sd)= 117.86 (68.28):

G2, N=(4) with mean(sd)= 171.06 (5.9)

wilcoxon= 14 , $p\text{-value} = 0.112$, $e\text{-size} = 1.1$

Test of different means for Normal variable MelDiurna

G1, N=(4) with mean(sd)= 134.24 (59.4):

G2, N=(4) with mean(sd)= 174.36 (18.01)

$t = 1.29$, $p\text{-value} = 0.274$, $e\text{-size} = 0.91$

Test of different means for Normal variable AcAsp

G1, N=(4) with mean(sd)= 4.35 (1.71):

G2, N=(4) with mean(sd)= 3.33 (1.47)

$t = -0.91$, $p\text{-value} = 0.399$, $e\text{-size} = -0.64$

Test of different means for Normal variable AcGlut

G1, N=(4) with mean(sd)= 72.72 (24.58):

G2, N=(4) with mean(sd)= 46.95 (19.96)

$t = -1.63$, $p\text{-value} = 0.157$, $e\text{-size} = -1.15$

Test of different means for Normal variable Aspar

G1, N=(4) with mean(sd)= 42.08 (12.78):

G2, N=(4) with mean(sd)= 41.48 (3.48)

$t = -0.09$, $p\text{-value} = 0.933$, $e\text{-size} = -0.06$

Test of different means for Normal variable Hist

G1, N=(4) with mean(sd)= 81.42 (18.04):

G2, N=(4) with mean(sd)= 103.75 (19.81)

$t = 1.67$, $p\text{-value} = 0.147$, $e\text{-size} = 1.18$

Test of different means for Normal variable Serin

G1, N=(4) with mean(sd)= 84.4 (19):

G2, N=(4) with mean(sd)= 96.38 (27.76)

$t = 0.71$, $p\text{-value} = 0.507$, $e\text{-size} = 0.5$

Test of different means for Normal variable Glutam

G1, N=(4) with mean(sd)= 491.48 (142.56):

G2, N=(4) with mean(sd)= 533.38 (41.62)

$t = 0.56$, $p\text{-value} = 0.607$, $e\text{-size} = 0.4$

Test of different means for Normal variable Argin

G1, N=(4) with mean(sd)= 98.05 (36.76):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 96.58 (10.58)
 t= -0.08 , p-value= 0.943 , e-size= -0.05

Test of different means for Normal variable Tiros

G1, N=(4) with mean(sd)= 52.1 (8.29):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 67.7 (10.15)
 t= 2.38 , p-value= 0.056 , e-size= 1.68

Test of different means for Normal variable Alanin

G1, N=(4) with mean(sd)= 381.35 (86.52):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 373.3 (48.96)
 t= -0.16 , p-value= 0.878 , e-size= -0.11

***** Test of different means for Normal variable Trip

G1, N=(4) with mean(sd)= 48.73 (7.09):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 60.85 (5.74)
 t= 2.66 , p-value= 0.039 , e-size= 1.88

Test of different means for Normal variable Metion

G1, N=(4) with mean(sd)= 20.9 (2.34):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 23.58 (2.6)
 t= 1.53 , p-value= 0.177 , e-size= 1.08

Test of different means for Normal variable Valin

G1, N=(4) with mean(sd)= 200.05 (20.11):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 203.85 (17.27)
 t= 0.29 , p-value= 0.784 , e-size= 0.2

Test of different means for Normal variable Fenil

G1, N=(4) with mean(sd)= 65.58 (4.93):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 75.7 (7.32)
 t= 2.3 , p-value= 0.068 , e-size= 1.62

Test of different means for Normal variable Isol

G1, N=(4) with mean(sd)= 63.08 (5.11):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 60.88 (8.7)
 t= -0.44 , p-value= 0.681 , e-size= -0.31

Test of different means for Normal variable Leuc

G1, N=(4) with mean(sd)= 114.53 (8.41):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 122.12 (8.34)
 t= 1.28 , p-value= 0.247 , e-size= 0.91

***** Test of different means for Normal variable InfLeuc

G1, N=(4) with mean(sd)= 12.29 (0.29):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 11.56 (0.46)
 t= -2.71 , p-value= 0.042 , e-size= -1.92

Test of different means for Normal variable InfFenil

G1, N=(4) with mean(sd)= 12.9 (0.64):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 13.1 (0.64)
 t= 0.45 , p-value= 0.67 , e-size= 0.32

Test of different means for Normal variable InfTrip

G1, N=(4) with mean(sd)= 9.42 (1.12):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 10.4 (1.08)
 t= 1.26 , p-value= 0.255 , e-size= 0.89

Test of different means for Normal variable InfTiros

G1, N=(4) with mean(sd)= 4.13 (0.62):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 4.72 (0.61)
 t= 1.37 , p-value= 0.221 , e-size= 0.97

***** Test of different means for Normal variable InfIsol

G1, N=(4) with mean(sd)= 3.56 (0.13):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 3.02 (0.29)
 t= -3.37 , p-value= 0.026 , e-size= -2.38

Test of different means for Normal variable InfHist

G1, N=(4) with mean(sd)= 2.63 (0.58):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 2.97 (0.71)
 t= 0.74 , p-value= 0.487 , e-size= 0.52

***** Test of different means for Normal variable InfValin

G1, N=(4) with mean(sd)= 2.46 (0.15):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 2.21 (0.14)
 t= -2.45 , p-value= 0.05 , e-size= -1.74

Test of different means for Normal variable InfGlut

G1, N=(4) with mean(sd)= 1.28 (0.4):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 1.21 (0.06)
 t= -0.32 , p-value= 0.768 , e-size= -0.23

Test of different means for Normal variable InfMetion

G1, N=(4) with mean(sd)= 0.69 (0.07):
 G2, N=(4) with mean(sd)= 0.68 (0.06)
 t= -0.1 , p-value= 0.924 , e-size= -0.07

Resultados da análise de correlação/associação entre cada par de variáveis considerando toda a amostra

***** Association between variables EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10) and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5) Phi= 0.65 p-value= 0

***** Association between variables EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15) and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5) Phi= 0.48 p-value= 0

***** Association between variables Dpsic20 and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(14.09, 10.6), sd=(2.54, 2.19), t= 3.25 p-value= 0.019

Association between variables geral20 and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(15.33, 14), sd=(2.68, 3.46), t= 0.82 p-value= 0.449

***** Association between variables score_bruto and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(11.64, 25), sd=(7.87, 10.22), t= -2.8 p-value= 0.04

***** Association between variables categ and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(1.58, 3), sd=(0.9, 1), t= -3 p-value= 0.03

Association between variables sono, N=(0 = 14, 1 = 24) and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5) Phi= 0.14 p-value= 0

Association between variables Serotonina and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(64.79, 59.58), sd=(40, 47.03), t= 0.23 p-value= 0.825

Association between variables MelNoturna and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): mean=(151.75, 156.31), sdev=(35.15, 28.9), wilcoxon= 53 p-value= 0.816

***** Association between variables MelDiurna and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(156.99, 184.73), sd=(27.2, 14.18), t= -3.35 p-value= 0.007

Association between variables AcAsp and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(3.94, 3.7), sd=(1.39, 1.37), t= 0.36 p-value= 0.731

Association between variables AcGlut and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(84.96, 69.34), sd=(39.69, 36.05), t= 0.87 p-value= 0.416

Association between variables Aspar and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(41.26, 42.68), sd=(7.87, 10.36), t= -0.29 p-value= 0.783

Association between variables Hist and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(96.65, 100.64), sd=(22.04, 9.59), t= -0.66 p-value= 0.523

Association between variables Serin and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(89.26, 95.08), sd=(21.31, 30.74), t= -0.4 p-value= 0.703

Association between variables Glutam and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5) : m=(505.65, 500.7), sd=(84.78, 52.25), t= 0.17 p-value= 0.867

Association between variables Argin and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(93.04, 103.76), sd=(24.98, 23.42), t= -0.93 p-value= 0.39

Association between variables Tiros and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(67.27, 63.74), sd=(14.3, 15.68), t= 0.47 p-value= 0.659

Association between variables Alanin and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(390.69, 431.16), sd=(86.24, 70.94), t= -1.13 p-value= 0.3

Association between variables Trip and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(58.23, 61.76), sd=(8.69, 5.89), t= -1.13 p-value= 0.294

Association between variables Metion and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(22.87, 23.62), sd=(3.39, 3.01), t= -0.5 p-value= 0.634

Association between variables Valin and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(210.28, 220.54), sd=(32.26, 36.24), t= -0.59 p-value= 0.58

Association between variables Fenil and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(69.32, 69.24), sd=(10.02, 5.55), t= 0.03 p-value= 0.98

Association between variables Isol and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(66.03, 68.28), sd=(13.3, 18.81), t= -0.26 p-value= 0.809

Association between variables Leuc and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(123.59, 128.56), sd=(22.29, 30.55), t= -0.35 p-value= 0.744

Association between variables InfLeuc and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(12.05, 12.18), sd=(1.09, 1.55), t= -0.18 p-value= 0.867

Association between variables InfFenil and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(12.42, 12.19), sd=(0.85, 0.92), t= 0.51 p-value= 0.628

Association between variables InfTrip and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(10.3, 10.67), sd=(1.18, 0.65), t= -1.02 p-value= 0.333

Association between variables InfTiros and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(4.85, 4.44), sd=(0.8, 0.72), t= 1.15 p-value= 0.295

Association between variables InfIsol and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(3.39, 3.39), sd=(0.37, 0.58), t= -0.03 p-value= 0.974

Association between variables InfHist and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(2.83, 2.91), sd=(0.52, 0.39), t= -0.4 p-value= 0.7

Association between variables InfValin and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(2.36, 2.41), sd=(0.21, 0.17), t= -0.6 p-value= 0.57

Association between variables InfGlut and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(1.2, 1.16), sd=(0.22, 0.18), t= 0.39 p-value= 0.711

Association between variables InfMetion and EDM_ATUAL, N=(N = 33, S = 5): m=(0.69, 0.7), sd=(0.06, 0.09), t= -0.22 p-value= 0.833

***** Association between variables EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15) and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10) Phi= 0.74 p-value= 0

***** Association between variables Dpsic20 and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(14.21, 12), sd=(2.48, 2.91), t= 2.15 p-value= 0.05

Association between variables geral20 and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(15.36, 14.6), sd=(2.88, 2.5), t= 0.79 p-value= 0.441

***** Association between variables score_bruto and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(10.89, 20.4), sd=(7.68, 10.09), t= -2.71 p-value= 0.018

***** Association between variables categ and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(1.5, 2.5), sd=(0.88, 1.08), t= -2.63 p-value= 0.02

Association between variables sono, N=(0 = 14, 1 = 24) and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10) Phi= 0.21 p-value= 0

Association between variables Serotonina and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(70.87, 49.41), sd=(38.56, 42.3), t= 1.36 p-value= 0.193

Association between variables MelNoturna and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): mean=(151.95, 153.85), sdev=(37.66, 25.15), wilcoxon= 91 p-value= 0.809

***** Association between variables MelDiurna and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(154.34, 176.42), sd=(29.2, 15.53), t= -2.74 p-value= 0.01

Association between variables AcAsp and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(3.9, 3.9), sd=(1.36, 1.46), t= 0.01 p-value= 0.993

Association between variables AcGlut and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(84.8, 77.48), sd=(41.76, 33.92), t= 0.52 p-value= 0.608

Association between variables Aspar and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(41.7, 41.06), sd=(7.93, 8.99), t= 0.19 p-value= 0.851

Association between variables Hist and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(96.1, 99.81), sd=(21.42, 19.17), t= -0.49 p-value= 0.633

Association between variables Serin and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(89, 92.72), sd=(21.54, 25.62), t= -0.4 p-value= 0.697

Association between variables Glutam and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(505.33, 503.84), sd=(90.11, 56.07), t= 0.06 p-value= 0.956

Association between variables Argin and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(95.22, 93.82), sd=(26.96, 20.37), t= 0.16 p-value= 0.874

Association between variables Tiros and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(66, 68.16), sd=(15.38, 12.41), t= -0.42 p-value= 0.68

Association between variables Alanin and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(391.77, 408.66), sd=(93.99, 61.73), t= -0.6 p-value= 0.556

Association between variables Trip and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(58.53, 59.36), sd=(9.03, 7.01), t= -0.28 p-value= 0.782

Association between variables Metion and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(23.26, 22.43), sd=(3.32, 3.35), t= 0.64 p-value= 0.528

Association between variables Valin and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(213.08, 209.54), sd=(33.14, 32.76), t= 0.28 p-value= 0.782

Association between variables Fenil and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(70.76, 66.27), sd=(9.08, 9.72), t= 1.23 p-value= 0.237

Association between variables Isol and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(67.6, 63.85), sd=(13.3, 15.73), t= 0.65 p-value= 0.525

Association between variables Leuc and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(126.99, 118.94), sd=(22.61, 24.94), t= 0.87 p-value= 0.399

Association between variables InfLeuc and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(12.21, 11.78), sd=(1.16, 1.13), t= 0.99 p-value= 0.335

Association between variables InfFenil and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(12.52, 12.1), sd=(0.83, 0.85), t= 1.31 p-value= 0.208

Association between variables InfTrip and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(10.2, 10.69), sd=(1.24, 0.72), t= -1.39 p-value= 0.175

Association between variables InfTiros and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(4.67, 5.03), sd=(0.72, 0.91), t= -1.11 p-value= 0.287

Association between variables InfIsol and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(3.42, 3.32), sd=(0.37, 0.47), t= 0.57 p-value= 0.575

Association between variables InfHist and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(2.77, 2.99), sd=(0.51, 0.47), t= -1.14 p-value= 0.269

Association between variables InfValin and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(2.36, 2.39), sd=(0.23, 0.14), t= -0.49 p-value= 0.625

Association between variables InfGlut and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(1.18, 1.22), sd=(0.23, 0.16), t= -0.51 p-value= 0.613

Association between variables InfMetion and EDM_RECOR, N=(N = 28, S = 10): m=(0.69, 0.69), sd=(0.06, 0.07), t= 0.08 p-value= 0.934

***** Association between variables Dpsic20 and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(14.57, 12.2), sd=(2.5, 2.54), t= 2.82 p-value= 0.008

Association between variables geral20 and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(15.65, 14.4), sd=(2.81, 2.64), t= 1.39 p-value= 0.173

***** Association between variables score_bruto and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(10.17, 18.33), sd=(7.6, 9.63), t= -2.77 p-value= 0.01

***** Association between variables categ and EDM_PASS , N=(N = 23, S = 15): m=(1.43, 2.27), sd=(0.84, 1.1), t= -2.49 p-value= 0.02

Association between variables sono, N=(0 = 14 , 1 = 24) and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15) Phi= 0.06 p-value= 1

Association between variables Serotonina and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(70.62, 56.83), sd=(36.33, 44.47), t= 0.94 p-value= 0.354

Association between variables MelNoturna and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): mean=(158.13, 146.14), sdev=(19.98, 44.74), wilcoxon= 110 p-value= 0.586

Association between variables MelDiurna and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(160.54, 162.44), sd=(18.93, 34.97), t= -0.19 p-value= 0.854

Association between variables AcAsp and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(4.18 , 3.61), sd=(1.42,1.29), t= 1.15 p-value= 0.259

Association between variables AcGlut and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(87.67, 76.86), sd=(45.41, 31.35), t= 0.78 p-value= 0.445

Association between variables Aspar and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(43.96, 38.85), sd=(7.3, 8.4), t= 1.8 p-value= 0.082

Association between variables Hist and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(100.94, 93.4), sd=(20.59, 20.32), t= 1.03 p-value= 0.313

Association between variables Serin and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(92.19, 88.07), sd=(22.58, 23.14), t= 0.5 p-value= 0.62

Association between variables Glutam and EDM_PASS, N=(N = 23 , S = 15): m=(507.03, 502.52), sd=(99.66, 54.48), t= 0.16 p-value= 0.876

Association between variables Argin and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(99.35, 89.89), sd=(27.52, 21.09), t= 1.08 p-value= 0.29

Association between variables Tiros and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(66.37, 67.05), sd=(17.02, 11.34), t= -0.13 p-value= 0.896

Association between variables Alanin and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(406.17, 387.67), sd=(90.99, 78.41), t= 0.61 p-value= 0.548

Association between variables Trip and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(59.73, 57.81), sd=(9.23, 7.43), t= 0.64 p-value= 0.528

Association between variables Metion and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(23.85, 22.07), sd=(3.33, 3.12), t= 1.54 p-value= 0.135

***** Association between variables Valin and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(222.99, 200.15), sd=(31.77, 29.92), t= 2.06 p-value= 0.048

Association between variables Fenil and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(72.06, 66.38), sd=(9.65, 8.4), t= 1.75 p-value= 0.091

Association between variables Isol and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(70.59, 61.91), sd=(13.59, 13.38), t= 1.79 p-value= 0.084

***** Association between variables Leuc and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(132.62, 115.62), sd=(22.81, 21.08), t= 2.16 p-value= 0.039

Association between variables InfLeuc and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(12.43, 11.69), sd=(1.18, 1.01), t= 1.88 p-value= 0.07

Association between variables InfFenil and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(12.41, 12.35), sd=(0.84, 0.89), t= 0.17 p-value= 0.867

Association between variables InfTrip and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(10.14, 10.59), sd=(1.26, 0.91), t= -1.14 p-value= 0.263

Association between variables InfTiros and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(4.55, 5.03), sd=(0.73, 0.8), t= -1.74 p-value= 0.092

Association between variables InfIsol and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(3.48, 3.29), sd=(0.37, 0.41), t= 1.33 p-value= 0.193

Association between variables InfHist and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(2.85, 2.84), sd=(0.51, 0.5), t= 0.04 p-value= 0.965

Association between variables InfValin and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(2.41, 2.33), sd=(0.22, 0.18), t= 1.09 p-value= 0.286

Association between variables InfGlut and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(1.15, 1.24), sd=(0.24, 0.16), t= -1.12 p-value= 0.271

Association between variables InfMetion and EDM_PASS, N=(N = 23, S = 15): m=(0.69, 0.69), sd=(0.06, 0.07), t= 0.01 p-value= 0.988

***** Correlation between variables Dpsic20 and geral20, N= 38: Pearson= 0.4 CI=(0.09, 0.64) p-value= 0.013

***** Correlation between variables Dpsic20 and score_bruto, N= 38: Pearson= -0.7 CI=(-0.83, -0.48) p-value= 0

***** Correlation between variables Dpsic20 and categ, N= 38: Pearson= -0.62 CI=(-0.78, -0.37) p-value= 0

Association between variables Dpsic20 and sono, N=(0 = 14, 1 = 24): mean=(14.43, 13.17), sdev=(2.47, 2.84), t= 1.44 p-value= 0.161

Correlation between variables Dpsic20 and Serotonina, N= 31: Pearson= 0.2 CI=(-0.16, 0.52) p-value= 0.272

Correlation between variables Dpsic20 and MelNoturna, N= 28: Spearman= 0.14 CI=(-0.24, 0.49) p-value= 0.466

Correlation between variables Dpsic20 and MelDiurna, N= 31: Pearson= -0.15 CI=(-0.48, 0.22) p-value= 0.423

Correlation between variables Dpsic20 and AcAsp, N= 31 : Pearson= 0.02 CI=(-0.34, 0.37) p-value= 0.912

Correlation between variables Dpsic20 and AcGlut, N= 31 : Pearson= 0.16 CI=(-0.2, 0.49) p-value= 0.378

Correlation between variables Dpsic20 and Aspar, N= 31 : Pearson= 0.1 CI=(-0.26, 0.44) p-value= 0.576

Correlation between variables Dpsic20 and Hist, N= 31 : Pearson= -0.11 CI=(-0.45, 0.25) p-value= 0.542

Correlation between variables Dpsic20 and Serin, N= 31 : Pearson= -0.01 CI=(-0.36, 0.35) p-value= 0.956

Correlation between variables Dpsic20 and Glutam, N= 31 : Pearson= 0.1 CI=(-0.26, 0.44) p-value= 0.575

Correlation between variables Dpsic20 and Argin, N= 31 : Pearson= -0.02 CI=(-0.37, 0.34) p-value= 0.927

Correlation between variables Dpsic20 and Tiros, N= 31 : Pearson= 0.11 CI=(-0.26, 0.44) p-value= 0.57

Correlation between variables Dpsic20 and Alanin, N= 31 : Pearson= 0.03 CI=(-0.33, 0.38) p-value= 0.866

Correlation between variables Dpsic20 and Trip, N= 31 : Pearson= -0.07 CI=(-0.41, 0.29) p-value= 0.715

Correlation between variables Dpsic20 and Metion, N= 31 : Pearson= 0.04 CI=(-0.32, 0.39) p-value= 0.815

Correlation between variables Dpsic20 and Valin, N= 31 : Pearson= 0.33 CI=(-0.03, 0.61) p-value= 0.073

Correlation between variables Dpsic20 and Fenil, N= 31 : Pearson= -0.04 CI=(-0.39, 0.32) p-value= 0.84

Correlation between variables Dpsic20 and Isol, N= 31 : Pearson= 0.27 CI=(-0.09, 0.57) p-value= 0.136

Correlation between variables Dpsic20 and Leuc, N= 31 : Pearson= 0.29 CI=(-0.08, 0.58) p-value= 0.12

***** Correlation between variables Dpsic20 and InfLeuc, N= 31 : Pearson= 0.38 CI=(0.03, 0.65) p-value= 0.034

Correlation between variables Dpsic20 and InfFenil, N= 31 : Pearson= -0.27 CI=(-0.57, 0.09) p-value= 0.139

Correlation between variables Dpsic20 and InfTrip, N= 31 : Pearson= -0.2 CI=(-0.52, 0.16) p-value= 0.271

Correlation between variables Dpsic20 and InfTiros, N= 31 : Pearson= 0.06 CI=(-0.3, 0.41) p-value= 0.744

Correlation between variables Dpsic20 and InfIsol, N= 31 : Pearson= 0.35 CI=(-0.01, 0.63) p-value= 0.055

Correlation between variables Dpsic20 and InfHist, N= 31 : Pearson= -0.23 CI=(-0.54, 0.13) p-value= 0.206

***** Correlation between variables Dpsic20 and InfValin, N= 31: Pearson= 0.42 CI=(0.08, 0.68) p-value= 0.018

Correlation between variables Dpsic20 and InfGlut, N= 31: Pearson= 0.03 CI=(-0.33, 0.38) p-value= 0.866

Correlation between variables Dpsic20 and InfMetion, N= 31: Pearson= -0.08 CI=(-0.42, 0.28) p-value= 0.661

Correlation between variables geral20 and score_bruto, N= 38: Pearson= -0.3 CI=(-0.56, 0.02) p-value= 0.069

Correlation between variables geral20 and categ, N= 38: Pearson= -0.3 CI=(-0.57, 0.02) p-value= 0.067

***** Association between variables geral20 and sono, N=(0 = 14 , 1 = 24): mean=(16.43, 14.42), sdev=(2.74, 2.57), t= 2.23 p-value= 0.034

Correlation between variables geral20 and Serotonina, N= 31: Pearson= 0.22 CI=(-0.15, 0.53) p-value= 0.241

Correlation between variables geral20 and MelNoturna, N= 28: Spearman= 0.13 CI=(-0.25, 0.48) p-value= 0.5

Correlation between variables geral20 and MelDiurna, N= 31: Pearson= 0.17 CI=(-0.19, 0.5) p-value= 0.348

Correlation between variables geral20 and AcAsp, N= 31: Pearson= -0.09 CI=(-0.43, 0.28) p-value= 0.649

Correlation between variables geral20 and AcGlut, N= 31: Pearson= -0.19 CI=(-0.51, 0.17) p-value= 0.3

Correlation between variables geral20 and Aspar, N= 31: Pearson= 0.19 CI=(-0.18, 0.51) p-value= 0.306

Correlation between variables geral20 and Hist, N= 31: Pearson= -0.04 CI=(-0.39, 0.31) p-value= 0.812

Correlation between variables geral20 and Serin, N= 31: Pearson= 0.24 CI=(-0.12, 0.55) p-value= 0.185

Correlation between variables geral20 and Glutam, N= 31: Pearson= 0.09 CI=(-0.27, 0.43) p-value= 0.638

Correlation between variables geral20 and Argin, N= 31: Pearson= -0.07 CI=(-0.41, 0.29) p-value= 0.714

Correlation between variables geral20 and Tiros, N= 31: Pearson= -0.16 CI=(-0.49, 0.21) p-value= 0.391

Correlation between variables geral20 and Alanin, N= 31: Pearson= 0.02 CI=(-0.34, 0.37) p-value= 0.914

Correlation between variables geral20 and Trip, N= 31: Pearson= 0.19 CI=(-0.18, 0.51) p-value= 0.307

Correlation between variables geral20 and Metion, N= 31: Pearson= 0.06 CI=(-0.3, 0.41) p-value= 0.74

Correlation between variables geral20 and Valin, N= 31: Pearson= -0.03 CI=(-0.38, 0.33) p-value= 0.875

Correlation between variables geral20 and Fenil, N= 31: Pearson= -0.17 CI=(-0.49, 0.2) p-value= 0.368

Correlation between variables geral20 and Isol, N= 31: Pearson= -0.06 CI=(-0.4, 0.3) p-value= 0.759

Correlation between variables geral20 and Leuc, N= 31: Pearson= -0.09 CI=(-0.43, 0.27) p-value= 0.623

Correlation between variables geral20 and InfLeuc, N= 31: Pearson= -0.1 CI=(-0.44, 0.26) p-value= 0.584

Correlation between variables geral20 and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.21 CI=(-0.53, 0.15) p-value= 0.251

Correlation between variables geral20 and InfTrip, N= 31: Pearson= 0.31 CI=(-0.05, 0.6) p-value= 0.089

Correlation between variables geral20 and InfTiros, N= 31: Pearson= -0.13 CI=(-0.46, 0.24) p-value= 0.502

Correlation between variables geral20 and InfIsol, N= 31: Pearson= -0.03 CI=(-0.38, 0.33) p-value= 0.891

Correlation between variables geral20 and InfHist, N= 31: Pearson= -0.04 CI=(-0.39, 0.32) p-value= 0.822

Correlation between variables geral20 and InfValin, N= 31: Pearson= 0.03 CI=(-0.33, 0.38) p-value= 0.868

Correlation between variables geral20 and InfGlut, N= 31: Pearson= 0.13 CI=(-0.23, 0.46) p-value= 0.484

Correlation between variables geral20 and InfMetion, N= 31: Pearson= 0.19 CI=(-0.17, 0.51) p-value= 0.293

***** Correlation between variables score_bruto and categ, N= 38: Pearson= 0.93 CI=(0.87, 0.96) p-value= 0

Association between variables score_bruto and sono, N=(0 = 14, 1 = 24): mean=(9.93, 15.42), sdev=(8.61, 9.2), t= -1.85 p-value= 0.075

Correlation between variables score_bruto and Serotonina, N= 31: Pearson= -0.18 CI=(-0.5, 0.18) p-value= 0.323

Correlation between variables score_bruto and MelNoturna, N= 28: Spearman= -0.17 CI=(-0.51, 0.22) p-value= 0.384

Correlation between variables score_bruto and MelDiurna, N= 31: Pearson= -0.04 CI=(-0.39, 0.31) p-value= 0.811

Correlation between variables score_bruto and AcAsp, N= 31: Pearson= 0 CI=(-0.35, 0.35) p-value= 0.998

Correlation between variables score_bruto and AcGlut, N= 31: Pearson= -0.04 CI=(-0.39, 0.32) p-value= 0.839

Correlation between variables score_bruto and Aspar, N= 31: Pearson= 0.19 CI=(-0.18, 0.51) p-value= 0.318

Correlation between variables score_bruto and Hist, N= 31: Pearson= 0.2 CI=(-0.17, 0.52) p-value= 0.285

***** Correlation between variables score_bruto and Serin, N= 31: Pearson= 0.43 CI=(0.09, 0.68) p-value= 0.017

Correlation between variables score_bruto and Glutam, N= 31: Pearson= -0.11 CI=(-0.45, 0.25) p-value= 0.539

Correlation between variables score_bruto and Argin, N= 31: Pearson= 0.32 CI=(-0.04, 0.61) p-value= 0.08

Correlation between variables score_bruto and Tiros, N= 31: Pearson= 0.01 CI=(-0.35, 0.36) p-value= 0.975

Correlation between variables score_bruto and Alanin, N= 31: Pearson= 0 CI=(-0.36, 0.35) p-value= 0.989

Correlation between variables score_bruto and Trip, N= 31: Pearson= -0.07 CI=(-0.42, 0.29) p-value= 0.693

Correlation between variables score_bruto and Metion, N= 31: Pearson= 0.13 CI=(-0.24, 0.46) p-value= 0.493

Correlation between variables score_bruto and Valin, N= 31: Pearson= -0.12 CI=(-0.46, 0.24) p-value= 0.506

Correlation between variables score_bruto and Fenil, N= 31: Pearson= -0.02 CI=(-0.38, 0.33) p-value= 0.898
 Correlation between variables score_bruto and Isol, N= 31: Pearson= -0.17 CI=(-0.5, 0.19) p-value= 0.353
 Correlation between variables score_bruto and Leuc, N= 31: Pearson= -0.1 CI=(-0.44, 0.26) p-value= 0.595
 Correlation between variables score_bruto and InfLeuc, N= 31: Pearson= -0.09 CI=(-0.43, 0.27) p-value= 0.621
 Correlation between variables score_bruto and InfFenil, N= 31: Pearson= 0.06 CI=(-0.3, 0.41) p-value= 0.742
 Correlation between variables score_bruto and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.04 CI=(-0.39, 0.32) p-value= 0.837
 Correlation between variables score_bruto and InfTiros, N= 31: Pearson= 0.04 CI=(-0.32, 0.39) p-value= 0.84
 Correlation between variables score_bruto and InfIsol, N= 31: Pearson= -0.23 CI=(-0.54, 0.14) p-value= 0.217
 Correlation between variables score_bruto and InfHist, N= 31: Pearson= 0.31 CI=(-0.05, 0.6) p-value= 0.094
 Correlation between variables score_bruto and InfValin, N= 31: Pearson= -0.13 CI=(-0.46, 0.24) p-value= 0.496
 Correlation between variables score_bruto and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.07 CI=(-0.41, 0.29) p-value= 0.71
 Correlation between variables score_bruto and InfMetion, N= 31: Pearson= 0.26 CI=(-0.1, 0.57) p-value= 0.151
 Association between variables categ and sono, N=(0 = 14 , 1 = 24): mean=(1.5 , 1.92), sdev=(0.85, 1.1), t= -1.3 p-value= 0.202
 Correlation between variables categ and Serotonina, N= 31: Pearson= -0.07 CI=(-0.42, 0.29) p-value= 0.695
 Correlation between variables categ and MelNoturna, N= 28: Spearman= -0.12 CI=(-0.47, 0.26) p-value= 0.537
 Correlation between variables categ and MelDiurna, N= 31: Pearson= -0.06 CI=(-0.41, 0.3) p-value= 0.746
 Correlation between variables categ and AcAsp, N= 31: Pearson= 0.15 CI=(-0.22, 0.48) p-value= 0.422
 Correlation between variables categ and AcGlut, N= 31: Pearson= 0.1 CI=(-0.26, 0.44) p-value= 0.578
 Correlation between variables categ and Aspar, N= 31: Pearson= 0.29 CI=(-0.07, 0.59) p-value= 0.112
 Correlation between variables categ and Hist, N= 31: Pearson= 0.27 CI=(-0.09, 0.57) p-value= 0.141
 ***** Correlation between variables categ and Serin, N= 31: Pearson= 0.4 CI=(0.05, 0.66) p-value= 0.027
 Correlation between variables categ and Glutam, N= 31: Pearson= -0.07 CI=(-0.41, 0.29) p-value= 0.722
 Correlation between variables categ and Argin, N= 31: Pearson= 0.25 CI=(-0.11, 0.56) p-value= 0.166
 Correlation between variables categ and Tiros, N= 31: Pearson= -0.03 CI=(-0.38, 0.33) p-value= 0.868
 Correlation between variables categ and Alanin, N= 31: Pearson= 0.09 CI=(-0.28, 0.43) p-value= 0.64
 Correlation between variables categ and Trip, N= 31: Pearson= -0.08 CI=(-0.42, 0.28) p-value= 0.679
 Correlation between variables categ and Metion, N= 31: Pearson= 0.13 CI=(-0.24, 0.46) p-value= 0.497
 Correlation between variables categ and Valin, N= 31: Pearson= -0.06 CI=(-0.41, 0.3) p-value= 0.733
 Correlation between variables categ and Fenil, N= 31: Pearson= -0.04 CI=(-0.39, 0.32) p-value= 0.831
 Correlation between variables categ and Isol, N= 31: Pearson= -0.15 CI=(-0.48, 0.22) p-value= 0.43
 Correlation between variables categ and Leuc, N= 31: Pearson= -0.06 CI=(-0.4, 0.3) p-value= 0.756
 Correlation between variables categ and InfLeuc, N= 31: Pearson= -0.05 CI=(-0.39, 0.31) p-value= 0.809
 Correlation between variables categ and InfFenil, N= 31: Pearson= 0.01 CI=(-0.34, 0.37) p-value= 0.942
 Correlation between variables categ and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.06 CI=(-0.41, 0.3) p-value= 0.729
 Correlation between variables categ and InfTiros, N= 31: Pearson= -0.02 CI=(-0.37, 0.34) p-value= 0.917
 Correlation between variables categ and InfIsol, N= 31: Pearson= -0.21 CI=(-0.52 , 0.16) p-value= 0.268
 ***** Correlation between variables categ and InfHist, N= 31: Pearson= 0.38 CI=(0.03, 0.65) p-value= 0.036
 Correlation between variables categ and InfValin, N= 31: Pearson= -0.05 CI=(-0.4, 0.31) p-value= 0.789
 Correlation between variables categ and InfGlut N= 31: Pearson= -0.05 CI=(-0.39, 0.31) p-value= 0.805
 Correlation between variables categ and InfMetion, N= 31: Pearson= 0.26 CI=(-0.1, 0.57) p-value= 0.152
 Association between variables Serotonina and sono, N=(0 = 14, 1 = 24): m=(76.6, 56.99), sd=(33.59, 42.89), t= 1.41 p-value= 0.172
 Association between variables MelNoturna and sono, N=(0 = 14, 1 = 24): mean=(165.15, 145.57), sdev=(20.47 , 37.87), wilcoxon= 126 p-value= 0.089
 Association between variables MelDiurna and sono, N=(0 = 14, 1 = 24): m=(164.18, 159.97), sd=(18.87, 31.49), t= 0.47 p-value= 0.645
 Association between variables AcAsp and sono, N=(0 = 14, 1 = 24): m=(3.75, 3.98), sd=(1.41, 1.38), t= -0.44 p-value= 0.666
 Association between variables AcGlut and sono, N=(0 = 14, 1 = 24): m=(81.75, 82.82), sd=(31.94, 43.15), t= -0.08 p-value= 0.938
 Association between variables Aspar and sono, N=(0 = 14, 1 = 24): m=(41.38, 41.55), sd=(9.01, 7.87), t= -0.05 p-value= 0.959
 Association between variables Hist and sono , N=(0 = 14 , 1 = 24): m=(89.16, 101.76), sd=(23.5, 17.67), t= -1.55 p-value= 0.139

Association between variables Serin and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(84.95, 93.09)$, $sd=(23.05, 22.35)$, $t= -0.95$ p-value= 0.353

Association between variables Glutam and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(530.68, 490.64)$, $sd=(81.56, 77.05)$, $t= 1.33$ p-value= 0.198

Association between variables Argin and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(87.49, 98.78)$, $sd=(21.15, 26.06)$, $t= -1.31$ p-value= 0.204

Association between variables Tiros and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(64.67, 67.82)$, $sd=(12, 15.62)$, $t= -0.62$ p-value= 0.538

Association between variables Alanin and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(414, 387.99)$, $sd=(99.79, 75.58)$, $t= 0.75$ p-value= 0.462

Association between variables Trip and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(59.63, 58.34)$, $sd=(8.05, 8.64)$, $t= 0.41$ p-value= 0.682

Association between variables Metion and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(23.05, 22.96)$, $sd=(2.35, 3.78)$, $t= 0.08$ p-value= 0.939

Association between variables Valin and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(204.76, 215.88)$, $sd=(33.73, 32)$, $t= -0.89$ p-value= 0.382

Association between variables Fenil and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(66.72, 70.74)$, $sd=(8.81, 9.58)$, $t= -1.18$ p-value= 0.252

Association between variables Isol and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(66.99, 66.06)$, $sd=(13.81, 14.41)$, $t= 0.18$ p-value= 0.861

Association between variables Leuc and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(118.95, 127.39)$, $sd=(24.35, 22.74)$, $t= -0.94$ p-value= 0.357

Association between variables InfLeuc and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(11.79, 12.22)$, $sd=(0.91, 1.26)$, $t= -1.09$ p-value= 0.287

Association between variables InfFenil and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(12.21, 12.48)$, $sd=(0.52, 0.98)$, $t= -1.01$ p-value= 0.32

Association between variables InfTrip and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(10.74, 10.15)$, $sd=(0.75, 1.23)$, $t= 1.67$ p-value= 0.107

Association between variables InfTiros and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(4.76, 4.79)$, $sd=(0.73, 0.84)$, $t= -0.11$ p-value= 0.917

Association between variables InfIsol and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(3.5, 3.33)$, $sd=(0.29, 0.44)$, $t= 1.29$ p-value= 0.206

Association between variables InfHist and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(2.65, 2.95)$, $sd=(0.47, 0.49)$, $t= -1.7$ p-value= 0.104

Association between variables InfValin and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(2.35, 2.38)$, $sd=(0.23, 0.19)$, $t= -0.45$ p-value= 0.657

Association between variables InfGlut and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(1.28, 1.15)$, $sd=(0.19, 0.21)$, $t= 1.83$ p-value= 0.081

Association between variables InfMetion and sono, $N=(0 = 14, 1 = 24)$: $m=(0.71, 0.68)$, $sd=(0.06, 0.07)$, $t= 1.37$ p-value= 0.183

Correlation between variables Serotonina and MelNoturna, $N= 28$: Spearman= -0.07 CI=(-0.43, 0.31) p-value= 0.719

Correlation between variables Serotonina and MelDiurna, $N= 31$: Pearson= -0.22 CI=(-0.54, 0.14) p-value= 0.226

***** Correlation between variables Serotonina and AcAsp, $N= 31$: Pearson= 0.4 CI=(0.06, 0.66) p-value= 0.025

Correlation between variables Serotonina and AcGlut, $N= 31$: Pearson= 0.21 CI=(-0.16, 0.52) p-value= 0.261

Correlation between variables Serotonina and Aspar, $N= 31$: Pearson= 0.24 CI=(-0.12, 0.55) p-value= 0.184

Correlation between variables Serotonina and Hist, $N= 31$: Pearson= 0.09 CI=(-0.27, 0.43) p-value= 0.612

Correlation between variables Serotonina and Serin, $N= 31$: Pearson= 0.24 CI=(-0.13, 0.55) p-value= 0.197

Correlation between variables Serotonina and Glutam, $N= 31$: Pearson= 0.03 CI=(-0.33, 0.38) p-value= 0.866

Correlation between variables Serotonina and Argin, $N= 31$: Pearson= 0.05 CI=(-0.31, 0.4) p-value= 0.792

Correlation between variables Serotonina and Tiros, $N= 31$: Pearson= -0.35 CI=(-0.63, 0) p-value= 0.052

Correlation between variables Serotonina and Alanin, $N= 31$: Pearson= -0.33 CI=(-0.62, 0.02) p-value= 0.066

Correlation between variables Serotonina and Trip, $N= 31$: Pearson= -0.23 CI=(-0.54, 0.13) p-value= 0.21

Correlation between variables Serotonina and Metion, $N= 31$: Pearson= 0 CI=(-0.35, 0.36) p-value= 0.983

Correlation between variables Serotonina and Valin, $N= 31$: Pearson= 0.07 CI=(-0.29, 0.41) p-value= 0.712

Correlation between variables Serotonina and Fenil, $N= 31$: Pearson= 0.06 CI=(-0.3, 0.4) p-value= 0.766

Correlation between variables Serotonina and Isol, $N= 31$: Pearson= 0.06 CI=(-0.3, 0.41) p-value= 0.741

Correlation between variables Serotonina and Leuc, $N= 31$: Pearson= 0.14 CI=(-0.22, 0.47) p-value= 0.447

Correlation between variables Serotonina and InfLeuc, N= 31: Pearson= 0.29 CI=(-0.07, 0.58) p-value= 0.117
 Correlation between variables Serotonina and InfFenil, N= 31: Pearson= 0.15 CI=(-0.22, 0.48) p-value= 0.43
 Correlation between variables Serotonina and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.34 CI=(-0.62, 0.02) p-value= 0.061
 ***** Correlation between variables Serotonina and InfTiros, N= 31: Pearson= -0.49 CI=(-0.72, -0.16) p-value= 0.005
 Correlation between variables Serotonina and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.11 CI=(-0.25, 0.45) p-value= 0.541
 Correlation between variables Serotonina and InfHist, N= 31: Pearson= 0.09 CI=(-0.27, 0.43) p-value= 0.614
 Correlation between variables Serotonina and InfValin, N= 31: Pearson= 0.13 CI=(-0.23, 0.47) p-value= 0.473
 Correlation between variables Serotonina and InfGlut, N= 31: Pearson= 0.02 CI=(-0.34, 0.37) p-value= 0.929
 Correlation between variables Serotonina and InfMetion, N= 31: Pearson= 0.02 CI=(-0.34, 0.37) p-value= 0.911
 ***** Correlation between variables MelNoturna and MelDiurna, N= 28: Spearman= 0.51 CI=(0.17, 0.74) p-value= 0.006
 Correlation between variables MelNoturna and AcAsp, N= 28: Spearman= -0.09 CI=(-0.44, 0.3) p-value= 0.666
 Correlation between variables MelNoturna and AcGlut, N= 28: Spearman= 0.08 CI=(-0.31, 0.44) p-value= 0.7
 Correlation between variables MelNoturna and Aspar, N= 28: Spearman= 0.13 CI=(-0.26, 0.48) p-value= 0.518
 Correlation between variables MelNoturna and Hist, N= 28: Spearman= 0.31 CI=(-0.07, 0.61) p-value= 0.106
 Correlation between variables MelNoturna and Serin, N= 28: Spearman= -0.11 CI=(-0.47, 0.27) p-value= 0.568
 Correlation between variables MelNoturna and Glutam, N= 28: Spearman= 0.26 CI=(-0.13, 0.58) p-value= 0.186
 Correlation between variables MelNoturna and Argin, N= 28: Spearman= 0.01 CI=(-0.37, 0.38) p-value= 0.971
 Correlation between variables MelNoturna and Tiros, N= 28: Spearman= 0.27 CI=(-0.12, 0.58) p-value= 0.172
 Correlation between variables MelNoturna and Alanin, N= 28: Spearman= 0.19 CI=(-0.2, 0.53) p-value= 0.33
 Correlation between variables MelNoturna and Trip, N= 28: Spearman= 0.32 CI=(-0.06, 0.62) p-value= 0.093
 Correlation between variables MelNoturna and Metion, N= 28: Spearman= 0.31 CI=(-0.07, 0.61) p-value= 0.104
 Correlation between variables MelNoturna and Valin, N= 28: Spearman= 0.17 CI=(-0.22, 0.51) p-value= 0.386
 Correlation between variables MelNoturna and Fenil, N= 28: Spearman= 0.1 CI=(-0.29, 0.45) p-value= 0.629
 ***** Correlation between variables MelNoturna and Isol, N= 28: Spearman= 0.5 CI=(0.15, 0.73) p-value= 0.007
 Correlation between variables MelNoturna and Leuc, N= 28: Spearman= 0.37 CI=(0, 0.65) p-value= 0.052
 Correlation between variables MelNoturna and InfLeuc, N= 28: Spearman= 0.2 CI=(-0.19, 0.53) p-value= 0.312
 ***** Correlation between variables MelNoturna and InfFenil, N= 28: Spearman= -0.43 CI=(-0.69, -0.07) p-value= 0.022
 Correlation between variables MelNoturna and InfTrip, N= 28: Spearman= 0.12 CI=(-0.27, 0.47) p-value= 0.551
 Correlation between variables MelNoturna and InfTiros, N= 28: Spearman= 0.08 CI=(-0.3, 0.44) p-value= 0.667
 Correlation between variables MelNoturna and InfIsol, N= 28: Spearman= 0.35 CI=(-0.02, 0.64) p-value= 0.066
 Correlation between variables MelNoturna and InfHist, N= 28: Spearman= 0.15 CI=(-0.24, 0.49) p-value= 0.46
 Correlation between variables MelNoturna and InfValin, N= 28: Spearman= -0.24 CI=(-0.56, 0.15) p-value= 0.22
 Correlation between variables MelNoturna and InfGlut, N= 28: Spearman= 0.04 CI=(-0.34, 0.4) p-value= 0.857
 Correlation between variables MelNoturna and InfMetion, N= 28: Spearman= -0.02 CI=(-0.39, 0.35) p-value= 0.915
 Correlation between variables MelDiurna and AcAsp, N= 31: Pearson= -0.11 CI=(-0.45, 0.25) p-value= 0.553
 Correlation between variables MelDiurna and AcGlut, N= 31: Pearson= -0.08 CI=(-0.42, 0.29) p-value= 0.685
 Correlation between variables MelDiurna and Aspar, N= 31: Pearson= -0.07 CI=(-0.41, 0.3) p-value= 0.724
 Correlation between variables MelDiurna and Hist, N= 31: Pearson= 0.1 CI=(-0.26, 0.44) p-value= 0.586
 Correlation between variables MelDiurna and Serin, N= 31: Pearson= -0.07 CI=(-0.42, 0.29) p-value= 0.697
 Correlation between variables MelDiurna and Glutam, N= 31: Pearson= 0.03 CI=(-0.33, 0.38) p-value= 0.885
 Correlation between variables MelDiurna and Argin, N= 31: Pearson= -0.21 CI=(-0.52, 0.16) p-value= 0.259

Correlation between variables MelDiurna and Tiros, N= 31: Pearson= 0.19 CI=(-0.17, 0.51) p-value= 0.3

Correlation between variables MelDiurna and Alanin, N= 31: Pearson= 0.29 CI=(-0.08, 0.58) p-value= 0.118

***** Correlation between variables MelDiurna and Trip, N= 31: Pearson= 0.42 CI=(0.08, 0.68) p-value= 0.018

Correlation between variables MelDiurna and Metion, N= 31: Pearson= 0.15 CI=(-0.22, 0.48) p-value= 0.419

Correlation between variables MelDiurna and Valin, N= 31: Pearson= 0.22 CI=(-0.15, 0.53) p-value= 0.234

Correlation between variables MelDiurna and Fenil, N= 31: Pearson= 0.11 CI=(-0.26, 0.44) p-value= 0.571

Correlation between variables MelDiurna and Isol, N= 31: Pearson= 0.25 CI=(-0.11, 0.56) p-value= 0.167

Correlation between variables MelDiurna and Leuc, N= 31: Pearson= 0.21 CI=(-0.16, 0.52) p-value= 0.26

Correlation between variables MelDiurna and InfLeuc, N= 31: Pearson= 0.05 CI=(-0.31, 0.4) p-value= 0.771

Correlation between variables MelDiurna and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.27 CI=(-0.57, 0.09) p-value= 0.134

Correlation between variables MelDiurna and InfTrip, N= 31: Pearson= 0.3 CI=(-0.06, 0.59) p-value= 0.102

Correlation between variables MelDiurna and InfTiros, N= 31: Pearson= 0.08 CI=(-0.28, 0.42) p-value= 0.664

Correlation between variables MelDiurna and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.16 CI=(-0.21, 0.49) p-value= 0.389

Correlation between variables MelDiurna and InfHist, N= 31: Pearson= -0.04 CI=(-0.39, 0.32) p-value= 0.822

Correlation between variables MelDiurna and InfValin, N= 31: Pearson= -0.01 CI=(-0.36, 0.35) p-value= 0.969

Correlation between variables MelDiurna and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.18 CI=(-0.5, 0.19) p-value= 0.345

Correlation between variables MelDiurna and InfMetion, N= 31: Pearson= -0.09 CI=(-0.43, 0.27) p-value= 0.63

***** Correlation between variables AcAsp and AcGlut, N= 31: Pearson= 0.58 CI=(0.29, 0.78) p-value= 0.001

***** Correlation between variables AcAsp and Aspar, N= 31: Pearson= 0.41 CI=(0.06, 0.67) p-value= 0.022

***** Correlation between variables AcAsp and Hist, N= 31: Pearson= 0.48 CI=(0.15, 0.71) p-value= 0.007

Correlation between variables AcAsp and Serin, N= 31: Pearson= 0.18 CI=(-0.18, 0.5) p-value= 0.327

Correlation between variables AcAsp and Glutam, N= 31: Pearson= -0.07 CI=(-0.41, 0.3) p-value= 0.726

Correlation between variables AcAsp and Argin, N= 31: Pearson= 0.09 CI=(-0.27, 0.43) p-value= 0.634

Correlation between variables AcAsp and Tiros, N= 31: Pearson= 0.01 CI=(-0.35, 0.36) p-value= 0.956

Correlation between variables AcAsp and Alanin, N= 31: Pearson= 0.12 CI=(-0.24, 0.46) p-value= 0.505

Correlation between variables AcAsp and Trip, N= 31: Pearson= 0.1 CI=(-0.26, 0.44) p-value= 0.584

Correlation between variables AcAsp and Metion, N= 31: Pearson= 0.34 CI=(-0.02, 0.62) p-value= 0.064

***** Correlation between variables AcAsp and Valin, N= 31: Pearson= 0.4 CI=(0.05, 0.66) p-value= 0.027

Correlation between variables AcAsp and Fenil, N= 31: Pearson= 0.27 CI=(-0.09, 0.57) p-value= 0.137

***** Correlation between variables AcAsp and Isol, N= 31: Pearson= 0.39 CI=(0.04, 0.66) p-value= 0.029

***** Correlation between variables AcAsp and Leuc, N= 31: Pearson= 0.41 CI=(0.07, 0.67) p-value= 0.022

Correlation between variables AcAsp and InfLeuc, N= 31: Pearson= 0.33 CI=(-0.03, 0.61) p-value= 0.069

Correlation between variables AcAsp and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.05 CI=(-0.4, 0.31) p-value= 0.788

Correlation between variables AcAsp and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.27 CI=(-0.57, 0.09) p-value= 0.137

Correlation between variables AcAsp and InfTiros, N= 31: Pearson= -0.26 CI=(-0.56, 0.11) p-value= 0.162

Correlation between variables AcAsp and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.31 CI=(-0.06, 0.6) p-value= 0.095

Correlation between variables AcAsp and InfHist, N= 31: Pearson= 0.32 CI=(-0.04, 0.6) p-value= 0.084

Correlation between variables AcAsp and InfValin, N= 31: Pearson= 0.19 CI=(-0.17, 0.51) p-value= 0.3

Correlation between variables AcAsp and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.31 CI=(-0.6, 0.05) p-value= 0.092

Correlation between variables AcAsp and InfMetion, N= 31: Pearson= 0.07 CI=(-0.29, 0.41) p-value= 0.718

Correlation between variables AcGlut and Aspar, N= 31: Pearson= 0.08 CI=(-0.29, 0.42) p-value= 0.687

Correlation between variables AcGlut and Hist, N= 31: Pearson= 0.11 CI=(-0.26, 0.44) p-value= 0.573

Correlation between variables AcGlut and Serin, N= 31: Pearson= 0.19 CI=(-0.17, 0.51) p-value= 0.294

Correlation between variables AcGlut and Glutam, N= 31: Pearson= -0.1 CI=(-0.44, 0.26) p-value= 0.587

Correlation between variables AcGlut and Argin, N= 31: Pearson= -0.25 CI=(-0.56, 0.11) p-value= 0.17

Correlation between variables AcGlut and Tiros, N= 31: Pearson= 0.29 CI=(-0.07, 0.58) p-value= 0.117

Correlation between variables AcGlut and Alanin, N= 31: Pearson= 0.07 CI=(-0.29, 0.41) p-value= 0.704

Correlation between variables AcGlut and Trip, N= 31: Pearson= 0.04 CI=(-0.32, 0.39) p-value= 0.849

Correlation between variables AcGlut and Metion, N= 31 : Pearson= 0.29 CI=(-0.07, 0.58) p-value= 0.117

Correlation between variables AcGlut and Valin, N= 31 : Pearson= 0.34 CI=(-0.01, 0.62) p-value= 0.059

Correlation between variables AcGlut and Fenil, N= 31: Pearson= 0.21 CI=(-0.16, 0.52) p-value= 0.267

Correlation between variables AcGlut and Isol, N= 31: Pearson= 0.34 CI=(-0.01, 0.62) p-value= 0.058
 ***** Correlation between variables AcGlut and Leuc, N= 31: Pearson= 0.42 CI=(0.08, 0.68) p-value= 0.017
 ***** Correlation between variables AcGlut and InfLeuc, N= 31: Pearson= 0.41 CI=(0.06, 0.67) p-value= 0.022
 Correlation between variables AcGlut and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.11 CI=(-0.45, 0.25) p-value= 0.547
 Correlation between variables AcGlut and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.28 CI=(-0.57, 0.09) p-value= 0.131
 Correlation between variables AcGlut and InfTiros, N= 31: Pearson= 0.15 CI=(-0.21, 0.48) p-value= 0.406
 Correlation between variables AcGlut and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.29 CI=(-0.07, 0.58) p-value= 0.116
 Correlation between variables AcGlut and InfHist, N= 31: Pearson= -0.09 CI=(-0.43, 0.28) p-value= 0.643
 Correlation between variables AcGlut and InfValin, N= 31: Pearson= 0.15 CI=(-0.22, 0.48) p-value= 0.432
 Correlation between variables AcGlut and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.31 CI=(-0.6, 0.05) p-value= 0.086
 Correlation between variables AcGlut and InfMetion, N= 31: Pearson= 0.04 CI=(-0.32, 0.39) p-value= 0.846
 ***** Correlation between variables Aspar and Hist, N= 31: Pearson= 0.59 CI=(0.29, 0.78) p-value= 0.001
 ***** Correlation between variables Aspar and Serin, N= 31: Pearson= 0.57 CI=(0.26, 0.77) p-value= 0.001
 Correlation between variables Aspar and Glutam, N= 31: Pearson= 0.28 CI=(-0.09, 0.58) p-value= 0.13
 ***** Correlation between variables Aspar and Argin, N= 31: Pearson= 0.61 CI=(0.33, 0.8) p-value= 0
 Correlation between variables Aspar and Tiros, N= 31: Pearson= -0.11 CI=(-0.45, 0.25) p-value= 0.556
 Correlation between variables Aspar and Alanin, N= 31: Pearson= 0.28 CI=(-0.08, 0.58) p-value= 0.129
 Correlation between variables Aspar and Trip, N= 31: Pearson= 0.09 CI=(-0.27, 0.43) p-value= 0.625
 ***** Correlation between variables Aspar and Metion, N= 31: Pearson= 0.56 CI=(0.25, 0.76) p-value= 0.001
 Correlation between variables Aspar and Valin, N= 31: Pearson= 0.24 CI=(-0.12, 0.55) p-value= 0.193
 Correlation between variables Aspar and Fenil, N= 31: Pearson= 0.09 CI=(-0.28, 0.43) p-value= 0.646
 Correlation between variables Aspar and Isol, N= 31: Pearson= 0.25 CI=(-0.11, 0.56) p-value= 0.166
 Correlation between variables Aspar and Leuc, N= 31: Pearson= 0.27 CI=(-0.09, 0.57) p-value= 0.137
 Correlation between variables Aspar and InfLeuc, N= 31: Pearson= 0.22 CI=(-0.15, 0.53) p-value= 0.238
 Correlation between variables Aspar and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.24 CI=(-0.55, 0.12) p-value= 0.189
 Correlation between variables Aspar and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.15 CI=(-0.48, 0.22) p-value= 0.431
 ***** Correlation between variables Aspar and InfTiros, N= 31: Pearson= -0.39 CI=(-0.65, -0.04) p-value= 0.03
 Correlation between variables Aspar and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.18 CI=(-0.19, 0.5) p-value= 0.331
 ***** Correlation between variables Aspar and InfHist, N= 31: Pearson= 0.57 CI=(0.27, 0.77) p-value= 0.001
 Correlation between variables Aspar and InfValin, N= 31: Pearson= 0.07 CI=(-0.29, 0.42) p-value= 0.691
 Correlation between variables Aspar and InfGlut, N= 31: Pearson= 0.11 CI=(-0.26, 0.44) p-value= 0.568
 ***** Correlation between variables Aspar and InfMetion, N= 31: Pearson= 0.56 CI=(0.26, 0.76) p-value= 0.001
 Correlation between variables Hist and Serin, N= 31: Pearson= 0.29 CI=(-0.07, 0.59) p-value= 0.111
 Correlation between variables Hist and Glutam, N= 31: Pearson= 0.17 CI=(-0.19, 0.5) p-value= 0.351
 ***** Correlation between variables Hist and Argin, N= 31: Pearson= 0.36 CI=(0, 0.63) p-value= 0.049
 Correlation between variables Hist and Tiros, N= 31: Pearson= 0.26 CI=(-0.11, 0.56) p-value= 0.161
 Correlation between variables Hist and Alanin, N= 31: Pearson= 0.3 CI=(-0.06, 0.59) p-value= 0.1
 ***** Correlation between variables Hist and Trip, N= 31: Pearson= 0.48 CI=(0.15, 0.71) p-value= 0.007
 ***** Correlation between variables Hist and Metion, N= 31: Pearson= 0.5 CI=(0.17, 0.72) p-value= 0.005
 ***** Correlation between variables Hist and Valin, N= 31: Pearson= 0.41 CI=(0.07, 0.67) p-value= 0.021
 ***** Correlation between variables Hist and Fenil, N= 31: Pearson= 0.4 CI=(0.05, 0.66) p-value= 0.026
 ***** Correlation between variables Hist and Isol, N= 31: Pearson= 0.44 CI=(0.11, 0.69) p-value= 0.013
 ***** Correlation between variables Hist and Leuc, N= 31: Pearson= 0.5 CI=(0.17, 0.72) p-value= 0.004
 Correlation between variables Hist and InfLeuc, N= 31: Pearson= 0.21 CI=(-0.15, 0.53) p-value= 0.254
 Correlation between variables Hist and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.23 CI=(-0.54, 0.14) p-value= 0.221
 Correlation between variables Hist and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.04 CI=(-0.39, 0.32) p-value= 0.816
 Correlation between variables Hist and InfTiros, N= 31: Pearson= -0.12 CI=(-0.45, 0.25) p-value= 0.535
 Correlation between variables Hist and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.15 CI=(-0.22, 0.48) p-value= 0.42
 ***** Correlation between variables Hist and InfHist, N= 31: Pearson= 0.82 CI=(0.66, 0.91) p-value= 0
 Correlation between variables Hist and InfValin, N= 31: Pearson= -0.14 CI=(-0.47, 0.23) p-value= 0.459
 Correlation between variables Hist and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.27 CI=(-0.57, 0.1) p-value= 0.146
 Correlation between variables Hist and InfMetion, N= 31: Pearson= -0.01 CI=(-0.36, 0.35) p-value= 0.961
 Correlation between variables Serin and Glutam, N= 31: Pearson= -0.08 CI=(-0.42, 0.29) p-value= 0.682

***** Correlation between variables Serin and Argin, N= 31: Pearson= 0.45 CI=(0.12, 0.7) p-value= 0.01
 Correlation between variables Serin and Tiros, N= 31: Pearson= 0.1 CI=(-0.27, 0.43) p-value= 0.611
 Correlation between variables Serin and Alanin, N= 31: Pearson= -0.11 CI=(-0.44, 0.26) p-value= 0.565
 Correlation between variables Serin and Trip, N= 31: Pearson= 0.12 CI=(-0.25, 0.45) p-value= 0.534
 ***** Correlation between variables Serin and Metion, N= 31: Pearson= 0.52 CI=(0.2, 0.74) p-value= 0.003
 Correlation between variables Serin and Valin, N= 31: Pearson= 0.16 CI=(-0.21, 0.48) p-value= 0.403
 Correlation between variables Serin and Fenil, N= 31: Pearson= 0.2 CI=(-0.17, 0.51) p-value= 0.29
 Correlation between variables Serin and Isol, N= 31: Pearson= 0.02 CI=(-0.34, 0.37) p-value= 0.907
 Correlation between variables Serin and Leuc, N= 31: Pearson= 0.11 CI=(-0.25, 0.45) p-value= 0.542
 Correlation between variables Serin and InfLeuc, N= 31: Pearson= 0.01 CI=(-0.35, 0.36) p-value= 0.969
 Correlation between variables Serin and InfFenil, N= 31: Pearson= 0.05 CI=(-0.31, 0.4) p-value= 0.786
 Correlation between variables Serin and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.05 CI=(-0.39, 0.31) p-value= 0.803
 Correlation between variables Serin and InfTiros, N= 31: Pearson= -0.07 CI=(-0.42, 0.29) p-value= 0.697
 Correlation between variables Serin and InfIsol, N= 31: Pearson= -0.15 CI=(-0.48, 0.22) p-value= 0.421
 Correlation between variables Serin and InfHist, N= 31: Pearson= 0.25 CI=(-0.11, 0.55) p-value= 0.176
 Correlation between variables Serin and InfValin, N= 31: Pearson= 0.02 CI=(-0.34, 0.37) p-value= 0.932
 Correlation between variables Serin and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.21 CI=(-0.53, 0.16) p-value= 0.255
 ***** Correlation between variables Serin and InfMetion, N= 31: Pearson= 0.51 CI=(0.19, 0.73) p-value= 0.003
 Correlation between variables Glutam and Argin, N= 31: Pearson= -0.11 CI=(-0.45, 0.25) p-value= 0.542
 Correlation between variables Glutam and Tiros, N= 31: Pearson= 0.2 CI=(-0.17, 0.52) p-value= 0.282
 ***** Correlation between variables Glutam and Alanin, N= 31: Pearson= 0.38 CI=(0.03, 0.65) p-value= 0.034
 Correlation between variables Glutam and Trip, N= 31: Pearson= 0.26 CI=(-0.1, 0.57) p-value= 0.151
 Correlation between variables Glutam and Metion, N= 31: Pearson= 0.22 CI=(-0.14, 0.54) p-value= 0.225
 Correlation between variables Glutam and Valin, N= 31: Pearson= 0.05 CI=(-0.31, 0.4) p-value= 0.772
 Correlation between variables Glutam and Fenil, N= 31: Pearson= 0.15 CI=(-0.22, 0.48) p-value= 0.425
 Correlation between variables Glutam and Isol, N= 31: Pearson= 0.23 CI=(-0.14, 0.54) p-value= 0.215
 Correlation between variables Glutam and Leuc, N= 31: Pearson= 0.14 CI=(-0.23, 0.47) p-value= 0.469
 Correlation between variables Glutam and InfLeuc, N= 31: Pearson= -0.05 CI=(-0.4, 0.31) p-value= 0.798
 Correlation between variables Glutam and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.17 CI=(-0.49, 0.2) p-value= 0.366
 Correlation between variables Glutam and InfTrip, N= 31: Pearson= 0.07 CI=(-0.29, 0.42) p-value= 0.691
 Correlation between variables Glutam and InfTiros, N= 31: Pearson= 0.06 CI=(-0.3, 0.4) p-value= 0.753
 Correlation between variables Glutam and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.14 CI=(-0.23, 0.47) p-value= 0.454
 Correlation between variables Glutam and InfHist, N= 31: Pearson= 0.03 CI=(-0.33, 0.38) p-value= 0.866
 Correlation between variables Glutam and InfValin, N= 31: Pearson= -0.27 CI=(-0.57, 0.1) p-value= 0.147
 ***** Correlation between variables Glutam and InfGlut, N= 31: Pearson= 0.73 CI=(0.51, 0.86) p-value= 0
 Correlation between variables Glutam and InfMetion, N= 31: Pearson= 0.04 CI=(-0.32, 0.39) p-value= 0.84
 Correlation between variables Argin and Tiros, N= 31: Pearson= -0.04 CI=(-0.39, 0.31) p-value= 0.813
 Correlation between variables Argin and Alanin, N= 31: Pearson= -0.04 CI=(-0.39, 0.32) p-value= 0.816
 Correlation between variables Argin and Trip, N= 31: Pearson= -0.17 CI=(-0.5, 0.19) p-value= 0.355
 ***** Correlation between variables Argin and Metion, N= 31: Pearson= 0.38 CI=(0.03, 0.65) p-value= 0.035
 Correlation between variables Argin and Valin, N= 31: Pearson= 0.09 CI=(-0.28, 0.43) p-value= 0.643
 Correlation between variables Argin and Fenil, N= 31: Pearson= -0.02 CI=(-0.37, 0.34) p-value= 0.926
 Correlation between variables Argin and Isol, N= 31: Pearson= 0.09 CI=(-0.27, 0.43) p-value= 0.635
 Correlation between variables Argin and Leuc, N= 31: Pearson= 0.05 CI=(-0.31, 0.4) p-value= 0.782
 Correlation between variables Argin and InfLeuc, N= 31: Pearson= 0.08 CI=(-0.28, 0.42) p-value= 0.679
 Correlation between variables Argin and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.07 CI=(-0.41, 0.29) p-value= 0.707
 Correlation between variables Argin and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.25 CI=(-0.56, 0.11) p-value= 0.171
 Correlation between variables Argin and InfTiros, N= 31: Pearson= -0.14 CI=(-0.47, 0.23) p-value= 0.452
 Correlation between variables Argin and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.13 CI=(-0.24, 0.46) p-value= 0.491
 ***** Correlation between variables Argin and InfHist, N= 31: Pearson= 0.46 CI=(0.12, 0.7) p-value= 0.01
 Correlation between variables Argin and InfValin, N= 31: Pearson= 0.14 CI=(-0.22, 0.47) p-value= 0.449
 Correlation between variables Argin and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.09 CI=(-0.43, 0.27) p-value= 0.616
 ***** Correlation between variables Argin and InfMetion, N= 31: Pearson= 0.54 CI=(0.23, 0.75) p-value= 0.002

***** Correlation between variables Tiros and Alanin, N= 31: Pearson= 0.36 CI=(0.01, 0.63) p-value= 0.046
 ***** Correlation between variables Tiros and Trip, N= 31: Pearson= 0.46 CI=(0.12, 0.7) p-value= 0.01
 ***** Correlation between variables Tiros and Metion, N= 31: Pearson= 0.56 CI=(0.26, 0.76) p-value= 0.001
 ***** Correlation between variables Tiros and Valin, N= 31: Pearson= 0.56 CI=(0.25, 0.76) p-value= 0.001
 ***** Correlation between variables Tiros and Fenil, N= 31: Pearson= 0.54 CI=(0.24, 0.75) p-value= 0.002
 ***** Correlation between variables Tiros and Isol, N= 31: Pearson= 0.57 CI=(0.28, 0.77) p-value= 0.001
 ***** Correlation between variables Tiros and Leuc, N= 31: Pearson= 0.54 CI=(0.23, 0.75) p-value= 0.002
 Correlation between variables Tiros and InfLeuc, N= 31: Pearson= 0.16 CI=(-0.2, 0.49) p-value= 0.384
 Correlation between variables Tiros and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.13 CI=(-0.46, 0.23) p-value= 0.48
 Correlation between variables Tiros and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.12 CI=(-0.45, 0.24) p-value= 0.521
 ***** Correlation between variables Tiros and InfTiros, N= 31: Pearson= 0.8 CI=(0.62, 0.9) p-value= 0
 Correlation between variables Tiros and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.28 CI=(-0.08, 0.58) p-value= 0.124
 Correlation between variables Tiros and InfHist, N= 31: Pearson= -0.15 CI=(-0.48, 0.22) p-value= 0.428
 Correlation between variables Tiros and InfValin, N= 31: Pearson= -0.01 CI=(-0.36, 0.35) p-value= 0.976
 Correlation between variables Tiros and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.28 CI=(-0.58, 0.08) p-value= 0.121
 Correlation between variables Tiros and InfMetion, N= 31: Pearson= -0.07 CI=(-0.41, 0.29) p-value= 0.706
 ***** Correlation between variables Alanin and Trip, N= 31: Pearson= 0.48 CI=(0.15, 0.71) p-value= 0.006
 ***** Correlation between variables Alanin and Metion, N= 31: Pearson= 0.46 CI=(0.13, 0.7) p-value= 0.008
 ***** Correlation between variables Alanin and Valin, N= 31: Pearson= 0.51 CI=(0.19, 0.73) p-value= 0.003
 Correlation between variables Alanin and Fenil, N= 31: Pearson= 0.31 CI=(-0.05, 0.6) p-value= 0.092
 ***** Correlation between variables Alanin and Isol, N= 31: Pearson= 0.57 CI=(0.26, 0.77) p-value= 0.001
 ***** Correlation between variables Alanin and Leuc, N= 31: Pearson= 0.45 CI=(0.12, 0.7) p-value= 0.011
 Correlation between variables Alanin and InfLeuc, N= 31: Pearson= 0.18 CI=(-0.18, 0.5) p-value= 0.325
 Correlation between variables Alanin and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.29 CI=(-0.58, 0.07) p-value= 0.114
 Correlation between variables Alanin and InfTrip, N= 31: Pearson= 0.05 CI=(-0.31, 0.4) p-value= 0.781
 Correlation between variables Alanin and InfTiros, N= 31: Pearson= 0.08 CI=(-0.28, 0.42) p-value= 0.678
 ***** Correlation between variables Alanin and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.42 CI=(0.08, 0.67) p-value= 0.019
 Correlation between variables Alanin and InfHist, N= 31: Pearson= 0.02 CI=(-0.34, 0.37) p-value= 0.929
 Correlation between variables Alanin and InfValin, N= 31: Pearson= 0.14 CI=(-0.23, 0.47) p-value= 0.468
 Correlation between variables Alanin and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.01 CI=(-0.36, 0.35) p-value= 0.963
 Correlation between variables Alanin and InfMetion, N= 31: Pearson= 0.06 CI=(-0.3, 0.41) p-value= 0.746
 ***** Correlation between variables Trip and Metion, N= 31: Pearson= 0.53 CI=(0.21, 0.74) p-value= 0.002
 ***** Correlation between variables Trip and Valin, N= 31: Pearson= 0.41 CI=(0.07, 0.67) p-value= 0.022
 ***** Correlation between variables Trip and Fenil, N= 31: Pearson= 0.5 CI=(0.18, 0.73) p-value= 0.004
 ***** Correlation between variables Trip and Isol, N= 31: Pearson= 0.46 CI=(0.13, 0.7) p-value= 0.009
 ***** Correlation between variables Trip and Leuc, N= 31: Pearson= 0.38 CI=(0.03, 0.65) p-value= 0.036
 Correlation between variables Trip and InfLeuc, N= 31: Pearson= -0.15 CI=(-0.48, 0.22) p-value= 0.429
 Correlation between variables Trip and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.21 CI=(-0.52, 0.16) p-value= 0.258
 ***** Correlation between variables Trip and InfTrip, N= 31: Pearson= 0.57 CI=(0.28, 0.77) p-value= 0.001
 Correlation between variables Trip and InfTiros, N= 31: Pearson= 0.09 CI=(-0.27, 0.43) p-value= 0.628
 Correlation between variables Trip and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.08 CI=(-0.28, 0.42) p-value= 0.667
 Correlation between variables Trip and InfHist, N= 31: Pearson= 0.1 CI=(-0.27, 0.44) p-value= 0.606
 Correlation between variables Trip and InfValin, N= 31: Pearson= -0.27 CI=(-0.57, 0.09) p-value= 0.144
 Correlation between variables Trip and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.25 CI=(-0.55, 0.12) p-value= 0.182
 Correlation between variables Trip and InfMetion, N= 31: Pearson= -0.08 CI=(-0.42, 0.28) p-value= 0.666
 ***** Correlation between variables Metion and Valin, N= 31: Pearson= 0.59 CI=(0.3, 0.78) p-value= 0
 ***** Correlation between variables Metion and Fenil, N= 31: Pearson= 0.61 CI=(0.32, 0.79) p-value= 0

***** Correlation between variables Metion and Isol, N= 31: Pearson= 0.68 CI=(0.43, 0.84) p-value= 0
 ***** Correlation between variables Metion and Leuc, N= 31: Pearson= 0.64 CI=(0.37, 0.81) p-value= 0
 Correlation between variables Metion and InfLeuc, N= 31: Pearson= 0.26 CI=(-0.11, 0.56) p-value= 0.161
 Correlation between variables Metion and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.12 CI=(-0.45, 0.25) p-value= 0.536
 Correlation between variables Metion and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.12 CI=(-0.46, 0.24) p-value= 0.513
 Correlation between variables Metion and InfTiros, N= 31: Pearson= 0.11 CI=(-0.25, 0.45) p-value= 0.55
 ***** Correlation between variables Metion and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.39 CI=(0.04, 0.65) p-value= 0.03
 Correlation between variables Metion and InfHist, N= 31: Pearson= 0.1 CI=(-0.27, 0.44) p-value= 0.608
 Correlation between variables Metion and InfValin, N= 31: Pearson= -0.06 CI=(-0.4, 0.3) p-value= 0.757
 Correlation between variables Metion and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.3 CI=(-0.59, 0.06) p-value= 0.099
 ***** Correlation between variables Metion and InfMetion, N= 31: Pearson= 0.52 CI=(0.21, 0.74) p-value= 0.003
 ***** Correlation between variables Valin and Fenil, N= 31: Pearson= 0.62 CI=(0.34, 0.8) p-value= 0
 ***** Correlation between variables Valin and Isol, N= 31: Pearson= 0.82 CI=(0.66, 0.91) p-value= 0
 ***** Correlation between variables Valin and Leuc, N= 31: Pearson= 0.91 CI=(0.82, 0.96) p-value= 0
 ***** Correlation between variables Valin and InfLeuc, N= 31: Pearson= 0.68 CI=(0.43, 0.83) p-value= 0
 Correlation between variables Valin and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.2 CI=(-0.52, 0.16) p-value= 0.269
 ***** Correlation between variables Valin and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.37 CI=(-0.64, -0.02) p-value= 0.039
 Correlation between variables Valin and InfTiros, N= 31: Pearson= 0.07 CI=(-0.29, 0.42) p-value= 0.691
 ***** Correlation between variables Valin and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.55 CI=(0.25, 0.76) p-value= 0.001
 Correlation between variables Valin and InfHist, N= 31: Pearson= -0.07 CI=(-0.42, 0.29) p-value= 0.689
 ***** Correlation between variables Valin and InfValin, N= 31: Pearson= 0.58 CI=(0.28, 0.77) p-value= 0.001
 ***** Correlation between variables Valin and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.51 CI=(-0.73, -0.2) p-value= 0.003
 Correlation between variables Valin and InfMetion, N= 31: Pearson= -0.19 CI=(-0.51, 0.18) p-value= 0.303
 ***** Correlation between variables Fenil and Isol, N= 31: Pearson= 0.64 CI=(0.37, 0.81) p-value= 0
 ***** Correlation between variables Fenil and Leuc, N= 31: Pearson= 0.65 CI=(0.39, 0.82) p-value= 0
 Correlation between variables Fenil and InfLeuc, N= 31: Pearson= 0.19 CI=(-0.18, 0.51) p-value= 0.312
 ***** Correlation between variables Fenil and InfFenil, N= 31: Pearson= 0.48 CI=(0.16, 0.72) p-value= 0.006
 Correlation between variables Fenil and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.3 CI=(-0.59, 0.06) p-value= 0.098
 Correlation between variables Fenil and InfTiros, N= 31: Pearson= 0.03 CI=(-0.33, 0.38) p-value= 0.89
 Correlation between variables Fenil and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.22 CI=(-0.14, 0.54) p-value= 0.225
 Correlation between variables Fenil and InfHist, N= 31: Pearson= -0.1 CI=(-0.44, 0.27) p-value= 0.609
 Correlation between variables Fenil and InfValin, N= 31: Pearson= -0.14 CI=(-0.47, 0.23) p-value= 0.451
 ***** Correlation between variables Fenil and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.49 CI=(-0.72, -0.16) p-value= 0.006
 Correlation between variables Fenil and InfMetion, N= 31: Pearson= -0.21 CI=(-0.52, 0.16) p-value= 0.259
 ***** Correlation between variables Isol and Leuc, N= 31: Pearson= 0.88 CI=(0.76, 0.94) p-value= 0
 ***** Correlation between variables Isol and InfLeuc, N= 31: Pearson= 0.59 CI=(0.3, 0.78) p-value= 0
 Correlation between variables Isol and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.22 CI=(-0.53, 0.15) p-value= 0.237
 Correlation between variables Isol and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.34 CI=(-0.62, 0.01) p-value= 0.06
 Correlation between variables Isol and InfTiros, N= 31: Pearson= 0.08 CI=(-0.28, 0.43) p-value= 0.656
 ***** Correlation between variables Isol and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.84 CI=(0.7, 0.92) p-value= 0
 Correlation between variables Isol and InfHist, N= 31: Pearson= -0.05 CI=(-0.4, 0.31) p-value= 0.771
 Correlation between variables Isol and InfValin, N= 31: Pearson= 0.21 CI=(-0.16, 0.52) p-value= 0.262
 ***** Correlation between variables Isol and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.37 CI=(-0.64, -0.02) p-value= 0.038
 Correlation between variables Isol and InfMetion, N= 31: Pearson= -0.09 CI=(-0.43, 0.28) p-value= 0.648
 ***** Correlation between variables Leuc and InfLeuc, N= 31: Pearson= 0.8 CI=(0.63, 0.9) p-value= 0
 Correlation between variables Leuc and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.21 CI=(-0.52, 0.16) p-value= 0.263
 ***** Correlation between variables Leuc and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.47 CI=(-0.71, -0.14) p-value= 0.008
 Correlation between variables Leuc and InfTiros, N= 31: Pearson= 0.02 CI=(-0.33, 0.38) p-value= 0.897
 ***** Correlation between variables Leuc and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.61 CI=(0.33, 0.79) p-value= 0
 Correlation between variables Leuc and InfHist, N= 31: Pearson= 0 CI=(-0.35, 0.36) p-value= 0.98

Correlation between variables Leuc and InfValin, N= 31: Pearson= 0.33 CI=(-0.02, 0.62) p-value= 0.066
 ***** Correlation between variables Leuc and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.47 CI=(-0.71, -0.14) p-value= 0.007
 Correlation between variables Leuc and InfMetion, N= 31: Pearson= -0.17 CI=(-0.5, 0.19) p-value= 0.349
 Correlation between variables InfLeuc and InfFenil, N= 31: Pearson= -0.33 CI=(-0.61, 0.03) p-value= 0.07
 ***** Correlation between variables InfLeuc and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.66 CI=(-0.82, -0.4) p-value= 0
 Correlation between variables InfLeuc and InfTiros, N= 31: Pearson= -0.12 CI=(-0.45, 0.25) p-value= 0.522
 ***** Correlation between variables InfLeuc and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.58 CI=(0.29, 0.78) p-value= 0.001
 Correlation between variables InfLeuc and InfHist, N= 31: Pearson= -0.03 CI=(-0.38, 0.32) p-value= 0.856
 ***** Correlation between variables InfLeuc and InfValin, N= 31: Pearson= 0.58 CI=(0.29, 0.78) p-value= 0.001
 Correlation between variables InfLeuc and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.31 CI=(-0.6, 0.05) p-value= 0.088
 Correlation between variables InfLeuc and InfMetion, N= 31: Pearson= -0.16 CI=(-0.49, 0.2) p-value= 0.377
 Correlation between variables InfFenil and InfTrip, N= 31: Pearson= -0.29 CI=(-0.58, 0.08) p-value= 0.118
 Correlation between variables InfFenil and InfTiros, N= 31: Pearson= -0.19 CI=(-0.51, 0.17) p-value= 0.299
 Correlation between variables InfFenil and InfIsol, N= 31: Pearson= -0.33 CI=(-0.61, 0.02) p-value= 0.067
 Correlation between variables InfFenil and InfHist, N= 31: Pearson= -0.25 CI=(-0.55, 0.12) p-value= 0.183
 Correlation between variables InfFenil and InfValin, N= 31: Pearson= -0.31 CI=(-0.6, 0.05) p-value= 0.088
 Correlation between variables InfFenil and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.18 CI=(-0.5, 0.19) p-value= 0.34
 Correlation between variables InfFenil and InfMetion, N= 31: Pearson= -0.16 CI=(-0.48, 0.21) p-value= 0.403
 Correlation between variables InfTrip and InfTiros, N= 31: Pearson= 0.03 CI=(-0.33, 0.38) p-value= 0.879
 ***** Correlation between variables InfTrip and InfIsol, N= 31: Pearson= -0.4 CI=(-0.66, -0.06) p-value= 0.024
 Correlation between variables InfTrip and InfHist, N= 31: Pearson= 0.06 CI=(-0.3, 0.41) p-value= 0.74
 ***** Correlation between variables InfTrip and InfValin, N= 31: Pearson= -0.38 CI=(-0.65, -0.03) p-value= 0.035
 Correlation between variables InfTrip and InfGlut, N= 31: Pearson= 0.2 CI=(-0.17, 0.51) p-value= 0.291
 Correlation between variables InfTrip and InfMetion, N= 31: Pearson= 0.09 CI=(-0.28, 0.43) p-value= 0.644
 Correlation between variables InfTiros and InfIsol, N= 31: Pearson= 0.02 CI=(-0.34, 0.37) p-value= 0.926
 Correlation between variables InfTiros and InfHist, N= 31: Pearson= -0.22 CI=(-0.53, 0.15) p-value= 0.236
 Correlation between variables InfTiros and InfValin, N= 31: Pearson= -0.05 CI=(-0.4, 0.31) p-value= 0.799
 Correlation between variables InfTiros and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.02 CI=(-0.37, 0.34) p-value= 0.922
 Correlation between variables InfTiros and InfMetion, N= 31: Pearson= -0.03 CI=(-0.38, 0.33) p-value= 0.893
 Correlation between variables InfIsol and InfHist, N= 31: Pearson= -0.14 CI=(-0.47, 0.23) p-value= 0.457
 Correlation between variables InfIsol and InfValin, N= 31: Pearson= 0.31 CI=(-0.05, 0.6) p-value= 0.09
 Correlation between variables InfIsol and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.17 CI=(-0.49, 0.2) p-value= 0.371
 Correlation between variables InfIsol and InfMetion, N= 31: Pearson= 0 CI=(-0.36, 0.35) p-value= 0.99
 Correlation between variables InfHist and InfValin, N= 31: Pearson= -0.2 CI=(-0.52, 0.16) p-value= 0.272
 Correlation between variables InfHist and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.01 CI=(-0.37, 0.34) p-value= 0.945
 Correlation between variables InfHist and InfMetion, N= 31: Pearson= 0.11 CI=(-0.25, 0.45) p-value= 0.554
 Correlation between variables InfValin and InfGlut, N= 31: Pearson= -0.24 CI=(-0.54, 0.13) p-value= 0.202
 Correlation between variables InfValin and InfMetion, N= 31: Pearson= -0.13 CI=(-0.46, 0.24) p-value= 0.489
 Correlation between variables InfGlut and InfMetion, N= 31: Pearson= 0.18 CI=(-0.19, 0.5) p-value= 0.345

