

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**AVALIAÇÃO DE COMPONENTES DA SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA À
FENÓTIPOS NEUROPSIQUIÁTRICOS UTILIZANDO METANÁLISE**

ORIENTANDA: LUIZA PRADO ROSA DE MATOS

ORIENTADOR: RENAN PEDRA DE SOUZA

BELO HORIZONTE - MG
JULHO - 2015

LUIZA PRADO ROSA DE MATOS

**AVALIAÇÃO DE COMPONENTES DA SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA À
FENÓTIPOS NEUROPSIQUIÁTRICOS UTILIZANDO METANÁLISE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como pré-requisito para obtenção do grau de Mestre em Genética.

Orientador: Renan Pedra de Souza

BELO HORIZONTE - MG

JULHO – 2015



Pós-Graduação em Genética
Departamento de Biologia Geral, ICB
Universidade Federal de Minas Gerais
Av. Antônio Carlos, 6627 - C.P. 486 - Pampulha - 31270-901 - Belo Horizonte - MG
e-mail: pg-gen@icb.ufmg.br FAX: (+31) - 3409-2570



**"Avaliação de componentes da susceptibilidade genética à fenótipos
neuropsiquiátricos utilizando metanálise"**

Luiza Prado Rosa de Matos

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Dr. Renan Pedra de Souza - Orientador
(UFMG)

Dr. João Vinicius Salgado
(UFMG)

Dr. Eduardo Martin Tarazona Santos
(UFMG)

Belo Horizonte, 31 de julho de 2015.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Minas Gerais e ao Instituto de Ciências Biológicas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética da UFMG, seus professores, funcionários e colegas.

À CAPES pelo apoio financeiro.

Ao meu orientador, Doutor Renan Pedra de Souza, pelos ensinamentos, oportunidade e apoio no desenvolvimento do projeto.

À minha colega, Cinthia V. N. Santana, pela disponibilidade em me ajudar.

À minha família pelo carinho e ajuda. Em especial aos meus pais, Augusto e Cristina, por acreditarem e investirem em mim, me dando forças para enfrentar os desafios de cada dia.

Aos meus irmãos, Natália e Frederico, por estarem ao meu lado durante esta jornada.

Aos meus amigos, pelo carinho, aconselhamentos e ajuda.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| LISTA DE FIGURAS..... | 06 |
| LISTA DE TABELAS..... | 07 |
| LISTA DE ABREVIATURAS..... | 08 |
| RESUMO..... | 09 |
| ABSTRACT..... | 10 |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 11 |
| 1.1. Medicina Personalizada e Biomarcadores..... | 11 |
| 1.2. Revisão Sistemática com Metanálise..... | 14 |
| 1.3. Farmacogenética da Resposta aos Antipsicóticos | 19 |
| 1.4. Infecção pelo HIV e Manifestação do HAND..... | 22 |
| 2. OBJETIVOS..... | 27 |
| 3. CAPÍTULO 1: Artigo “Meta-Analysis of Dopamine Receptor D1 Gene (DRD1) And Susceptibility To Antipsychotic Treatment Response”..... | 28 |
| 4. CAPÍTULO 2: Artigo “Association of apolipoprotein E (ApoE) polymorphisms and neurocognitive impairment in HIV-infected subjects: a meta-analysis”..... | 38 |
| 5. DISCUSSÃO..... | 52 |
| 6. CONCLUSÃO..... | 56 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 57 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Estimativas de efeito do tratamento de acordo com o tipo de desfecho clínico..... | 16 |
| Figura 2: Forest Plot (Metanálise da associação entre o polimorfismo rs4532 e resposta ao tratamento com antipsicóticos)..... | 17 |
| Figura 3: Funnel Plot. A) Funnel Plot simétrico - ausência de viés de publicação. B) Funnel Plot assimétrico -presença de viés. (estudos menores = círculos abertos)..... | 17 |

CAPÍTULO 1

| | |
|---|----|
| Figura 4: Nuvem de palavras do artigo apresentado neste capítulo..... | 28 |
| Figure 1: Meta-analysis of the association between the rs4532 polymorphism and antipsychotic treatment response: (A) G vs. A-allele (B) AA vs. G-allele. (C) GG vs. A-allele..... | 34 |
| Figure S1: Flow diagram of literature search..... | 36 |
| Figure S2: Meta-analysis of the association between the rs4532 polymorphism and clozapine response: (A) G vs. A-allele (B) AA vs. G-allele (C) GG vs. A-allele..... | 37 |

CAPÍTULO 2

| | |
|--|----|
| Figura 5: Nuvem de palavras do artigo apresentado neste capítulo..... | 38 |
| Figure 1: Forest plot presenting results of the ApoE E4 allele presence (event) frequency on subjects with and without clinically symptomatic neurocognitive impairment..... | 44 |
| Figure 2: Forest plot presenting results of the ApoE E4 allele presence (event) frequency on subjects with and without HAD..... | 45 |
| Figure S1: Funnel plot. (A) Studies included in the meta-analysis presented in Figure 1. (B) Studies included in the meta-analysis presented in Figure 2... | 48 |

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

| | |
|--|----|
| Table S1: Studies included in the meta-analysis..... | 35 |
|--|----|

CAPÍTULO 2

| | |
|---|----|
| Table 1: Studies included in the meta-analysis..... | 46 |
|---|----|

LISTA DE ABREVIATURAS

AAN: Academia Americana de Neurologia

ANI: Deficiência Neurocognitiva Assintomática

ApoE: Apolipoproteína

AZT: Zidovudina

BPRS: Escala de Avaliação Psiquiátrica Breve

BRCA1-2: Câncer de Mama 1-2

CCR5: Receptores de quimiona do tipo 5

CXCR4: Receptor de quimiocina CXC tipo 4

D1-D2: Receptor de dopamina do tipo 1-2

DP: Desvio Padrão

DR: Diferença de Risco

DRD1: Gene do receptor de Dopamina do Tipo 1

DRD2: Gene de receptor de Dopamina do Tipo 2

DMP: Diferença Média Padronizada

HAART: Terapia Antirretroviral Altamente Eficaz

HAD: Demência Associada ao HIV

HAND: Transtornos neurocognitivos associados ao HIV

HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana

MCMD: Transtorno Motor Cognitivo Menor

MD: Diferença Média

MND: Transtorno Neurocognitivo Menor

OR: Razão de Chance

PANSS: Escala de Sintomas Positivos e Negativos

PRISMA: Itens de Relatório Preferenciais para Revisões Sistemáticas e Metanálises

RR: Risco Relativo

SIDA: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

Tat: Proteína transativadora transcricional

RESUMO

INTRODUÇÃO: Transtornos neuropsiquiátricos são, predominantemente, doenças multifatoriais. A presença de heterogeneidade é um complicador no entendimento dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento destas doenças, na realização de diagnósticos e na escolha do tratamento adequado. A medicina personalizada, em conjunto com o desenvolvimento de biomarcadores, visa solucionar estes problemas. Sua aplicação auxilia na criação de medidas terapêuticas eficazes, tendo em vista as particularidades inerentes do indivíduo. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de polimorfismos do gene do receptor de dopamina D1 (DRD1) para ser utilizado como biomarcador para a resposta ao tratamento com antipsicóticos e a possibilidade do alelo E4 do gene da apolipoproteína E (ApoE) participar da manifestação do déficit cognitivo sintomático em pacientes com o vírus da imunodeficiência humana (HIV). **MÉTODOS:** Foi realizada uma revisão sistemática buscando estudos de associação genética entre (1) polimorfismos no DRD1 e resposta aos antipsicóticos e (2) o alelo E4 da ApoE e déficit cognitivo em pacientes com HIV. Dados epidemiológicos e clínicos foram extraídos e conduziu-se uma metanálise. **RESULTADOS:** Os resultados indicaram que não há associação entre o polimorfismo rs4532 do gene DRD1 e a resposta ao tratamento com antipsicóticos, nem com resposta ao tratamento monoterapêutico com clozapina. Foi observada uma associação entre o Alelo ApoE E4 com a disfunção cognitiva, clinicamente sintomática, em estudos que utilizaram a bateria de testes neuropsicológicos como instrumento de avaliação neuropsicológica mas nenhuma associação foi observada entre o alelo E4 da ApoE e o déficit cognitivo sintomático ou demência em pacientes com HIV, isoladamente, em estudos com outros métodos de avaliação clínica ou quando todos os grupos foram combinados. Os resultados demonstram que os polimorfismos genéticos estudados não estão associados aos fenótipos neuropsiquiátricos avaliados, não devendo, portanto, serem utilizados como biomarcadores.

Palavras-chave: receptor de dopamina, antipsicóticos, farmacogenética, apolipoproteína E, transtorno cognitivo associado ao HIV.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Neuropsychiatric disorders are predominantly multifactorial diseases. The presence of heterogeneity is a complicating factor in understanding the mechanisms involved in the development of these diseases, performing diagnostics and selecting an appropriate treatment. Personalized medicine, in conjunction with the development of biomarkers, aims to solve these problems. Its application assists in establishing effective therapeutic measures, taking into account inherent characteristics of the individual. This study aimed to evaluate the potential of, dopamine receptor gene D1 (DRD1), rs4532 polymorphism to be used as a biomarker for antipsychotics treatment response and the potential of apolipoprotein E E4 allele (ApoE E4) to participate in the risk of neurocognitive disorder manifestation in patients with the human immunodeficiency virus (HIV). **METHODS:** A systematic review with meta-analysis was performed seeking to evaluate the existence of a genetic association between: DRD1 polymorphism and antipsychotics treatment response and (2) ApoE E4 allele and the manifestation and cognitive disorders in patients with HIV. Epidemiological and clinical data were extracted and a meta-analysis was conducted. **RESULTS:** Our results indicated no association between DRD1 rs4532 polymorphism and antipsychotic treatment response, nor with clozapine treatment response. An association was observed between ApoE E4 allele with, clinically symptomatic, cognitive impairment in studies that used neuropsychological test battery as a neuropsychological evaluation tool, but no association was observed between ApoE E4 allele with, symptomatic, cognitive impairment or dementia in patients with HIV, individually, in studies with other clinical evaluation methods or when all groups were combined. The results show that the genetic polymorphisms studied are not associated with the evaluated neuropsychiatric phenotypes, therefore, they should not be used as biomarkers.

Keywords: dopamine receptor, antipsychotics, pharmacogenetics, apolipoprotein E, HIV cognitive impairment.

1. INTRODUÇÃO

1.1. MEDICINA PERSONALIZADA E BIOMARCADORES

A heterogeneidade é uma realidade na prática clínica permeando a susceptibilidade à manifestação de uma doença, o estabelecimento de um diagnóstico, a caracterização de um prognóstico ou mesmo a prescrição terapêutica. De uma forma simplificada, esta heterogeneidade observada pode ser atribuída a dois grandes grupos de fatores: um ambiental e um genético. A heterogeneidade clínica é geralmente vista como um dificultador para a prática clínica embora exista uma área que busca reverter este cenário: a medicina personalizada ou individualizada. Esta área visa utilizar parte desta variabilidade interindividual como aliado na realização de atividades na prática clínica. As descobertas desta área contribuem com o direcionamento adequado na prestação de serviços de saúde, reduzindo custos, facilitando o diagnóstico, evitando tratamentos com pouca ou nenhuma eficácia e reduzindo a possibilidade do aparecimento de efeitos colaterais. O desenvolvimento da medicina personalizada está diretamente relacionado com o desenvolvimento de biomarcadores.

Biomarcadores são características mensuráveis que refletem processos biológicos, auxiliam na identificação de indivíduos em risco, indicam a progressão natural de uma doença e a resposta a medidas terapêuticas ou a exposições ambientais. Um biomarcador ideal deve ser reproduzível, estável e acessível sendo uma indicação objetiva de um estado clínico, não estando necessariamente relacionado aos sintomas apresentados pelos pacientes, e podendo variar sem influenciar o bem-estar[1]. Os biomarcadores podem ser características genéticas, bioquímicas, fisiológicas ou anatômicas[2]. Os marcadores genéticos apresentam a vantagem de sofrerem poucas influências ambientais e serem facilmente mensuráveis. Estes são sequências de DNA, encontradas em locais específicos nos cromossomos, associadas a características particulares. A descoberta, e estudo destes, contribui com a compreensão dos mecanismos envolvidos na manifestação e curso clínico das doenças. Este fator é de especial importância para o campo da neuropsiquiatria uma vez que os marcadores genéticos podem ajudar a esclarecer a fisiopatologia das doenças psiquiátricas, e desse modo auxiliar no diagnóstico, definir estratégias de tratamento e encontrar alvos para o desenvolvimento de novas terapias.

Doenças neuropsiquiátricas são fenótipos complexos que manifestam de forma heterogênea seja em relação aos seus fatores de risco, grupos de sintomas presentes em suas manifestações clínicas e opções terapêuticas. O diagnóstico geralmente é estabelecido através da anamnese juntamente com exames neurológicos, neuropsicológicos e análise do estado mental dos pacientes. Os biomarcadores no contexto de neuropsiquiatria podem colaborar não somente no estabelecimento de um diagnóstico, mas também ajudar a escolher o melhor esquema de tratamento para o paciente ou prever o prognóstico[3]. Existem certas dificuldades no desenvolvimento e aplicação de novos biomarcadores. Primeiramente, ainda é limitado o conhecimento da fisiopatologia da maioria dos transtornos neuropsiquiátricos o que dificulta a identificação de marcadores de interesse. Uma grande parte dos transtornos neuropsiquiátricos possui um caráter multifatorial e, por isso, são mediadas por um número considerável de variações genéticas, cada uma delas contribuindo parcialmente com o aumento do risco[4]. Grande parte dos transtornos mentais são poligênicos, tornando improvável o desenvolvimento de um biomarcador que funcione como método único de diagnóstico. Contudo alguns desses genes podem conferir uma susceptibilidade maior para o desenvolvimento da doença ou para o aparecimento e gravidade de determinados sintomas [3]. O uso de biomarcadores genéticos na identificação de pacientes com risco desenvolver doenças, também, levanta questionamentos éticos. A presença deste marcador de risco nem sempre significa que o indivíduo irá desenvolver a doença, uma vez que este desenvolvimento depende de outros fatores, como a interação genética e questões ambientais. Mesmo quando há a certeza da manifestação da característica, a testagem pode não ser uma opção muito utilizada como visto em relação a Doença de Huntington que é claramente monogênica mas em que menos de 20% dos indivíduos com histórico familiar da doença optam por verificar a presença do biomarcador [5]. Tal número reduzido pode ser explicado, por exemplo, pela inexistência de métodos profiláticos ou mesmo terapêutico eficazes para a doença de Huntington.

Apesar dos recentes avanços no campo da neuropsiquiatria, ainda não existem biomarcadores, genéticos ou não, aplicados na prática clínica para grande parte dos transtornos mentais [6]. Todavia existe um crescente interesse no estudo e desenvolvimento de biomarcadores, existindo um grande potencial na área [7-9]. Biomarcadores já são amplamente utilizados na prática clínica em outras áreas, contribuindo com a adoção de estratégias de prevenção, tratamento e entendimento das doenças [10]. Por exemplo, temos o uso de biomarcadores na determinação do risco para o desenvolvimento de câncer e para a doença de Alzheimer. Certas

variações nos genes BRCA1 e BRCA2 são biomarcadores genéticos para o câncer de mama e sua popularidade e precisão levam diversas mulheres com histórico familiar de câncer de mama a realizarem testes genéticos para mutações nestes genes [11]. A presença do alelo Apoe4 é um biomarcador de risco para o desenvolvimento da Doença de Alzheimer, e para o aparecimento de 5 a 15 anos mais cedo dos sintomas [12]. Uma forma importante de se avaliar a utilidade clínica de um marcador é, então, a realização de uma revisão sistemática seguida de meta-análise a fim de confirmar se há ou não associação entre o biomarcador e o fenótipo estudado.

1.2. REVISÃO SISTEMÁTICA COM METANÁLISE

Estudos primários são estudos originais observacionais ou experimentais, que constituem a maior parte das publicações científicas. Frequentemente estes trabalhos acabam por investigar a mesma questão em contextos distintos, podendo utilizar diferentes metodologias, populações e tamanhos amostrais, muitas vezes chegando a resultados discordantes. Essas variáveis e conflitos acabam por prejudicar a aplicação prática dos resultados dos estudos primários. Uma solução para este problema é a utilização de estudos secundários, ou meta-estudos, que visam estabelecer conclusões a partir de estudos primários, obtendo resultados mais precisos e confiáveis.

A revisão sistemática é um estudo secundário que reúne, em um único trabalho, todos os recentes avanços e resultados de uma área de pesquisa. Os estudos abordados pela revisão devem satisfazer os critérios de elegibilidade pré-especificados para responder uma questão proposta. A busca pelos artigos deve ser realizada de forma sistematizada e as informações obtidas devem ser organizadas, criticamente avaliadas e sintetizadas. A revisão sistemática pode ser apoiada pela metanálise, que utiliza de métodos estatísticos para analisar informações da literatura. A metanálise realiza uma síntese estatística dos dados e resultados numéricos de diferentes trabalhos com objetivo de determinar o efeito estimado de uma intervenção. Com a combinação de diversos estudos, a revisão sistemática com metanálise permite eliminar o problema de pequenos tamanhos amostrais e pouca força estatística dos estudos primários e ajuda a dar sentido aos resultados conflitantes [13].

A primeira metanálise foi realizada em 1904, pelo pesquisador Karl Pearson e publicada no *British Medical Journal*. Subsequentemente diversos estudos foram publicados com o objetivo de padronizar a metodologia de revisão e análise estatística. As revisões com metanálise começaram a ser utilizadas sistematicamente na área da saúde ao final da década de 80, alcançando popularidade na década de 90, após a fundação da Colaboração Cochrane em 1993 [14]. A Colaboração Cochrane é uma Organização Não Governamental sem fins lucrativos, que tem como objetivos preparar, manter e promover acesso a revisões sistemáticas, sendo referência na área. É constituída por contribuidores independentes de mais de 130 países, estes são pesquisadores, profissionais, pacientes e pessoas interessadas em saúde, que ajudam a produzir informações confiáveis e acessíveis. Desde a sua

criação, a colaboração contribuiu na elaboração de protocolos de pesquisa, métodos de análise de dados e avaliação da qualidade de estudos. Outra ferramenta criada para auxiliar no desenvolvimento de revisões sistemáticas com metanálise, é o PRISMA (Itens de Relatório Preferenciais para Revisões Sistemáticas e Metanálises). O PRISMA é composto por um diagrama de fluxo para a seleção de artigos, dividido em quatro fases (identificação, triagem, elegibilidade e inclusão), e por uma lista, com 27 itens, de verificação do conteúdo, incluindo o título, resumo, métodos, resultados, discussão e financiamento [15].

A elaboração de revisões sistemáticas com metanálise deve seguir um conjunto de métodos de seleção e análise de dados estabelecidos antes do seu início para que obtenha uma boa qualidade e evitar o viés de publicação [14]. O primeiro passo constitui na elaboração da pergunta da pesquisa, que irá definir a elaboração do protocolo para todas as seguintes etapas da revisão sistemática: pesquisa bibliográfica, extração de dados, avaliação da heterogeneidade e análise estatística. A pesquisa bibliográfica deve ser abrangente de forma a obter, praticamente, todos os estudos primários relevantes. A estratégia de busca, normalmente, deve compreender investigação em bases de dados eletrônicas, citações em revisões, referenciamento cruzado e comunicação com pesquisadores da área de interesse [15, 16]. Após a pesquisa, os estudos encontrados devem passar por uma análise criteriosa para determinar se satisfazem os critérios de inclusão previamente definidos [13]. É recomendado que a extração dos dados seja realizada por dois pesquisadores, de forma independente, seguindo um formulário padronizado. Os dados a serem extraídos devem incluir informações básicas sobre o estudo (autor e data de publicação), participantes, métodos utilizados, intervenção, desfechos clínicos e resultados obtidos [16]. No caso de faltarem dados nas publicações, os autores destas deverão ser contactados. A coleta de dados, realizada de modo eficaz, evita retornos frequentes aos estudos originais.

A variabilidade encontrada entre os estudos selecionados para uma revisão sistemática com metanálise pode ser classificada como clínica (participantes, intervenções e desfecho clínico), metodológica (desenho do estudo e risco de viés) ou estatística. A variabilidade estática, ou heterogeneidade, pode ser uma consequência da variabilidade clínica e/ou metodológica, erro na escolha das medidas de efeito ou pelo acaso. É observada quando os efeitos da intervenção, entre os estudos primários, variam mais do que o esperado pelo erro aleatório. A presença, ou não, da heterogeneidade é o fator determinante na escolha entre o método fixo ou aleatório para a realização da metanálise. O método fixo é utilizado quando a heterogeneidade

presente entre os estudos não é significativa e o método aleatório, caso contrário. No método fixo presume-se que o tamanho do efeito é único e que a variabilidade entre estudos se deve a variações ao acaso [17].

As análises estatísticas, também, dependem do tipo de desfechos clínicos dos estudos primários, que podem ser classificados como dicotômicos ou contínuos. Para os desfechos dicotômicos os dados necessários para a análise são o número de eventos e o tamanho da amostra em cada grupo. As medidas de efeitos mais comuns utilizadas são a razão de chance e risco relativo. Os desfechos contínuos necessitam da média, desvio padrão e tamanho da amostra, em cada grupo. A medida de efeito mais frequentemente utilizada é a diferença média padronizada. Nos dois casos, o resultado final da metanálise é uma média ponderada do efeito do tratamento (Figura 1) [17].

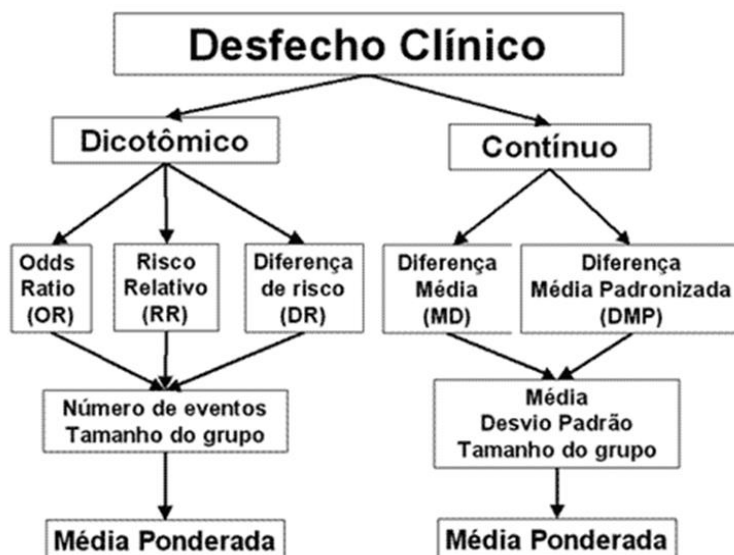


Figura 1: Estimativas de efeito do tratamento de acordo com o tipo de desfecho clínico. (Adaptado de Curso de Revisão Sistemática e Metanálise da UNIFESP)

O forest plot é a representação gráfica da metanálise. Na figura 2, os estudos ou coortes são representados por uma linha horizontal com um sinal no centro. A posição do sinal representa a medida de efeito do estudo e o seu tamanho o peso de cada amostra em relação às outras. O tamanho da linha está diretamente relacionada com o intervalo de confiança da estimativa. O losango é a representação da medida de efeito da metanálise (centro), e a sua largura é o intervalo de confiança. A linha vertical representa a ausência de efeito, caso um intervalo de confiança toque nesta linha, significa que o estudo não encontrou diferença entre as intervenções [17].

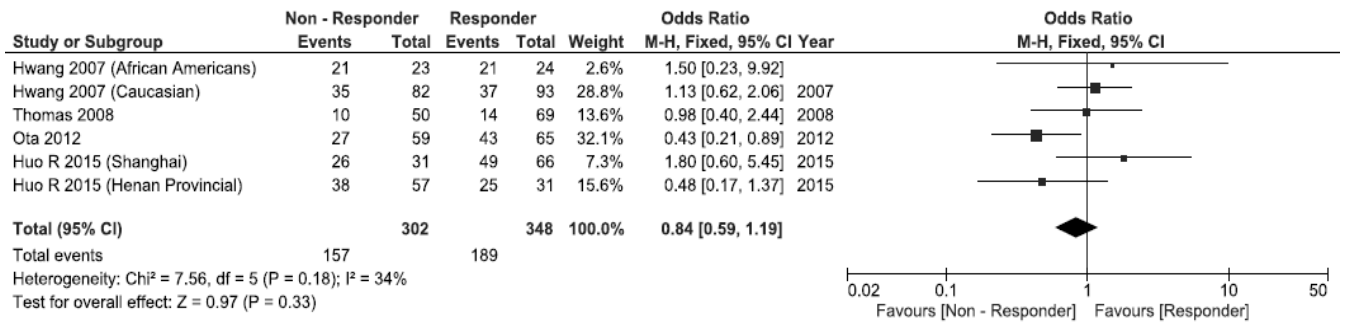


Figura 2: Representação gráfica do resultado de metanálise através do forest plot

A verificação do viés de publicação pode ser realizada por meio do gráfico de Funil. O gráfico de funil é um gráfico de dispersão simples das estimativas de efeito da intervenção dos estudos primários contra alguma medida do seu tamanho ou precisão de cada estudo. O desenho do gráfico, normalmente, apresenta as estimativas de efeito na escala horizontal e a medida do tamanho do estudo sobre o eixo vertical. Essa representação faz com que o gráfico se assemelhe a um funil invertido na ausência de viés, com as estimativas de efeito de estudos pequenos espalhadas na região inferior do gráfico, afunilando na medida em que o tamanho dos estudos aumenta (Figura 3.A). Um funil assimétrico pode ser um indicativo de viés de publicação (Figura 3.B), contudo podem existir outras razões para a presença da assimetria, como baixa qualidade metodológica, heterogeneidade ou acaso [18].

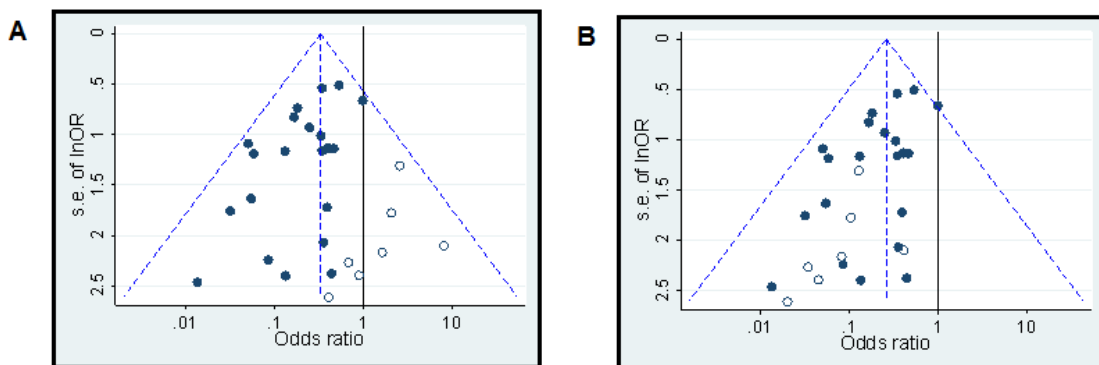


Figura 3: Gráfico de Funil. A) Gráfico de Funil simétrico - ausência de viés de publicação. B) Gráfico de Funil assimétrico -presença de viés. (Círculos abertos: estudos menores. Círculos fechados: estudos maiores) (adaptado de Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions [17])

A medicina baseada em evidências é a união entre pesquisa científica e a prática clínica. Tem como objetivo aperfeiçoar a tomada de decisão sobre o cuidado de pacientes, utilizando provas científicas bem concebidas a partir de uma pesquisa sistemática. A medicina baseada em evidência visa o tratamento efetivo, eficiente e seguro. O tratamento deve ser capaz de funcionar, não somente em ambientes controlados, como no mundo real. Deve ser acessível, tanto financeiramente quanto na facilidade de aplicação, e apresentar uma baixa probabilidade de aparecimento de efeitos adversos. Na escala hierárquica dos níveis de evidências, as revisões sistemáticas com ou sem metanálise são consideradas o maior nível. São seguidas pelos estudos clínicos aleatórios, pelos estudos de coorte, caso-controle e séries de caso. Deste modo, a revisão sistemática com metanálise, realizada de forma adequada, é uma ferramenta fundamental na transformação da informação em conhecimento científico. Seu uso permite analisar as diferenças metodológicas que expliquem as inconsistências e conflitos entre estudos primários, avaliar a qualidade destes e propor padrões para futuras pesquisas. Os resultados, obtidos por estes estudos secundários, são essenciais para a tomada de decisões terapêuticas, proporcionando a adoção de novas práticas clínicas e prevenindo o uso inadequado ou prejudicial de certas intervenções. Neste trabalho, esta técnica foi utilizada para avaliar o potencial do polimorfismo rs4532 do gene do receptor de dopamina D1 (DRD1) ser utilizado como biomarcador para a resposta ao tratamento com antipsicóticos e o alelo E4 do gene da apolipoproteína E (ApoE E4) participar do risco à manifestação do transtorno neurocognitivo associado ao vírus da imunodeficiência humana (HIV) conhecido como HAND.

1.3. FARMACOGENÉTICA DA RESPOSTA AOS ANTIPSICÓTICOS

A esquizofrenia é um transtorno psicótico maior (ou um grupo de transtornos) que usualmente aparece na fase mais tardia da adolescência ou no início da idade adulta, sendo esta uma doença relativamente comum. Sua prevalência ao longo da vida é de 0,5-1% na população geral, mas essa estimativa pode variar de acordo com a metodologia utilizada nos diferentes estudos [19]. Desde a sua introdução no mercado farmacêutico, os antipsicóticos tornaram-se indispensáveis no tratamento das psicoses, especialmente no da esquizofrenia [20]. Seu uso levou a uma redução nas taxas de internação, melhorou significativamente a qualidade de vida dos pacientes e o prognóstico das doenças. O desenvolvimento desta nova classe de fármacos proporcionou um avanço significativo da compreensão da neurobiologia e farmacoterapia das psicoses, com destaque a elaboração da teoria dopaminérgica da esquizofrenia. A teoria postula que o principal mecanismo de atuação dos antipsicóticos é a inibição da função dopaminérgica [21].

O primeiro antipsicótico, a clorpromazina, foi introduzida na prática clínica em 1952, na França. O entendimento do seu mecanismo de ação na década de 60 resultou no desenvolvimento de diversos antipsicóticos, que posteriormente ficaram conhecidos como típicos ou de primeira geração [22]. Essa classe de antipsicóticos é caracterizada pela alta afinidade de ligação *in vivo* com receptores de dopamina do tipo 2 (D2), sendo esse potencial de ligação diretamente relacionado a eficácia clínica de cada droga desse grupo [23]. Os antipsicóticos típicos são significativamente eficazes na redução dos sintomas positivos da esquizofrenia, porém são minimamente efetivos no tratamento dos sintomas cognitivos e negativos, não atuando na diminuição do índice de suicídio e na disfunção social [24]. Os benefícios dos antipsicóticos de primeira geração foram ofuscados pela elevada propensão de induzir efeitos extrapiramidais, tal como a discinesia tardia, em pelo menos 25% dos pacientes, limitando o seu uso [25, 26].

A clozapina foi o primeiro antipsicótico atípico ou de segunda geração. Sua introdução na prática clínica ocorreu na década de 60, contudo sua utilização foi limitada devido a preocupações com a agranulocitose induzida por drogas. Com a comprovação de sua eficácia e o estabelecimento de um sistema de monitoramento de reações adversas, a clozapina foi reintroduzida ao final da década de 90. Motivados pelo sucesso do tratamento, diversos antipsicóticos atípicos foram sucessivamente

introduzidos no mercado. Os antipsicóticos atípicos se caracterizam por atuar, principalmente, como antagonista dos receptores de serotonina do tipo 2A, além de atuar como antagonista dos receptores de dopamina do tipo 2. Os antipsicóticos atípicos também podem apresentar diferentes graus de afinidade aos receptores de dopamina, serotonina, acetilcolina adrenalina/noradrenalina e histamina) [27, 28]. . Esta classe de antipsicóticos apresenta uma menor incidência de efeitos secundários motores, sendo associados a maiores riscos de desequilíbrio metabólicos, aumentando a probabilidade de ganho de peso e de desenvolvimento de diabetes [29].

Embora o tratamento das psicoses desfrute de uma vasta seleção de medicamentos, utilizados em conjunto com terapias e ajustes sociais, sua aplicação ainda enfrenta dificuldades [29]. As psicoses podem se manifestar de forma heterogênea, variando tanto nos sintomas quanto na intensidade destes [30]. A complexidade dessas doenças dificulta os seus diagnósticos e na determinação do melhor tratamento para cada indivíduo [31]. A resposta ao tratamento também se dá de forma heterogênea, dificultando a avaliação da eficácia dos medicamentos. A determinação da existência de uma resposta deve considerar diferentes aspectos psicopatológicos, o impacto na qualidade de vida e no funcionamento social [32]. Diferentes escalas de avaliação psicopatológicas foram elaboradas e são utilizadas para avaliar a presença e quantificar sintomas, sendo as mais utilizadas a Escala de Sintomas Positivos e Negativos (PANSS) e a Escala de Avaliação Psiquiátrica Breve (BPRS) [33, 34]. Para que um paciente seja considerado respondedor ao tratamento é necessário que ele obtenha uma redução considerável no resultado de uma das escalas [35]. Estima-se que cerca de 80% dos pacientes com esquizofrenia respondam inicialmente ao tratamento. Destes, 30%, eventualmente, relapsam durante a manutenção e alguns desenvolvem efeitos colaterais graves que levam a interrupção da medicação [36]. Cerca de 30% dos pacientes são considerados resistentes ao tratamento ou refratários, apresentando persistência dos sintomas positivos de moderada a grave intensidade [30].

Diversos resultados mostram que a resposta a antipsicóticos pode ter um componente genético. A história da farmacogenética inicia-se na década 1950 após Arno Motulsky enunciar que: “traços herdados poderiam explicar as diferenças tanto no efeito das drogas quanto na presença de efeitos colaterais” [37], e evoluiu paralelamente com a história da genética. Sabe-se que a variabilidade genética desempenha um papel fundamental na resposta ao tratamento e na susceptibilidade aos efeitos colaterais [38]. A abordagem farmacogenética permite um melhor entendimento de como essa variabilidade pode influenciar na farmacocinética e

farmacodinâmica dos antipsicóticos, tendo sido aplicada com sucesso em outras áreas [39].

Visando melhorar a eficácia no tratamento das psicoses, diferentes estudos buscam associar genes e alelos específicos a diferentes respostas aos antipsicóticos [40]. Por ser um alvo comum a todos os antipsicóticos [23], acredita-se que o gene do receptor de dopamina do tipo 2 (DRD2) esteja diretamente relacionado com a resposta ao tratamento. Vários trabalhos buscaram associar variações nesse gene com a eficácia do tratamento com antipsicótico, mas existem empecilhos na transformação da informação obtida nos estudos em conhecimento aproveitável na prática clínica. Estes estudos apresentam resultados discordantes, tamanho amostral pequeno e diferenças metodológicas que inibem a sua utilização. Em 2010 foi realizada a primeira metanálise com o objetivo de averiguar uma possível associação entre a variação genética do gene DRD2 a resposta a drogas antipsicóticas [41]. Neste estudo, houve associação entre o polimorfismo de inserção e deleção -141C à uma pior resposta clínica ao tratamento com antipsicóticos, enquanto o polimorfismo Taq1A não apresentou qualquer associação.

O gene do receptor de dopamina do tipo 1 (DRD1) é outro gene de interesse para a compreensão dos mecanismos de resposta aos antipsicóticos. O DRD1, encontrado no cromossomo 5q35.2, codifica o receptor de dopamina mais abundantes no sistema nervoso central, o tipo 1 (D1). O interesse por este gene está ainda relacionado com a clozapina uma vez que este é o antipsicótico de primeira escolha para os pacientes refratários [42] e apresenta maior afinidade pelos receptores de dopamina D1 em comparação a outros antipsicóticos [43]. Um estudo em pacientes com esquizofrenia refratária mostrou que a resposta ao tratamento com clozapina está diretamente relacionada ao genótipo do DRD1, mais especificamente ao polimorfismo rs4532 [44]. Posteriormente, diversos estudos buscaram comprovar a associação entre o alelo rs4532 do gene DRD1 com a resposta ao tratamento com antipsicóticos, não se limitando a clozapina e apresentaram resultados conflitantes [45-48]. Logo, faz-se necessária a realização de uma revisão sistemática com metanálise para avaliar esta associação.

1.4. INFECÇÃO PELO HIV E MANIFESTAÇÃO DO HAND

O HIV surgiu como um dos maiores riscos a saúde humana há mais de 30 anos e ainda desafia profissionais de saúde, tanto na assistência quanto na pesquisa, a combater seus efeitos devastadores. O HIV é uma das maiores causas de incapacidade global [49, 50]. O resultado na faixa de 30 a 44 anos é particularmente alarmante uma vez que é a faixa de maior produtividade causando um enorme custo pessoal e econômico mundial. Estima-se que 35,3 milhões de pessoas estavam infectadas com o HIV em 2012 [51]. A imunodeficiência causada pelo HIV ocorre através da depleção de grupos de células do sistema imune. O principal alvo do HIV são os linfócitos CD4 ativados e sua entrada acontece através da interação com CD4 e receptores de quimiona do tipo 5 (CCR5) e o receptor de quimiocina CXCR4 tipo 4 (CXCR4). Outras células que produzem CD4 e receptores de quimiocinas podem ser também infectadas como, por exemplo, monócitos, macrófagos e células dendríticas [52]. Apesar da grande quantidade de pesquisa realizada nos últimos 25 anos, o mecanismo exato associado a fisiopatologia da infecção do HIV e da imunossupressão ainda é pouco compreendida. Um fator que dificulta os estudos nesta área é a grande heterogeneidade quanto ao curso da imunossupressão e as ações do HIV em outros sistemas. Nota-se que uma série de eventos clínicos anteriormente não relacionados a infecção com HIV podem ser explicados através da ativação de células específicas pelo vírus. Tais eventos tornam-se cada vez mais relevantes uma vez que há uma maior longevidade entre os pacientes infectados e estes eventos, embora não necessariamente impliquem em risco de vida, estão seguramente associados a uma redução da qualidade de vida e bem estar [53-55].

Não existe cura para a infecção pelo HIV, porém o tratamento com drogas antirretrovirais mostra-se efetivo no controle da replicação viral e na progressão da doença. A primeira terapia antirretroviral foi introduzida em 1987, com o uso da droga zidovudina (AZT) que é um inibidor da transcriptase reversa. Este medicamento tornou-se incapaz de inibir completamente a replicação do vírus, além de apresentar diversos efeitos colaterais e alta probabilidade de perder a eficácia devido ao desenvolvimento de resistência pelo HIV. Desde meados da década de 1990 o tratamento preconizado consiste de uma combinação de pelo menos três drogas antirretrovirais ("terapia antirretroviral altamente eficaz" ou HAART) que inibem a replicação do HIV e reduzem a probabilidade do desenvolvimento de resistência do vírus. O tratamento com HAART é capaz de reduzir a carga viral a níveis

indetectáveis, proporcionando o fortalecimento do sistema imune e, conseqüentemente, reduzindo o aparecimento de infecções oportunistas. A introdução de HAART melhorou a qualidade de vida e reduziu drasticamente a morbidade e mortalidade da população infectada.

Alvos celulares do HIV fora do sistema imune já foram descritos há algumas décadas [49]. Entre estes grupos de células estão as células epiteliais e os astrócitos que podem ser infectados por vias independentes de CD4 [56]. Embora no passado se acreditasse que estas células fossem capazes de expressar genes do HIV, mas não produzi-lo, há evidência que mostram o contrário. A expressão subsequente de genes do HIV nestas células tem uma função importante na fisiopatologia de fenótipos clínicos secundários observados nestes pacientes como, por exemplo, o transtorno neurocognitivo associado ao HIV (relacionado aos astrócitos) e a nefropatia (relacionada as células epiteliais) [52, 53, 55, 56]. Os efeitos do HIV sob a dinâmica astrocítica e os efeitos sob o sistema nervoso central são de particular interesse para o nosso grupo de pesquisa uma vez que estes podem explicar as alterações clínicas que são objeto de estudo deste projeto.

A entrada do HIV no cérebro acontece através da infecção de monócitos e linfócitos que atravessam a barreira hematoencefálica através de um mecanismo chamando de "cavalo de Tróia" [50]. Após atravessar a barreira, monócitos infectados podem se tornar macrófagos perivascularres. Tais macrófagos, quando ativados, e células da micróglia podem replicar o HIV e expressar moléculas neurotóxicas, tais como mediadores solúveis do sistema imune, e com isto ativar astrócitos e outros grupos celulares. Os astrócitos são um componente importante da barreira hematoencefálica por estarem próximos das células endoteliais da microvasculatura cerebral. Quando ativados, os astrócitos podem aumentar a permeabilidade da barreira e a migração de monócitos e linfócitos. Além disto, uma hiperativação astrocítica pode causar um aumento do glutamato, o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central, e outras neurotoxinas no espaço extracelular que causam dano neuronal, um dos passos que podem explicar as alterações neurocognitivas observadas nestes pacientes. É importante notar que raramente encontra-se infecção pelo HIV em neurônios embora proteínas virais como a proteína transativadora transcricional (Tat) seja um potente modulador da expressão gênica neuronal [57, 58].

Uma série de manifestações clínicas neurológicas já foram descritas em pacientes com HIV [59]. A natureza destas é muito variada e qualquer parte do

neuroeixo pode ser acometida e podem incluir distúrbios emocionais, motores ou comportamentais como, por exemplo, depressão, ansiedade, transtornos do sono, mania e psicose. O comprometimento cognitivo pode ou não ser acompanhado de disfunção motora, comportamental ou ambas [59]. O início das alterações cognitivas é insidioso e em seus estágios iniciais o paciente pode queixar de dificuldade de concentração, apatia e lentidão mental; sintomas que podem ser confundidos com depressão. Nos estágios mais tardios, a síndrome progride aparecendo alterações mais específicas de perda de memória, dificuldade de leitura e alterações da personalidade associadas à lentidão motora [60]. A variabilidade também é notória quanto a gravidade da manifestação uma vez que pode ser observado desde um transtorno cognitivo leve e dificuldades motoras até demência grave associada ao HIV. Embora o grau de comprometimento cognitivo seja variável em pacientes com HIV, este transtorno pode afetar de maneira significativa a realização de atividades cotidianas, aderência a terapia antiretroviral e a qualidade de vida do paciente [61, 62].

A caracterização clínica do transtorno cognitivo em pacientes com HIV mudou ao longo das últimas décadas. Em 1986 foi introduzido o termo Complexo de Demência da SIDA, para denominar a demência associada ao HIV em conjunto com desordens motoras. Subsequentemente ocorreram novas tentativas de descrever e nomear as manifestações neurocognitivas associadas ao HIV. Com o objetivo de chegar a um consenso a Academia Americana de Neurologia (AAN) publicou, em 1991, um critério de diagnóstico e terminologia para a doença. Adotaram o termo transtorno cognitivo/motor associado ao HIV e definiram dois níveis de comprometimento neurocognitivo: demência associada ao HIV (HAD) e transtorno motor cognitivo menor (MCMD) [63]. Em decorrência dos avanços obtidos com o tratamento combinado de terapias antirretrovirais (HAART), o critério desenvolvido pela AAN foi revisado e atualizado em 2007 (critério de Frascati). O termo HAND foi adotado para todo o espectro da doença neurológica; uma nova categoria de comprometimento neurocognitivo foi acrescentada, a deficiência neurocognitiva assintomática (ANI) e ocorreu alteração do nível MCMD para transtorno neurocognitivo menor (MND), além de se manter a categoria HAD [59].

Apesar da existência de um critério de diagnóstico recente, este ainda sofre dificuldades. A nova categoria, ANI, foi incluída com base na observação de que certos indivíduos têm demonstráveis transtornos cognitivos nos testes neuropsicológicos sem qualquer anormalidade no funcionamento da vida diária. Devido sua natureza assintomática, ANI pode ser diagnosticado equivocadamente, já que indivíduos saudáveis podem também experimentar alterações em suas

capacidades neurocognitivas. Outra dificuldade encontrada se deve a alterações no comprometimento neurocognitivo em pacientes soropositivos ao longo do tempo. Diferentes estudos demonstraram a presença de remissão, progressão ou flutuações das manifestações, alterando o nível de HAND e criando a necessidade de monitoramento. Ainda não é possível definir se essas flutuações são influenciadas pelo tratamento antirretroviral [59].

Assim como visto em relação a morbidade e mortalidade associada a SIDA, o tratamento com HAART influenciou a prevalência e a gravidade do HAND. Enquanto os resultados relativos a incidência sejam contraditórios [52, 64, 65], sabe-se que as alterações neurocognitivas associadas ao HIV continuam prevalentes, sendo observadas em, ao menos, um terço dos indivíduos infectados. Em contra partida, a literatura apresenta um consenso quanto à redução da prevalência de HAD que hoje afetaria somente 2% dos soropositivos enquanto MND afeta 12% e ANI outros 33% dos infectados pelo HIV [65].

A caracterização do HAND ainda não utiliza testes laboratoriais ou exames de imagem em seu diagnóstico. Tais análises poderiam não somente facilitar a identificação do transtorno, mas também possibilitar um diagnóstico mais precoce [66]. Encontrar fatores de susceptibilidade que indiquem uma maior chance da manifestação destes sintomas para que seja possível um manejo clínico mais rápido é igualmente importante quanto encontrar biomarcadores que auxiliem o diagnóstico do HAND. Sabe-se, por exemplo, que as terapias antiretrovirais diferem em sua capacidade de adentrar a barreira hematoencefálica e conseqüentemente em níveis diferenciados de carga viral no cérebro [67]. Uma vez que estes fatores de risco para as alterações neurológicas estejam determinados e sejam identificados em um paciente, este poderia ser remanejado para uma terapêutica que possua maior permeabilidade na barreira hematoencefálica a fim de se atrasar ou mesmo evitar estas manifestações. Resultados prévios sugeriram alguns fatores de risco para desenvolver demência associada ao HIV como o diagnóstico da SIDA em idade avançada, elevada carga viral plasmática e no líquido cefalorraquidiano, contagem de linfócitos T CD4 menor que 100 céls/mm³, baixa concentração de hemoglobina e a progressão da doença sistêmica [68, 69] sendo que o determinante mais importante da susceptibilidade parece ser o grau de imunossupressão [60].

Uma fonte de informação extremamente útil como biomarcador e amplamente utilizado para outras doenças é o código genético. A variabilidade genética pode ser incorporada em diversos estágios da prática médica desde o diagnóstico até a tomada de decisão terapêutica. Poucos estudos avaliaram a variabilidade genética como um fator de susceptibilidade ao HAND. Entre os genes já estudados, os polimorfismos da ApoE já foram associados com a susceptibilidade para o desenvolvimento de HAND. O gene, localizado no cromossomo 19, produz uma proteína, de mesmo nome, que se liga a lipídios formando uma lipoproteína. No sistema nervoso central, a apolipoproteína E é sintetizada principalmente pelos astrócitos e transporta colesterol para os neurônios através de seus receptores [70]. O gene é polimórfico, apresentando três alelos de maior importância (E2, E3 e E4) [71]. A presença do alelo E4 é um importante fator de risco para o desenvolvimento de Alzheimer, também sendo associado a outras doenças neurodegenerativas [72]. Acredita-se que o alelo E4 estimule a produção de citocinas pela micróglia que está diretamente afetada pela infecção pelo HIV [73, 74].

Os resultados dos estudos de associação entre o alelo E4 e o HAND são heterogêneos. Corder e colaboradores foram o primeiro grupo a relatar esta associação, observando que indivíduos portadores do alelo E4 tinham uma probabilidade duas vezes maior de apresentar HAD [74]. Diversos estudos subsequentes não reproduziram esta correlação, não encontrando uma associação significativa com HAD ou HAND como um todo [75-79]. Outros estudos encontraram resultados similares os de Corder e colaboradores, mas somente em coortes com pacientes mais velhos (≥ 50 anos) [80], ou somente em relação à associação com o declínio cognitivo [81, 82]. Embora o alelo E4 seja um dos marcadores genéticos para um fenótipo multifatorial mais conhecidos por sua associação com a doença de Alzheimer, fica claro pelos resultados conflitantes que o seu papel em relação ao risco de manifestação do HAND não é um consenso e muito menos tenha uma aplicação clínica neste momento. Logo, faz-se necessária a realização de uma revisão sistemática com metanálise para avaliar esta associação.

2. OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são:

- Avaliar a existência de associação entre o polimorfismo rs4532 do DRD1 e a resposta ao tratamento com antipsicóticos combinados ou à monoterapia com Clozapina, utilizando metanálise;
- Analisar a existência de associação entre o alelo E4 da ApoE e a manifestação de alteração cognitiva sintomática em pacientes com HIV ou demência associada ao HIV isoladamente, e se estas associações são relacionadas com o método diagnóstico, utilizando metanálise.

3. CAPÍTULO 1: Artigo "Meta-analysis of dopamine receptor D1 rs4532 polymorphism and susceptibility to antipsychotic treatment response"

Este artigo encontra-se em estágio de revisão R2 para publicação como Short Communication na revista Psychiatry Research desde 11/07/2015. O artigo apresenta uma meta-análise dos estudos de associação genética entre polimorfismos do gene do receptor D1 (DRD1) e a resposta ao tratamento com antipsicóticos (Figura 4).

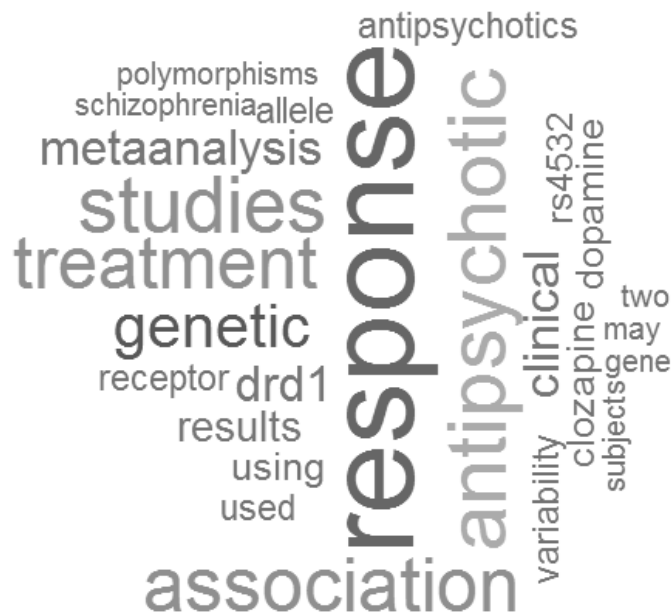


Figura 4: Nuvem de palavras do artigo apresentado neste capítulo.

Meta-analysis of dopamine receptor D1 rs4532 polymorphism and susceptibility to antipsychotic treatment response

Luiza P. R. de Matos^{a,b}, Cinthia V. N. Santana^{a,b}, Renan P. Souza^{a,b,*}

^a Grupo de Pesquisa em Bioestatística e Epidemiologia Molecular, Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

^b Programa de Pós-graduação em Genética, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

*Corresponding author: Renan P. Souza (renanrps@ufmg.br; renanrps@yahoo.com.br). Instituto de Ciências Biológicas/UFMG. Av. Antonio Carlos, 6227 Belo Horizonte, MG. Brazil Postal code: 31270901. Phone/Fax: +553134092570

Abstract

Previous association results between dopamine D1 receptor (DRD1) rs4532 polymorphism and antipsychotic treatment response in schizophrenia and schizoaffective subjects have been conflicting. Thus, we have conducted a systematic review followed by a meta-analysis. Our results indicated no association between DRD1 rs4532 polymorphism and overall antipsychotic response or clozapine monotherapy response.

Keywords: pharmacogenomics; pharmacogenetics; clozapine

1. Introduction

Antipsychotics are the cornerstone of psychosis treatment. Despite antipsychotic variety and advances in the field, psychosis management still faces difficulties. Psychosis, like other major psychiatric disorders, is both genetically and clinically complex. While approximately 70% of psychosis patients show treatment response in clinical trials and naturalistic observational studies, there is a large variability in individual symptomatic outcome, even with adequate antipsychotic treatment, ranging from complete symptom remission to absolute refractoriness (Strassnig and Harvey, 2014). Most of antipsychotics act through dopamine receptor inhibition. While first generation antipsychotics act exclusively as an antagonist of dopamine D2 receptor, second generation antipsychotics present a wide range of molecular targets. Among their targets, atypical antipsychotics act on dopamine D1 receptors (Abi-Dargham, 2014).

There are no molecular tools to determine which antipsychotic is more suitable for each individual, but it is known that genetic variability plays a critical role on drug response and side effect susceptibility (Brandl et al., 2014). Pharmacogenetics allows a better understanding of how genetic variability may influence pharmacokinetics and pharmacodynamics (Relling et al., 2014). Pharmacogenetics of antipsychotic response has been studied for almost two decades and dopamine D2 receptor (DRD2) is the most studied gene due to its role in antipsychotic pharmacodynamics (Arranz et al., 1998). A meta-analysis conducted using two DRD2 polymorphisms, -141C Ins/Del (rs1799732) and Taq1A (rs1800497), have found rs1799732 Del allele carriers presented poorer antipsychotic response compared to the Ins/Ins genotype while Taq1A variation seems to have no association with response (Zhang et al., 2010).

Dopamine D1 receptor (DRD1) is another gene of interest for antipsychotic pharmacogenetics. While the first study to evaluate DRD1 and treatment response suggested that rs4532 (48 A/G, recognized by a Ddel restriction cut site) was associated with clozapine response (Potkin et al., 2003), following evidence presented only a trend towards association in European- and African-American subjects (Hwang et al., 2007). Three other studies have presented mixed results indicating significant association with clozapine (Ota et al., 2012), but not with olanzapine (Thomas et al., 2008) or risperidone (Huo et al., 2015) response. Most of the studies have small sample sizes, methodological differences and conflicting results that inhibit their use in the clinical practice (Zhang et al., 2010). As it has been observed for DRD2, systematic review and meta-analysis are a powerful approach to further evaluate genetic association. Meta-analysis uses statistical techniques to integrate results from two or more independent studies, allowing a more accurate assessment of a genetic association. Therefore, we performed meta-analysis including association studies between DRD1 polymorphisms and antipsychotic response.

2. Methods

Pubmed, Embase and Scielo databases were searched up to June 2015 using following terms: "DRD1 OR dopamine receptor 1 gene", "response", "association", "antipsychotic OR clozapine OR olanzapine OR risperidone OR haloperidol" and "schizophrenia OR schizoaffective". Association studies between DRD1 gene

polymorphisms and clinical response to antipsychotic treatment in schizophrenia and schizoaffective subjects were included. No restrictions were placed upon language and publication date. Reference list of reviews and selected articles were used to locate additional studies. Article selection was conducted independently by two researchers. First author, publication year, sample size, cohorts, mean age, sex ratio, diagnosis, patient type, single nucleotide polymorphisms (SNPs), antipsychotic used, outcome measure, clinical response definition, treatment length, washout period and allele and genotype frequencies of responders and non-responders were extracted from each study (Table S1). Articles where it was not possible to obtain genotype and allele frequencies of responders and non-responders were excluded.

Obtained data were analyzed using the Cochrane Collaboration Review Manager software (RevMan version 5.3, 2014) Independent meta-analysis was conducted for alleles and genotypes. The assumption that the effect of allele frequency is constant across studies and between-studies variation is due to random variation was checked using a chi-square test for heterogeneity. In absence of significant heterogeneity, data were initially analyzed within a fixed-effects framework; otherwise a random-effects framework was employed (DerSimonian and Laird, 1986). Pooled odds ratios (O.R.), along with the 95% confidence interval (C.I.), were calculated and used to assess the mean effect size by the Mantel-Haenszel method of weighted averages (Mantel and Haenszel, 1959). Evidence of publication bias was not assessed with the funnel plot and Egger's test because of the sample size (less than 10 studies) (Egger et al., 1997).

3. Results

We identified five association studies between polymorphisms of DRD1 gene and antipsychotic clinical response (Fig. S1). Four have met systematic review inclusion criteria and DRD1 rs4532 polymorphism was included in the meta-analysis. Selected articles comprise six independent samples totaling 650 patients. Clinical characteristics showed variability between studies (Table S1). No allelic association was observed between rs4532 polymorphism and antipsychotic drug response as indicated by pooled O.R. and its 95% C.I. (1.17 [0.90 - 1.52]) (Fig. 1).

Genotype association was assessed using allelic positivity because there is no evidence of which allele is dominant. AA vs. G-allele carriers showed no significant association with clinical response (O.R. 0.84 [0.59 - 1.19]) (Fig. 1). Similarly, GG vs. A-allele carriers showed no association with antipsychotic response (1.24 [0.76 - 2.02]). In a secondary analysis, we explored whether DRD1 rs4532 polymorphism could predict clozapine response. Clozapine has been indicated for schizophrenia subjects with history of antipsychotic treatment refractoriness (Remington et al., 2013). Two studies with a total of three samples were included in the meta-analysis totaling 346 subjects. Our results also indicated that rs4532 is not associated with clozapine treatment response (Figure S2).

4. Discussion

Previous results from genetic association studies have been conflicting regarding DRD1 rs4532 polymorphism role in antipsychotic treatment response in schizophrenia and schizoaffective subjects. Our results indicated that there is no association with antipsychotic response nor with clozapine monotherapy response. However, it is important to mention that our meta-analysis had several limitations to be addressed. There is a scarce number of articles that investigate DRD1 genetic association with treatment response. We have included four studies but it is clear that each one of them have used a different set of clinical methods to define treatment response. Not only they have used a different assessment tool - Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS) or the PANSS (Positive and Negative Symptoms Scale) - but also they differ on their response threshold using the same instrument. Measurement of treatment response is a critical issue in psychiatry, and consequently in psychiatric pharmacogenomics, and has been widely discussed (Suzuki et al., 2011). Heterogeneity was also seen regarding antipsychotics used, treatment duration, washout periods and diagnosis. All these variables may act as confounders to identify genetic susceptibility to treatment response.

Another point that raises concerns is the ethnic variability among studies because allele frequencies may vary between ethnic groups and genetic risk could be ethnicity-specific. Moreover, it is expected that clinical response would be a multifactorial trait meaning that a sum of genetic and environmental factors could predict it. Genetic factor is believed to be polygenic in which several common alleles would have a small contribution on the overall genetic risk. Due to the genetic variability observed among samples and their small sizes, it is possible that our results are a false-negative.

Meta-analysis result has suggested that other dopamine receptor, DRD2, may predict antipsychotic response (Zhang et al., 2010). Zhang et al study has been so far the only to compile single genetic association studies using meta-analysis methods in the context of antipsychotic treatment response. Implementing pharmacogenomics on the clinical setting will require further studies in order to confirm associations that may lead to patient management improvement. This is imperative because treatment response is highly heterogeneous and schizophrenia and schizoaffective disorder have significant effects on quality of life and social functioning.

Acknowledgement

RPS is CNPq-Brasil Bolsista de Produtividade fellow (312001/2012-6). LPM is holder of CAPES/PROEX doctoral fellowship.

Reference List

Abi-Dargham, A., 2014. Schizophrenia: overview and dopamine dysfunction. *Journal of Clinical Psychiatry* 75, e31.

Arranz, M.J., Li, T., Munro, J., Liu, X., Murray, R., Collier, D.A., Kerwin, R.W., 1998. Lack of association between a polymorphism in the promoter region of the dopamine-2 receptor gene and clozapine response. *Pharmacogenetics* 8, 481-484.

Brandl, E.J., Kennedy, J.L., Muller, D.J., 2014. Pharmacogenetics of antipsychotics. *Canadian Journal of Psychiatry* 59, 76-88.

DerSimonian, R., Laird, N., 1986. Meta-analysis in clinical trials. *Controlled Clinical Trials* 7, 177-188.

Egger, M., Davey Smith, G., Schneider, M., Minder, C., 1997. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* 315, 629-634.

Huo, R., Wei, Z., Xiong, Y., Jiang, J., Liu, Y., Yan, Y., Shi, J., Li, W., Cui, D., Xing, Q., He, L., Qin, S., 2015. Association of dopamine receptor D1 (DRD1) polymorphisms with risperidone treatment response in Chinese schizophrenia patients. *Neuroscience Letters* 584, 178-183.

Hwang, R., Shinkai, T., De Luca, V., Ni, X., Potkin, S.G., Lieberman, J.A., Meltzer, H.Y., Kennedy, J.L., 2007. Association study of four dopamine D1 receptor gene polymorphisms and clozapine treatment response. *Journal of Psychopharmacology* 21, 718-727.

Mantel, N., Haenszel, W., 1959. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. *Journal of the National Cancer Institute* 22, 719-748.

Ota, V.K., Spindola, L.N., Gadelha, A., dos Santos Filho, A.F., Santoro, M.L., Christofolini, D.M., Bellucco, F.T., Ribeiro-dos-Santos, A.K., Santos, S., Mari Jde, J., Melaragno, M.I., Bressan, R.A., Smith Mde, A., Belangero, S.I., 2012. DRD1 rs4532 polymorphism: a potential pharmacogenomic marker for treatment response to antipsychotic drugs. *Schizophrenia Research* 142, 206-208.

Potkin, S.G., Basile, V.S., Jin, Y., Masellis, M., Badri, F., Keator, D., Wu, J.C., Alva, G., Carreon, D.T., Bunney, W.E., Jr., Fallon, J.H., Kennedy, J.L., 2003. D1 receptor alleles predict PET metabolic correlates of clinical response to clozapine. *Molecular Psychiatry* 8, 109-113.

Relling, M.V., McDonagh, E.M., Chang, T., Caudle, K.E., McLeod, H.L., Haidar, C.E., Klein, T., Luzzatto, L., 2014. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines for rasburicase therapy in the context of G6PD deficiency genotype. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 96, 169-174.

Remington, G., Agid, O., Foussias, G., Hahn, M., Rao, N., Sinyor, M., 2013. Clozapine's role in the treatment of first-episode schizophrenia. *American Journal of Psychiatry* 170, 146-151.

Strassnig, M.T., Harvey, P.D., 2014. Treatment resistance and other complicating factors in the management of schizophrenia. *CNS Spectrum* 19 Suppl 1, 16-23; quiz 13-15, 24.

Suzuki, T., Remington, G., Mulsant, B.H., Rajji, T.K., Uchida, H., Graff-Guerrero, A., Mamo, D.C., 2011. Treatment resistant schizophrenia and response to antipsychotics: a review. *Schizophrenia Research* 133, 54-62.

Thomas, P., Srivastava, V., Singh, A., Mathur, P., Nimgaonkar, V.L., Lerer, B., Thelma, B.K., Deshpande, S.N., 2008. Correlates of response to Olanzapine in a North Indian Schizophrenia sample. *Psychiatry Research* 161, 275-283.

Zhang, J.P., Lencz, T., Malhotra, A.K., 2010. D2 receptor genetic variation and clinical response to antipsychotic drug treatment: a meta-analysis. *American Journal of Psychiatry* 167, 763-772.

Figure 1: Meta-analysis of the association between the rs4532 polymorphism and antipsychotic treatment response: (A) G vs. A-allele (B) AA vs. G-allele. (C) GG vs. A-allele.

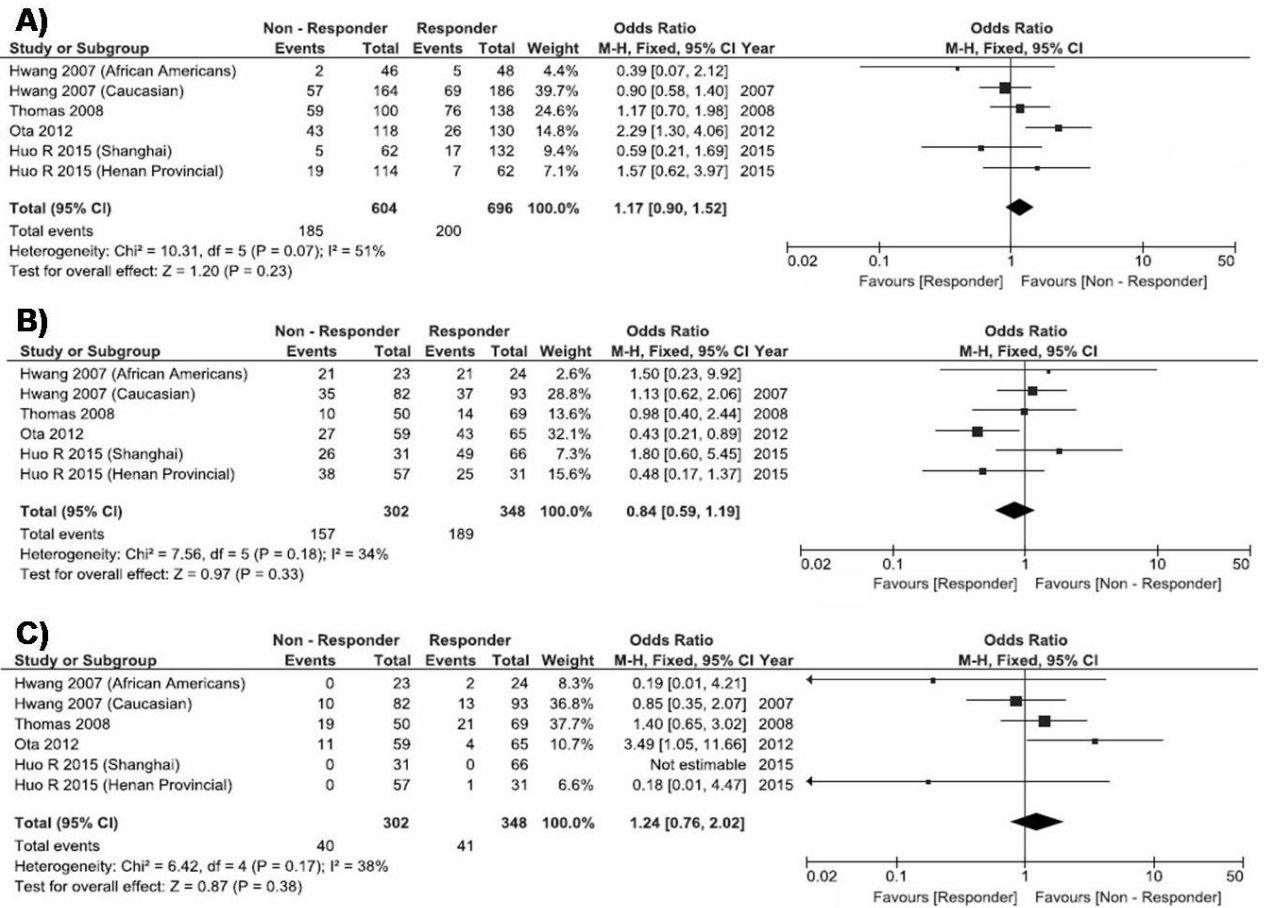


Table S1: Studies included in the meta-analysis (SCZ = Schizophrenia; SAD = Schizoaffective disorder; BPRS = Brief Psychiatric Rating Scale; PANSS = Positive and Negative Syndrome Scale)

| Author | Year | Country | N | Diagnosis | Patient Type | Antipsychotic | DRD1 SNPs | Washout Period | Treatment Length | Outcome Measure | Response definition | Cohorts | n | Mean age (years) | Gender (M/F) | |
|---------------|------|---------|-----|-----------|---|---------------|-----------|----------------|------------------|-----------------|--|---|-----|------------------|--------------|--|
| Hwang et al. | 2007 | USA | 222 | SCZ | Mostly Treatment refractory | Clozapine | rs4532 | 2 to 4 weeks | 6 months | BPRS | 20% Reduction of baseline BPRS | Caucasian (rs4532) | 175 | 34.4 ± 8.2 | 139/44 | |
| | | | | | | | rs265981 | | | | | African American (rs4532) | 47 | 34.9 ± 10.2 | 34/15 | |
| Thomas et al. | 2008 | India | 119 | SCZ & SAD | Acute | Olanzapine | rs4532 | 3 days | 6 weeks | PANSS | 30% reduction of baseline PANSS | Indian (rs4532) | 119 | 32.97 ± 11.08 | 53/77 | |
| Ota et al. | 2012 | Brazil | 124 | SCZ | Treatment refractory & Non-Treatment refractory | Clozapine | rs4532 | – | – | PANSS | Mild severity (score ≤ 3) in eight items | Brazilian (rs4532) | 124 | – | 87/37 | |
| Huo R et al. | 2015 | China | 185 | SCZ | Non-Treatment refractory | Risperidone | rs4532 | 4 weeks | 4 weeks | PANSS | 50% reduction of baseline PANSS | Shanghai Mental Health (rs4532) | 97 | 37.0 ± 11.5 | 28/69 | |
| | | | | | | | rs5326 | | | | | Henan Provincial Mental Health (rs4532) | 88 | 30.2 ± 9.7 | 33/55 | |
| | | | | | | | rs4867798 | | | | | | | | | |
| | | | | | | | rs686 | | | | | | | | | |

Figure S1: Flow diagram of literature search.

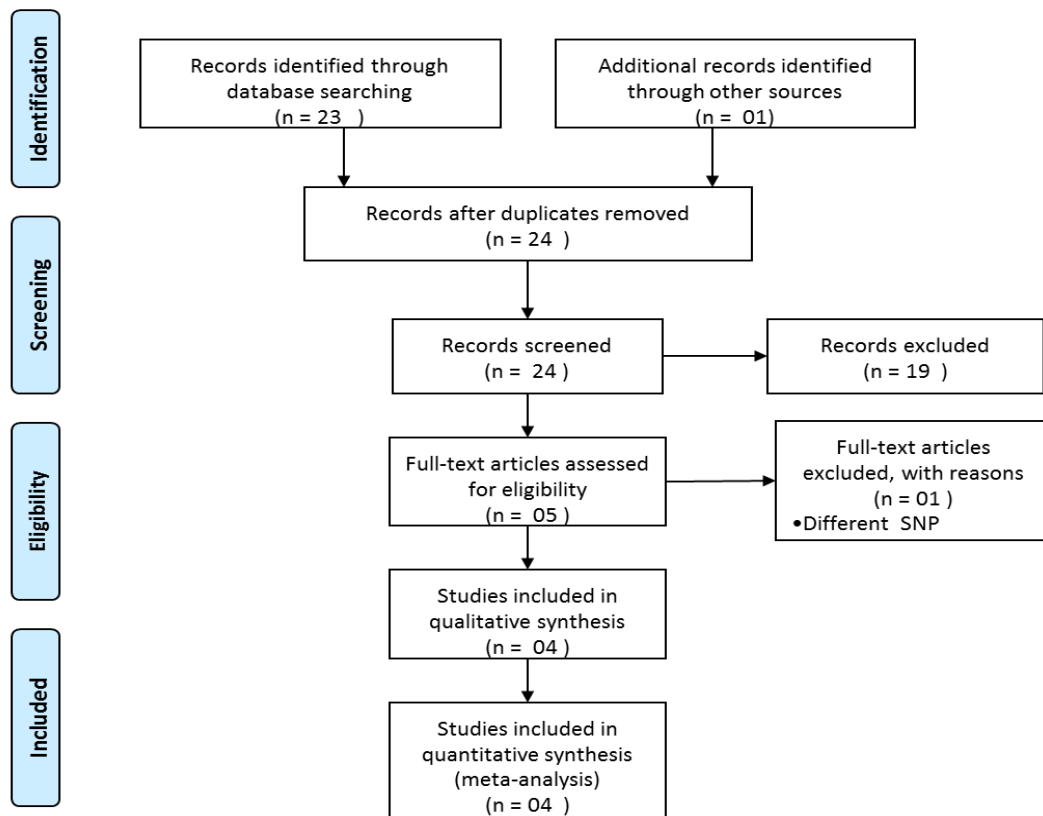
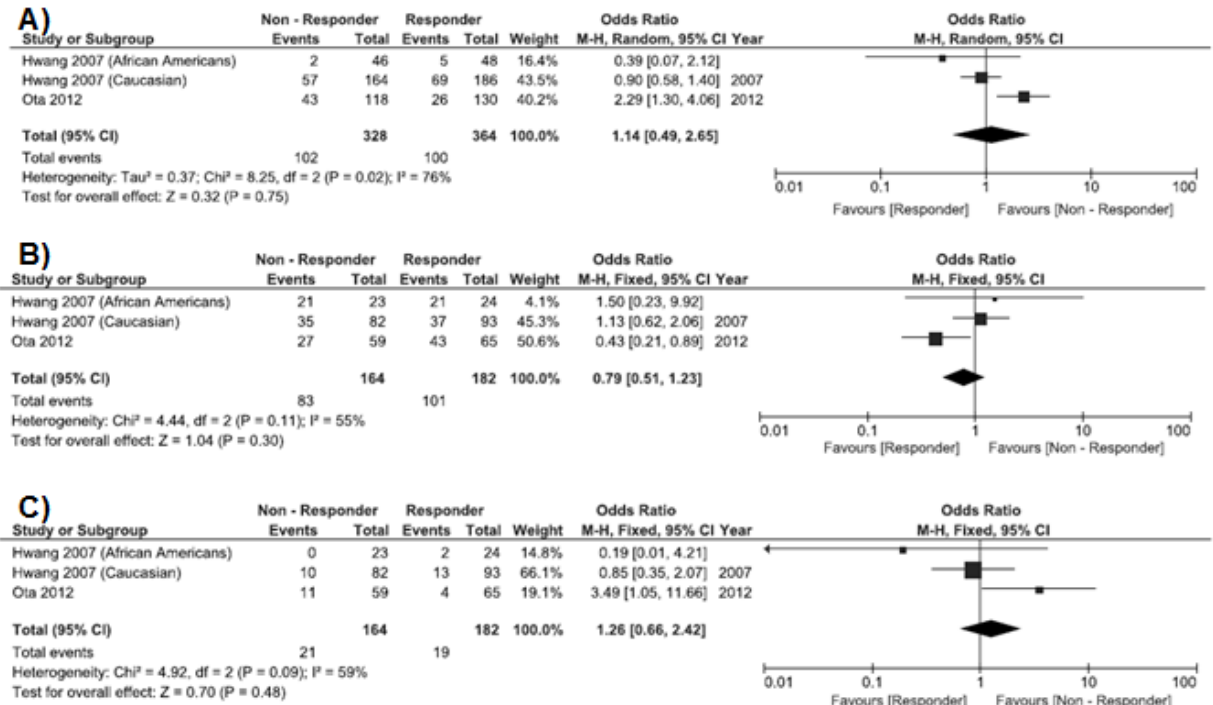


Figure S2: Meta-analysis of the association between the rs4532 polymorphism and clozapine response: (A) G vs. A-allele (B) AA vs. G-allele (C) GG vs. A-allele



4. CAPÍTULO 2: Artigo "Association of apolipoprotein E (ApoE) polymorphisms and neurocognitive impairment in HIV-infected subjects: a meta-analysis"

O artigo apresenta uma meta-análise dos estudos de associação genética entre o alelo E4 da ApoE e o déficit cognitivo em pacientes com HIV (Figura 5).



Figura 5: Nuvem de palavras do artigo apresentado neste capítulo.

Association of apolipoprotein E (ApoE) polymorphisms and neurocognitive impairment in HIV-infected subjects: a meta-analysis

Luiza P. R. de Matos^{a,b}, Cinthia V. N. Santana^{a,b}, Renan P. Souza^{a,b*}

^a Grupo de Pesquisa em Bioestatística e Epidemiologia Molecular, Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais

^b Programa de Pós-graduação em Genética, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais

Corresponding author: Renan P. Souza (renanrps@ufmg.br; renanrps@yahoo.com.br)
Universidade Federal de Minas Gerais Av. Antonio Carlos, 6627 ICB - Pampulha -
31270901 - Belo Horizonte - Minas Gerais - Brazil. Phone/Fax: +553134092570

Abstract

Epidemiological studies have evaluated the association between apolipoprotein E (ApoE) E4 allele and neurocognitive impairment in HIV-infected subjects and results are discordant. Therefore, we performed this meta-analysis. Our results indicate that ApoE E4 allele is not associated with symptomatic neurocognitive impairment or HIV-associated dementia.

Keywords: HIV-associated neurocognitive disorder; HAND; neuroAIDS

Introduction

Antiretroviral therapy (ART) has substantially changed human immunodeficiency virus (HIV) infection treatment. After confirmed diagnosis of HIV infection, antiretroviral therapy should be initiated in all individuals who are willing and ready to start treatment (Gunthard et al., 2014). Many individuals now live healthily for decades while receiving treatment, and the life expectancy of patients with access to treatment increased since combination ART (cART) schemes have been introduced in the clinical practice (Clark and Cohen, 2010). Therefore, over the last two decades, HIV illness has transformed to a chronic disease model. While AIDS-related illnesses are no longer the primary threat, but a new set of HIV-associated complications have emerged, resulting in a novel chronic disease that for many will span several decades of life (Deeks et al., 2013). The effect of HIV and aging on brain functions is an increasingly important topic of research: HIV-infected (HIV+) persons aged ≥ 50 represent a growing part of the HIV epidemic. Preventing the development of neurocognitive abnormalities has become an increasingly important issue in this aging patient population, which is already at risk for cognitive impairment as a result of the neuropathological effects of HIV (McIntosh et al., 2015).

It has long been recognized that HIV is able to cause neurocognitive impairment and, if left untreated, progress to HIV associated Dementia (HAD) (Ho et al., 1985). There is a lack of consensus on when to screen and on which methods are most appropriate for identifying patients at risk of neurocognitive impairment. The Frascati criteria proposed a system for categorizing neurocognitive impairment in HIV into a spectrum of disorders referred to as HIV-associated neurocognitive disorders (HAND) (Antinori et al., 2007). Current nomenclature for HAND includes HAD and milder forms known as asymptomatic neurocognitive impairment (ANI) and mild neurocognitive disorder (MND). The criteria are distinct from other scoring systems not only in how neurocognitive impairment is classified but also in the inclusion of an assessment of the clinical impact of that impairment. Concerns have been raised that the Frascati criteria may overestimate HAND prevalence (Nightingale et al., 2014).

The precise pathogenesis of HAND remains unknown but previous reports have evaluated a possible role of apolipoprotein E (ApoE) through genetic association studies (Chang et al., 2011; Corder et al., 1998; Dunlop et al., 1997; Valcour et al., 2004). ApoE E4 allele has been irrefutably recognized as the major genetic risk factor for late-onset Alzheimer's disease and one of the most used single gene used to predict risk of occurrence of a multifactorial disease - a disease that presents both genetic and environmental risk factors (Yu et al., 2014). ApoE E4 allele has been associated with HAD and milder forms of HAND but results are inconsistent to propose ApoE E4 genetic testing in the clinical practice as a biomarker of HAND. Meta-analysis, a statistical tool for combining results across studies, is a useful method for resolving discrepancies in genetic association studies. Thus, results from ApoE E4 allele association with HAND has been evaluated through meta-analysis.

Methods

We conducted a comprehensive literature search using the electronic database of PubMed, Embase and Scielo databases for relevant articles evaluating the association of ApoE polymorphism and HAND published up to June 2015. No language restriction was placed. Literature search was conducted employing Medical Subject Heading (MeSH) and title/abstract terms combined as follows ((neurocognitive [Title/Abstract] AND HIV[Title/Abstract]) OR HIV-associated neurocognitive disorder[Title/Abstract] OR "aids dementia complex"[MeSH Terms]) AND (ApoE[Title/Abstract] OR apolipoprotein E[Title/Abstract] OR "apolipoproteins e"[MeSH Terms]) AND (allele[Title/Abstract] OR genotype[Title/Abstract] OR "genes"[MeSH Terms] OR "polymorphism, genetic"[MeSH Terms] OR "genetic association studies"[MeSH Terms] OR "genotype"[MeSH Terms] OR "genetic predisposition to disease"[MeSH Terms] OR "genetic variation"[MeSH Terms] OR "alleles"[MeSH Terms]).

Reference lists of the selected articles and reviews were screened for additional studies. The following data was extracted from eligible studies: author, year, country, cohort, ethnicity, medication, diagnosis, outcome measure, sample size and presence or absence of the $\epsilon 4$ allele in the case (symptomatic neurocognitive impairment - HAD or MNI diagnosis) and control (without cognitive impairment - ANI was not included) groups. We excluded subjects diagnosed with ANI because our aim was to find biomarkers of clinically severe cognitive impairment. Our secondary analysis compared only subjects diagnosed with HAD and subjects without cognitive impairment (MNI and ANI subjects were not included).

Articles selection and data extraction were conducted by two researchers independently, disagreements were solved through discussion between the authors until an agreement was reached. Authors were contacted to provide missing data. Meta-analysis was conducted using meta package on R (version 3.1.2). Fixed and random-effects models were used and presented. Heterogeneity between studies was assessed by performing chi-square test (DerSimonian and Laird, 1986). Mantel-Haenszel method of weighted averages was used to obtain pooled odds ratios (O.R.) with 95% confidence interval (C.I.) (Mantel and Haenszel, 1959). Funnel plot was generated (Egger et al., 1997). Significance level was set at 0.05.

Results

Twenty five articles were identified through PubMed online search engine, and two additional studies from others sources (Figure S1). Of those, four articles were excluded after screening titles and abstracts, leaving 23 papers for full-text assessment and data extraction. Ten were excluded due to different genotype, phenotype or lack of data regarding the presence or absence of the $\epsilon 4$ allele in the case and control groups. Finally, 13 articles were included in the meta-analysis, totaling 17 samples with 1871 patients (Bol et al., 2012; Chang et al., 2011; Corder et al., 1998; Cysique et al., 2015; Diaz-Arrastia et al., 2004; Dunlop et al., 1997; Joska et al., 2010; Morgan et al., 2013; Panos et al., 2013; Soontornniyomkij et al., 2012; Spector et al., 2010; Sun et al., 2010; Valcour et al., 2004). Included studies are presented in Table 1. Selected studies presented heterogeneity on clinical assessment of neurocognitive impairment or dementia diagnosis. Therefore, individual meta-analysis were conducted for each

assessment and an overall analysis was also performed. Clinical and epidemiological variables were heterogeneous.

ApoE E4 allele presence was compared between subjects with clinically symptomatic neurocognitive impairment and subjects without neurocognitive impairment (Figure 1). ApoE E4 allele was associated with clinically symptomatic neurocognitive impairment on studies that used a neuropsychological test battery (fixed effects model pooled O.R. = 2.02; C.I. = 1.26-4.02; heterogeneity $p = 0.2575$) however no association was found using AAN criteria (or an equivalent criteria) or neuropathological analysis. No association was found when all 17 cohorts were evaluated (random effects model pooled O.R. = 1.16; C.I. = 0.91-1.46; heterogeneity $p = 0.0049$). Funnel plot indicated three cohort outside its boundaries - Spector, Panos (50 years or more), Morgan(Caucasian) - (Figure S1) and no association was found when all three cohorts were removed (fixed effects model pooled O.R. = 0.87; C.I. = 0.66-1.14; heterogeneity $p = 0.3409$).

ApoE E4 allele presence was subsequently compared between subject with HAD and no cognitive impairment (Figure 2). Eight studies with a total of 10 cohorts were included ($n = 951$ subjects). No significant association was found when cohorts were divided by their clinical assessment method or when all cohorts were combined (fixed effects model pooled O.R. = 0.83; C.I. = 0.59-1.16; heterogeneity $p = 0.2277$). Funnel plot indicated one cohort outside its boundaries – Valcour (50 or more) - (Figure S1) but its removal have not altered association results (fixed effects model pooled O.R. = 0.72; C.I. = 0.50-1.03; heterogeneity $p = 0.6358$).

Discussion

Genetic biomarkers have a great potential to be used as predictors of neurocognitive impairment and may help to improve therapeutic management. ApoE E4 allele has been strongly associated with Alzheimer's Disease and previous genetic studies have suggested an association with HAD. However, our results indicate that literature has conflicting results and, at this point, it is not possible to affirm that ApoE E4 allele is a significant part of the HAD genetic risk or symptomatic neurocognitive impairment according to the currently available data using meta-analysis. Although there has been several other methods to combine primary studies, when it comes to validation success of statistical associations with the clinical outcome, traditional marginal meta-analysis methods perform as good as (if not better) than coexpression-based approaches.(Levine et al., 2014).

Lack of association presented here should be read with caution and could help to design more effective studies to evaluate genetic variability in HIV-infected subjects presenting neurocognitive impairment. Genes may operate in complex pathways with gene-environment and gene-gene interactions. Only one genome-wide association study has been published evaluating HAND genetic risk and no significant association has been found (Levine et al., 2012). Persistent difficulties in obtaining robust, replicable results in genetic association studies are almost certainly because genetic effects are small, requiring studies with many thousands of subjects to be detected. Furthermore, these small effect sizes are easily obscured by differences between studies and methodologies used (Kallianpur and Levine, 2014).

Heterogeneity was observed in every parameter evaluated (e.g. age, treatment, neurocognitive impairment assessment, neurocognitive impairment criteria, ethnicity) and could, therefore, explain our results. It is imperative that future studies are designed following not only clinical guidelines to standardize diagnostic criteria but they should also follow recommendations on how to report genetic association results (Janssens et al., 2011; Little et al., 2009) or other biomarkers (Gallo et al., 2011) because better reporting of original studies would facilitate the synthesis of available research results.

Lack of a reliable and consistently applied phenotype measurement is a recurrent problem in neuropsychiatric genetics. Difficulties regarding HAND definition and its possible diagnostic overestimation have been discussed (Etherton et al., 2015; Nightingale et al., 2014). A possible solution that has been evaluated in other neuropsychiatric disorders is refining diagnostic criteria or using intermediate phenotypes (Levine et al., 2014) although no genetic association study has used this strategy in the HAND context. Another point that raises concern from a pharmacogenetic point of view is treatment variability, HIV strains and genetic population stratification. More comprehensive studies are needed to address all these limitations faced by most of the currently available findings.

Other biomarkers have also been studied ranging from molecular targets to neuroimaging approaches and results are also conflicting to permit their usage in the clinical practice (Ances and Hammoud, 2014; Chan and Brew, 2014; Nightingale et al., 2014). Therefore, replication remains a critical issue. Primary genetic association results should always be read with exceptional caution and precise replication (same polymorphism, phenotype, and direction of association) is required in the interpretation of multiple association studies (Sullivan, 2007). While ApoE E4 allele seems to have no association with neurocognitive impairment in HIV-infected subjects, other genetic polymorphisms remain to be evaluated and replicated.

Figure 1: Forest plot presenting results of the ApoE E4 allele presence (event) frequency on subjects with and without clinically symptomatic neurocognitive impairment.

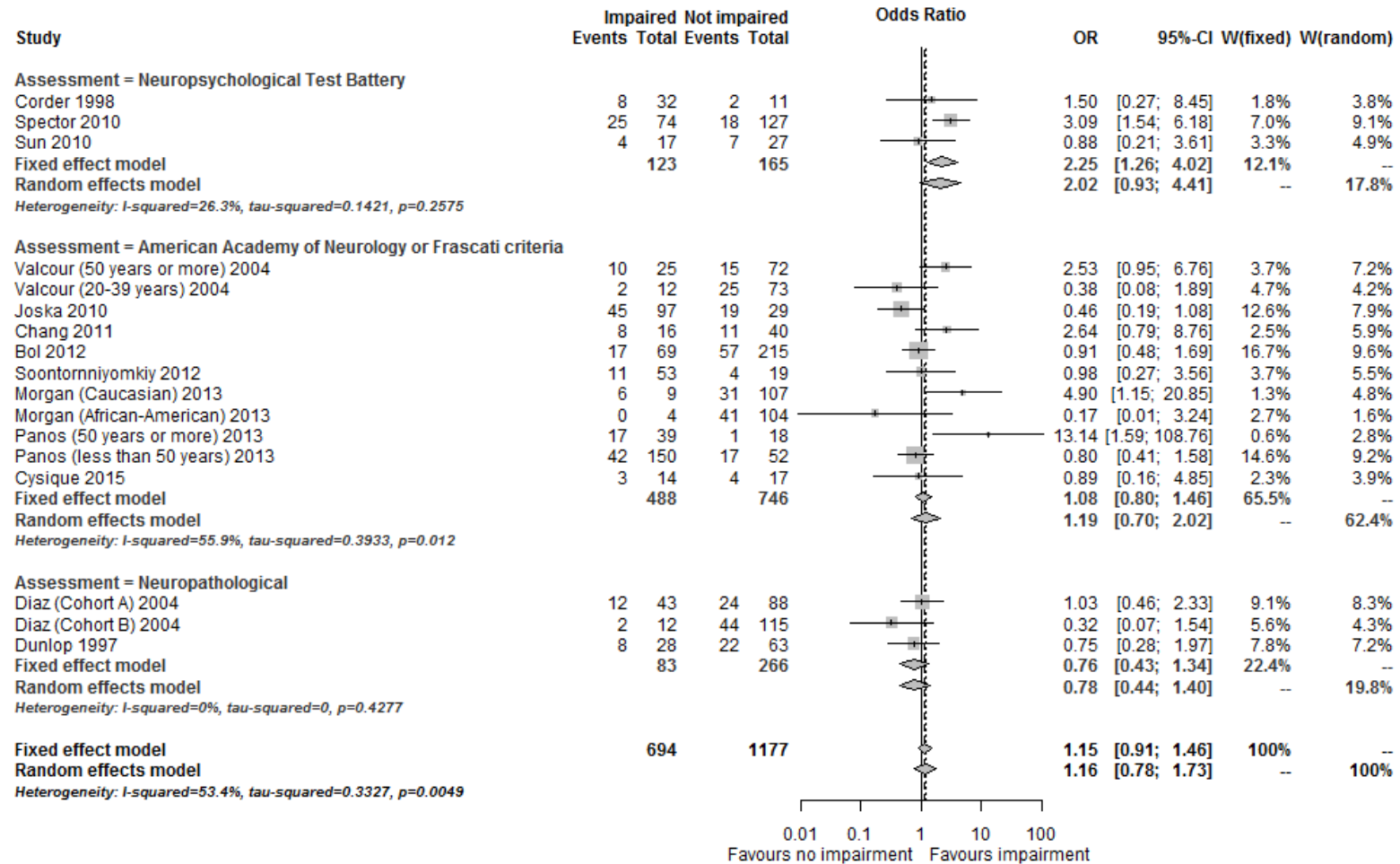


Figure 2: Forest plot presenting results of the ApoE E4 allele presence (event) frequency on subjects with and without HAD.

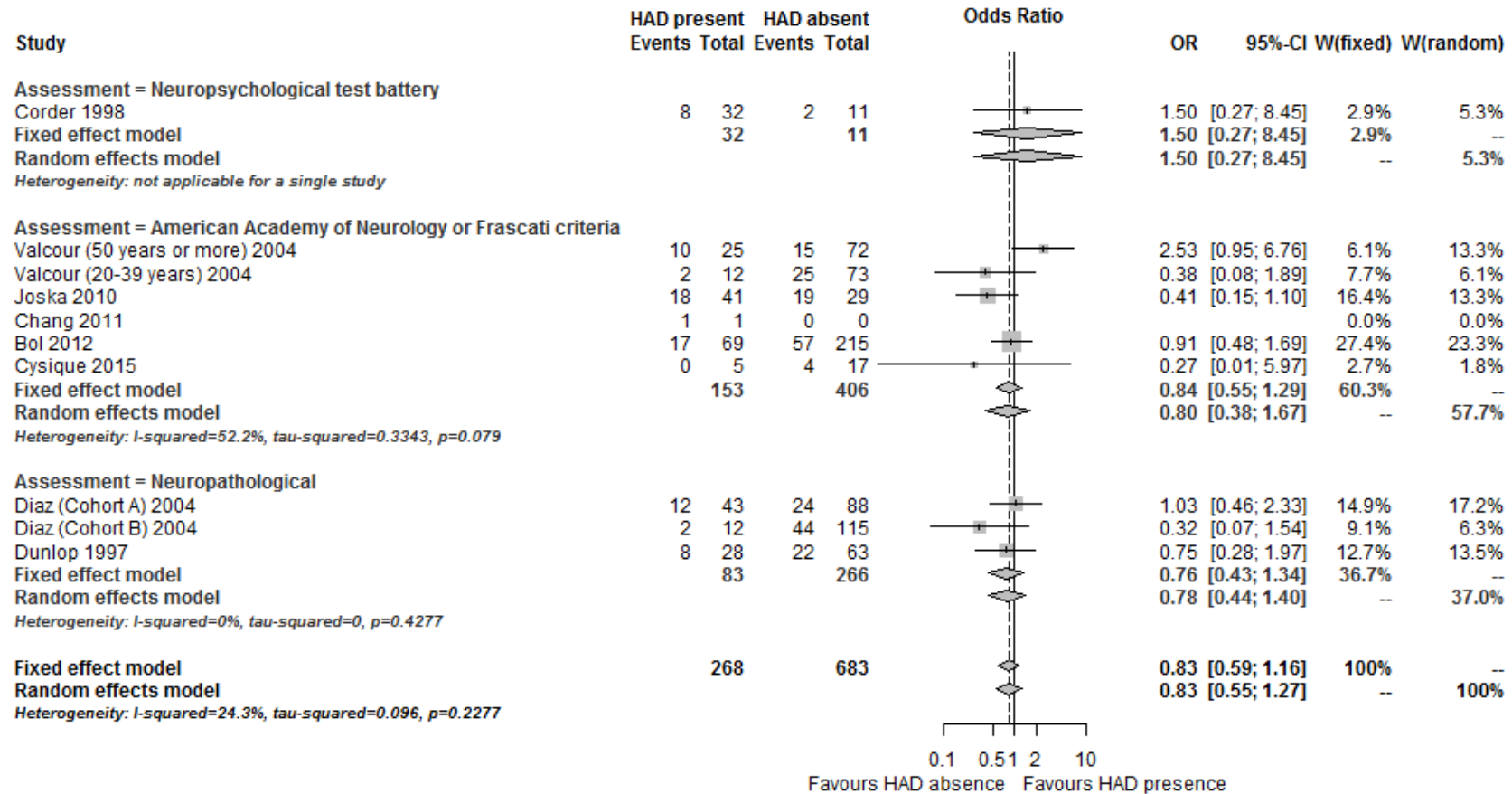


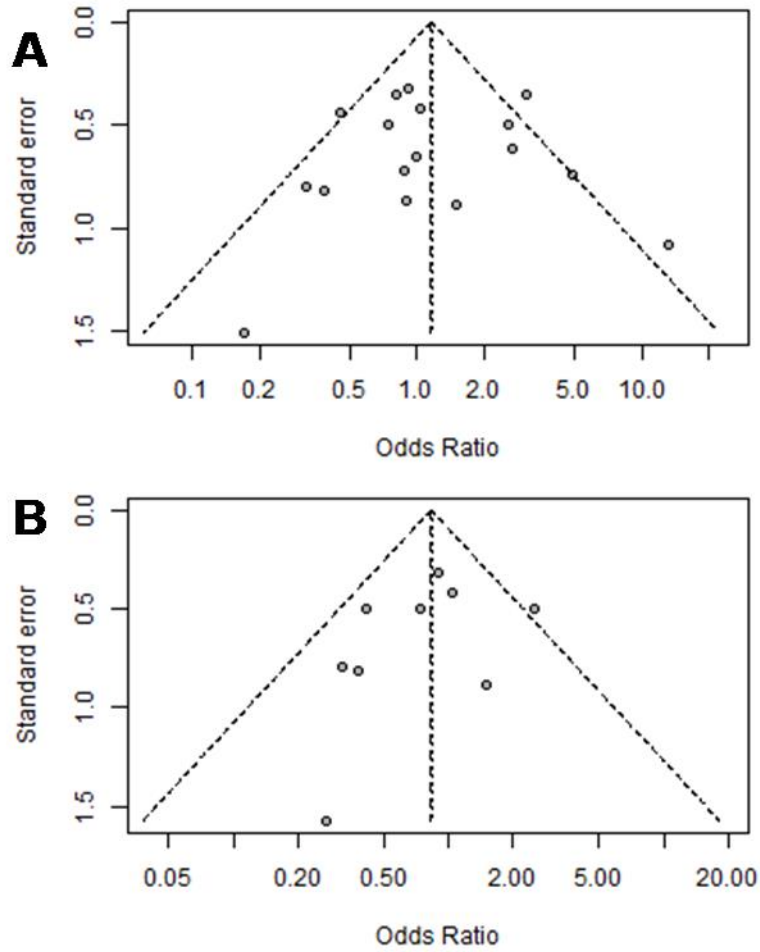
Table 1: Studies included in the meta-analysis. Samples assessed using clinical criteria were grouped (American Academy of Neurology criteria (Antinori et al., 2007; Force, 1991) and Frascati criteria (Antinori et al., 2007)). ¹Genotype data obtained using imputation from genome-wide association study data. ²Median[interquartile range].³Cohort without E2/X subjects. ART= antiretroviral therapy. HAART=highly active antiretroviral therapy. MGC= multinucleated giant cells. MGN= microglial nodules.

| Neuropsychological Test Battery (NTB) | | | | | | | | | | | |
|---|----------|------|-------------------|--|---|-----------------|------------------|-------------------------------|-----|--------|--------|
| Assesment | Author | Year | Sample collection | Ethnic background | Treatment | Cohort division | Mean Age (years) | Diagnosis | N | E4 (+) | E4 (-) |
| NTB | Corder | 1998 | USA | NA | NA | - | NA | Non-impaired | 11 | 2 | 9 |
| | | | | | | | | Dementia | 32 | 8 | 24 |
| NTB | Spector | 2010 | China | NA | majority currently on ART | - | 40.3±6.4 | Non-impaired | 127 | 18 | 109 |
| | | | | | | | | Cognitively impaired | 74 | 25 | 49 |
| NTB | Sun | 2010 | USA | Caucasian (34); African American (12); Hispanic (5); Asian (2); Other (2) | on HAART or on a treatment interruption | - | 50.9 ± 7.4 | Non-impaired | 27 | 7 | 20 |
| | | | | | | | | Neuropsychological impairment | 17 | 4 | 13 |
| American Academy of Neurology (AAN) or Frascati criteria | | | | | | | | | | | |
| AAN | Valcour | 2004 | USA | Caucasian(100); Asian or Pacific Islander(59); Other(27) | majority ART | (≥50 years) | 55.6±5.2 | Non-impaired | 72 | 15 | 57 |
| | | | | | | (20 - 39 years) | 35.0±5.0 | HAD | 25 | 10 | 15 |
| Frascati | Joska | 2010 | South Africa | isiXhosa-speaker (127); Other(17) | naïve to HAART | - | 29.5±3.65 | Non-impaired | 73 | 25 | 48 |
| | | | | | | | | HAD | 12 | 2 | 10 |
| Frascati | Chang | 2011 | USA | American Indian (3); Asian (9); Black (3); Native Hawaiian (1); White (42); Mixed (11) | stable on ART for > 6 months or on no ART | - | 47.4±1.2 | Non-impaired | 29 | 19 | 10 |
| | | | | | | | | ANI | 18 | 7 | 11 |
| Frascati | Bol | 2012 | Netherlands | NA | NA | - | NA | MND | 56 | 27 | 29 |
| | | | | | | | | HAD | 41 | 18 | 23 |
| Frascati | Soontor- | 2012 | USA | White(70); Hispanic(19); | No treatment | - | 44 | Non-impaired | 40 | 11 | 29 |
| | | | | | | | | HAD | 13 | 3 | 10 |
| Frascati | Bol | 2012 | Netherlands | NA | NA | - | NA | MND | 15 | 7 | 8 |
| | | | | | | | | HAD | 1 | 1 | 0 |
| Frascati | Soontor- | 2012 | USA | White(70); Hispanic(19); | No treatment | - | 44 | Non-impaired | 215 | 57 | 158 |
| | | | | | | | | HAD | 69 | 17 | 52 |
| Frascati | Soontor- | 2012 | USA | White(70); Hispanic(19); | No treatment | - | 44 | Non-impaired | 19 | 4 | 15 |

| | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|---------------------|------|-----------|---|--|-----------------------|---------------------|--------------------------|-----|----|----|
| | nnyiomkiy | | | Black(15); Asian(3); Others(3) | (n=23), Non- HAART (n=3), HAART (n=40) | | [14.5] ² | HAND | 53 | 11 | 42 |
| Frascati | Panos | 2013 | USA | African American(74); Latino(31); Caucasian(143); Others(11) | majority on HAART | ≥50 years | 43.52 ± 7.82 | Non-impaired | 18 | 1 | 17 |
| | | | | | | <50 years | | HAND | 39 | 17 | 22 |
| Frascati | Morgan ¹ | 2013 | USA | Caucasian (141); African American (137) | majority on combined ART | Caucasian | 43± 8.4 | Non-impaired | 107 | 31 | 76 |
| | | | | | | African American | | Mild impaired | 25 | 9 | 16 |
| Frascati | Cysique | 2015 | Australia | NA | combined ART | - | 56.7 ± 7.9 | Moderate-severe impaired | 9 | 6 | 3 |
| | | | | | | | | Non-impaired | 104 | 41 | 63 |
| Frascati | Cysique | 2015 | Australia | NA | combined ART | - | 56.7 ± 7.9 | Mild impaired | 29 | 12 | 17 |
| | | | | | | | | Moderate-severe impaired | 4 | 0 | 4 |
| Frascati | Cysique | 2015 | Australia | NA | combined ART | - | 56.7 ± 7.9 | Non-impaired | 17 | 4 | 13 |
| | | | | | | | | MND | 9 | 3 | 6 |
| Frascati | Cysique | 2015 | Australia | NA | combined ART | - | 56.7 ± 7.9 | HAD | 5 | 0 | 5 |
| | | | | | | | | | | | |
| Neuropathological | | | | | | | | | | | |
| Neuropatho- logical (MGN +) | Diaz | 2004 | USA | NA | Majority monotherapy and dual therapy | Cohort A (1989–93) | / | Non-impaired | 88 | 24 | 64 |
| | | | | | | Cohort B (1994–96) | / | HAD | 43 | 12 | 31 |
| Neuropatho- logical (MGC) | Dunlop ³ | 1997 | Norway | NA | Zidovudine | / | / | Non-impaired | 63 | 22 | 41 |
| | | | | | | | | Possible Dementia | 20 | 5 | 15 |
| | | | | | | | | Dementia | 28 | 8 | 20 |

Supplementary material

Figure S1: Funnel plot. (A) Studies included in the meta-analysis presented in Figure 1. (B) Studies included in the meta-analysis presented in Figure 2.



Reference list

- Ances, B.M., Hammoud, D.A., 2014. Neuroimaging of HIV-associated neurocognitive disorders (HAND). *Curr Opin HIV AIDS* 9, 545-551.
- Antinori, A., Arendt, G., Becker, J.T., Brew, B.J., Byrd, D.A., Cherner, M., Clifford, D.B., Cinque, P., Epstein, L.G., Goodkin, K., Gisslen, M., Grant, I., Heaton, R.K., Joseph, J., Marder, K., Marra, C.M., McArthur, J.C., Nunn, M., Price, R.W., Pulliam, L., Robertson, K.R., Sacktor, N., Valcour, V., Wojna, V.E., 2007. Updated research nosology for HIV-associated neurocognitive disorders. *Neurology* 69, 1789-1799.
- Bol, S.M., Booiman, T., van Manen, D., Bunnik, E.M., van Sighem, A.I., Sieberer, M., Boeser-Nunnink, B., de Wolf, F., Schuitemaker, H., Portegies, P., Kootstra, N.A., van 't Wout, A.B., 2012. Single nucleotide polymorphism in gene encoding transcription factor Prep1 is associated with HIV-1-associated dementia. *PLoS One* 7, e30990.
- Chan, P., Brew, B.J., 2014. HIV associated neurocognitive disorders in the modern antiviral treatment era: prevalence, characteristics, biomarkers, and effects of treatment. *Curr HIV/AIDS Rep* 11, 317-324.
- Chang, L., Andres, M., Sadino, J., Jiang, C.S., Nakama, H., Miller, E., Ernst, T., 2011. Impact of apolipoprotein E epsilon4 and HIV on cognition and brain atrophy: antagonistic pleiotropy and premature brain aging. *Neuroimage* 58, 1017-1027.
- Clark, U.S., Cohen, R.A., 2010. Brain dysfunction in the era of combination antiretroviral therapy: implications for the treatment of the aging population of HIV-infected individuals. *Curr Opin Investig Drugs* 11, 884-900.
- Corder, E.H., Robertson, K., Lannfelt, L., Bogdanovic, N., Eggertsen, G., Wilkins, J., Hall, C., 1998. HIV-infected subjects with the E4 allele for APOE have excess dementia and peripheral neuropathy. *Nat Med* 4, 1182-1184.
- Cysique, L.A., Hewitt, T., Croitoru-Lamoury, J., Taddei, K., Martins, R.N., Chew, C.S., Davies, N.N., Price, P., Brew, B.J., 2015. APOE epsilon4 moderates abnormal CSF-abeta-42 levels, while neurocognitive impairment is associated with abnormal CSF tau levels in HIV+ individuals - a cross-sectional observational study. *BMC Neurol* 15, 51.
- Deeks, S.G., Lewin, S.R., Havlir, D.V., 2013. The end of AIDS: HIV infection as a chronic disease. *Lancet* 382, 1525-1533.
- DerSimonian, R., Laird, N., 1986. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials* 7, 177-188.
- Diaz-Arrastia, R., Gong, Y., Kelly, C.J., Gelman, B.B., 2004. Host genetic polymorphisms in human immunodeficiency virus-related neurologic disease. *J Neurovirol* 10 Suppl 1, 67-73.
- Dunlop, O., Goplen, A.K., Liestol, K., Myrvang, B., Rootwelt, H., Christophersen, B., Kvittingen, E.A., Maehlen, J., 1997. HIV dementia and apolipoprotein E. *Acta Neurol Scand* 95, 315-318.
- Egger, M., Davey Smith, G., Schneider, M., Minder, C., 1997. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* 315, 629-634.

Etherton, M.R., Lyons, J.L., Ard, K.L., 2015. HIV-associated Neurocognitive Disorders and Antiretroviral Therapy: Current Concepts and Controversies. *Curr Infect Dis Rep* 17, 485.

Force, W.G.o.A.A.o.N.A.T., 1991. Nomenclature and research case definitions for neurologic manifestations of human immunodeficiency virus-type 1 (HIV-1) infection. Report of a Working Group of the American Academy of Neurology AIDS Task Force. *Neurology* 41, 778-785.

Gallo, V., Egger, M., McCormack, V., Farmer, P.B., Ioannidis, J.P., Kirsch-Volders, M., Matullo, G., Phillips, D.H., Schoket, B., Stromberg, U., Vermeulen, R., Wild, C., Porta, M., Vineis, P., 2011. STrengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology--Molecular Epidemiology (STROBE-ME): an extension of the STROBE Statement. *PLoS Med* 8, e1001117.

Gunthard, H.F., Aberg, J.A., Eron, J.J., Hoy, J.F., Telenti, A., Benson, C.A., Burger, D.M., Cahn, P., Gallant, J.E., Glesby, M.J., Reiss, P., Saag, M.S., Thomas, D.L., Jacobsen, D.M., Volberding, P.A., 2014. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2014 recommendations of the International Antiviral Society-USA Panel. *JAMA* 312, 410-425.

Ho, D.D., Rota, T.R., Schooley, R.T., Kaplan, J.C., Allan, J.D., Groopman, J.E., Resnick, L., Felsenstein, D., Andrews, C.A., Hirsch, M.S., 1985. Isolation of HTLV-III from cerebrospinal fluid and neural tissues of patients with neurologic syndromes related to the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 313, 1493-1497.

Janssens, A.C., Ioannidis, J.P., van Duijn, C.M., Little, J., Khoury, M.J., 2011. Strengthening the reporting of genetic risk prediction studies: the GRIPS statement. *Eur J Clin Invest* 41, 1004-1009.

Joska, J.A., Combrinck, M., Valcour, V.G., Hoare, J., Leisegang, F., Mahne, A.C., Myer, L., Stein, D.J., 2010. Association between apolipoprotein E4 genotype and human immunodeficiency virus-associated dementia in younger adults starting antiretroviral therapy in South Africa. *J Neurovirol* 16, 377-383.

Kallianpur, A.R., Levine, A.J., 2014. Host genetic factors predisposing to HIV-associated neurocognitive disorder. *Curr HIV/AIDS Rep* 11, 336-352.

Levine, A.J., Panos, S.E., Horvath, S., 2014. Genetic, transcriptomic, and epigenetic studies of HIV-associated neurocognitive disorder. *J Acquir Immune Defic Syndr* 65, 481-503.

Levine, A.J., Service, S., Miller, E.N., Reynolds, S.M., Singer, E.J., Shapshak, P., Martin, E.M., Sacktor, N., Becker, J.T., Jacobson, L.P., Thompson, P., Freimer, N., 2012. Genome-wide association study of neurocognitive impairment and dementia in HIV-infected adults. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 159B, 669-683.

Little, J., Higgins, J.P., Ioannidis, J.P., Moher, D., Gagnon, F., von Elm, E., Khoury, M.J., Cohen, B., Davey-Smith, G., Grimshaw, J., Scheet, P., Gwinn, M., Williamson, R.E., Zou, G.Y., Hutchings, K., Johnson, C.Y., Tait, V., Wiens, M., Golding, J., van Duijn, C., McLaughlin, J., Paterson, A., Wells, G., Fortier, I., Freedman, M., Zecevic, M., King, R., Infante-Rivard, C., Stewart, A., Birkett, N., 2009. STrengthening the REporting of Genetic Association Studies (STREGA): an extension of the STROBE statement. *PLoS Med* 6, e22.

Mantel, N., Haenszel, W., 1959. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. *J Natl Cancer Inst* 22, 719-748.

McIntosh, R.C., Rosselli, M., Uddin, L.Q., Antoni, M., 2015. Neuropathological sequelae of Human Immunodeficiency Virus and apathy: A review of neuropsychological and neuroimaging studies. *Neurosci Biobehav Rev* 55, 147-164.

Morgan, E.E., Woods, S.P., Letendre, S.L., Franklin, D.R., Bloss, C., Goate, A., Heaton, R.K., Collier, A.C., Marra, C.M., Gelman, B.B., McArthur, J.C., Morgello, S., Simpson, D.M., McCutchan, J.A., Ellis, R.J., Abramson, I., Gamst, A., Fennema-Notestine, C., Smith, D.M., Grant, I., Vaida, F., Clifford, D.B., 2013. Apolipoprotein E4 genotype does not increase risk of HIV-associated neurocognitive disorders. *J Neurovirol* 19, 150-156.

Nightingale, S., Winston, A., Letendre, S., Michael, B.D., McArthur, J.C., Khoo, S., Solomon, T., 2014. Controversies in HIV-associated neurocognitive disorders. *Lancet Neurol* 13, 1139-1151.

Panos, S.E., Hinkin, C.H., Singer, E.J., Thames, A.D., Patel, S.M., Sinsheimer, J.S., Del Re, A.C., Gelman, B.B., Morgello, S., Moore, D.J., Levine, A.J., 2013. Apolipoprotein-E genotype and human immunodeficiency virus-associated neurocognitive disorder: the modulating effects of older age and disease severity. *Neurobehavioral HIV Med* 5, 11-22.

Soontornniyomkij, V., Moore, D.J., Gouaux, B., Soontornniyomkij, B., Tatro, E.T., Umlauf, A., Masliah, E., Levine, A.J., Singer, E.J., Vinters, H.V., Gelman, B.B., Morgello, S., Cherner, M., Grant, I., Achim, C.L., 2012. Cerebral beta-amyloid deposition predicts HIV-associated neurocognitive disorders in APOE epsilon4 carriers. *AIDS* 26, 2327-2335.

Spector, S.A., Singh, K.K., Gupta, S., Cystique, L.A., Jin, H., Letendre, S., Schrier, R., Wu, Z., Hong, K.X., Yu, X., Shi, C., Heaton, R.K., 2010. APOE epsilon4 and MBL-2 O/O genotypes are associated with neurocognitive impairment in HIV-infected plasma donors. *AIDS* 24, 1471-1479.

Sullivan, P.F., 2007. Spurious genetic associations. *Biol Psychiatry* 61, 1121-1126.

Sun, B., Abadjian, L., Rempel, H., Calosing, C., Rothlind, J., Pulliam, L., 2010. Peripheral biomarkers do not correlate with cognitive impairment in highly active antiretroviral therapy-treated subjects with human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Neurovirol* 16, 115-124.

Valcour, V., Shikuma, C., Shiramizu, B., Watters, M., Poff, P., Selnes, O.A., Grove, J., Liu, Y., Abdul-Majid, K.B., Gartner, S., Sacktor, N., 2004. Age, apolipoprotein E4, and the risk of HIV dementia: the Hawaii Aging with HIV Cohort. *J Neuroimmunol* 157, 197-202.

Yu, J.T., Tan, L., Hardy, J., 2014. Apolipoprotein E in Alzheimer's disease: an update. *Annu Rev Neurosci* 37, 79-100.

5. DISCUSSÃO

O presente trabalho buscou verificar a existência de associações entre possíveis marcadores genéticos à fenótipos neuropsiquiátricos. Os resultados do primeiro capítulo evidenciaram a inexistência de associação entre polimorfismos de DRD1 com a resposta aos antipsicóticos ou à monoterapia com clozapina. Resultados anteriores indicam que os polimorfismos no DRD1 não são também associados à manifestação de esquizofrenia [83-85]. Não foi possível verificar a existência de viés de publicação devido ao número reduzido de amostras. Os resultados do segundo capítulo mais uma vez indicam inexistência de associação entre o alelo E4 da ApoE e o déficit cognitivo sintomático em pacientes com HIV ou mesmo com HAD.

O desenvolvimento e a aplicação de biomarcadores genéticos para transtornos neuropsiquiátricos são dificultados pelo aspecto clínico e biológico complexos destas doenças. Os métodos de diagnóstico e a determinação da resposta ao tratamento são inespecíficos, baseados nos sintomas apresentados, e obtidos através de testes cognitivos e psiquiátricos. Manuais e avaliações neuropsicológicas foram criados com a finalidade de padronizar e auxiliar na definição das doenças, na determinação do diagnóstico e na classificação da resposta. Porém ainda existe heterogeneidade tanto na escolha dos testes, quanto na interpretação dos resultados obtidos por estes.

A necessidade de padronização do conceito de resposta para o tratamento das psicoses resultou na elaboração de escalas de avaliação psicopatológicas, sendo as mais utilizadas a BPRS e a PANSS [33, 34, 86]. A PANSS foi elaborada posteriormente à BPRS, com o objetivo de suprir as limitações da sua predecessora. A PANSS acrescenta 12 itens adicionais aos 18 encontrados na BPRS, aumentando o número de itens de avaliação da resposta dos sintomas negativos. Contudo, a escala BPRS ainda é amplamente utilizada nos casos em que a determinação da resposta para os sintomas negativos não são fundamentais e por sua aplicação ser consideravelmente mais rápida que a da PANSS. Leuch (2013) buscou verificar o nível de correspondências entre as duas escalas. Foi observado que a escala BPRS apresenta uma porcentagem de melhora, aproximadamente, 5% maior do que a da PANSS. Além disso, todos os resultados (pontuação total, porcentagem de melhora e melhora total) se mostraram altamente correlacionados (coeficientes de correlação entre 0,93 e 0,97) com poucas

variações ao longo das semanas. A correlação encontrada pode ser explicada pelo fato de que a escala PANS é derivada da BPRS e as variações observadas podendo estar diretamente relacionados com o maior número de itens na escala PANSS [87]. O uso de ambas as escalas na prática clínica, e as diferenças apresentadas entre elas, trazem complicações na realização de investigações científicas, contribuindo com a heterogeneidade encontrada entre os estudos primários.

O critério de pesquisa para HAND, apesar de apresentar diretrizes claras e objetivas para o diagnóstico de HAND, não elimina a possibilidade de erros de diagnóstico devido ao seu caráter sindrômico. Os transtornos cognitivos observados em pacientes infectados pelo HIV nem sempre são consequência direta da ação do vírus no sistema nervoso central. Os transtornos cognitivos também podem ocorrer em decorrência da presença de fatores comórbidos, como as infecções oportunistas associadas ao sistema nervoso central e uso de medicamentos que afetam o sistema nervoso central. Além do aspecto causal, as comorbidades, podem apresentar um fator cumulativo, mascarando o real efeito da infecção pelo HIV. Estas podem contribuir com o aparecimento, e com a intensidade dos sintomas, sendo impossível determinar a influência de cada fator. O nível mais brando de HAND, ANI, apresenta maior possibilidade de ser diagnosticado equivocadamente. Pessoas com ANI não apresentam anormalidade no funcionamento diário, apenas leves alterações nas capacidades cognitivas se assemelhando a indivíduos saudáveis que também podem vir a apresentar tais alterações [59]. Os erros de diagnóstico podem prejudicar as análises estatísticas dos estudos primários e secundários, levando a resultados falsos positivos ou negativos.

Uma questão metodológica a ser considerada é o caráter monogênico do desenho de estudo das metanálises, uma vez que se acredita que grande parte das doenças neuropsicológicas são multifatoriais. As doenças multifatoriais ocorrem devido a uma combinação de mecanismos genéticos e influências ambientais, que podem variar entre indivíduos e populações, dificultando na determinação da causa da manifestação da doença [88]. Vários fatores de risco para doenças neurológicas foram estudados na literatura, porém ainda não é possível determinar quais apresentam risco real e qual seria o grau de influência destes. Nos transtornos neuropsicológicos, raramente a ação individual de um gene é determinante para a manifestação fenotípica. A manifestação depende de complexas interações entre loci genéticos, conhecidas

como epistasia. A presença da epistasia é prejudicial na descoberta de marcadores genéticos relevantes, uma vez que as interações genéticas podem modificar a expressão dos genes de interesse [89].

Polimorfismos podem apresentar variabilidade de frequência alélica em diferentes etnias impedindo a reprodutividade de marcadores genéticos entre populações humanas. Um possível marcador genético, alvo de um estudo de associação, pode não estar diretamente relacionado com a causa da doença, mas estar em desequilíbrio de ligação com o causador. O desequilíbrio de ligação é uma associação não aleatória entre alelos, e esta ligação pode produzir uma associação significativa entre o marcador e a doença. Porém a associação pode ser verdadeira somente para alguns grupos populacionais. Padrões de desequilíbrios de ligação podem variar em função das populações estudadas em decorrência de deriva genética, mutação e seleção, dentre outros fatores [90]. Deste modo a existência de desequilíbrio de ligação pode explicar as inconsistências encontradas entre estudos primários. Devido a limitações no tamanho amostral e na disponibilidade de dados, análises específicas para diferentes etnias não foram possíveis.

Os transtornos neurocognitivos associados ao HIV possuem dois possíveis fatores de risco, o sexo e a idade. Estudos sugerem que a ligação entre ApoE E4 a doença de Alzheimer é mais forte nas mulheres. Essa associação foi corroborada por Altmann (2014), que observou que presença do polimorfismo ApoE E4 confere um maior risco para o desenvolvimento de Alzheimer em mulheres do que em homens [91]. Valcour et al e Panos et al indicaram uma possível correlação entre a presença do alelo Apoe 4 com HAND e a idade média da amostra. Nestes estudos uma associação entre o polimorfismo Apoe 4 e HAND foi encontrada nas coortes com indivíduos de 50 anos ou mais, a mesma associação não sendo encontrada nas coortes mais novas [80]. Estudar as interações entre os marcadores estudados e outros alelos e fatores de risco podem explicar a falta de reprodutividade dos estudos primários e identificar subgrupos em que a associação possa ser verdadeira, sendo de interesse realizar metanálises individuais para cada grupo de risco, quando possível.

Por serem consideradas o maior nível de evidência científica o número de estudos envolvendo metanálises vem aumentando consideravelmente em todo o mundo [92, 93]. Contudo as metanálises também são susceptíveis a falhas na elaboração e

desenvolvimento que podem levar a resultados tendenciosos. Um dos fatores que podem prejudicar a qualidade de uma metanálise é a seleção dos estudos primários que podem apresentar baixa qualidade metodológica ou viés de publicação [94]. Um dos obstáculos é o efeito do primeiro estudo. Este efeito se baseia na observação de que os resultados do primeiro estudo a investigar uma hipótese tendem a superestimar o efeito real, particularmente em estudos com pequeno tamanho amostral. O resultado do primeiro estudo influencia consideravelmente os trabalhos subsequentes. Quando os primeiros resultados são estaticamente significantes, mais estudos investigando a mesma hipótese são publicados por um período maior de tempo. Os resultados encontrados no primeiro estudo, frequentemente, não são reproduzidos pelos estudos subsequentes, a associação não sendo encontrada ou encontrada em uma menor magnitude [95]. O efeito do primeiro estudo, acompanhado pela tendência de publicar somente os trabalhos e resultados que apresentem resultados estatisticamente significativos, podem levar a resultados falsos positivos nas metanálises [90, 92]. A inclusão de dados não publicados é uma forma de reduzir a o viés de publicação, e conseqüentemente os resultados falsos positivos, porém o acesso a estes ainda é limitado. Uma estratégia mais acessível para se evitar o viés de publicação é a elaboração de uma pesquisa abrangente de estudos primários, uma seleção criteriosa destes e a realização de testes estáticos para avaliar a existência de viés de publicação.

De acordo com Minelli (2009), o crescimento do número de publicações foi acompanhado pelo aumento da qualidade, tanto na apresentação dos métodos quanto na conduta, das metanálises [93]. Quando realizadas de forma adequada, as metanálises se tornam uma importante ferramenta de síntese e análise científica, contribuindo com a maior compreensão das doenças e com o desenvolvimento de novos marcadores genéticos. Certas limitações são inerentes das metanálises de estudos de associação genética e devem ser consideradas durante o desenvolvimento das mesmas. A qualidade de uma metanálise esta diretamente associada com a qualidade de seus estudos primários. Os erros sistemáticos e aleatórios dos estudos, em conjunto com a heterogeneidade clínica e genética, devem ser avaliados durante o planejamento e realização do estudo secundário. A análise destes obstáculos auxilia na explicação de inconsistências entre os resultados dos estudos primários e no planejamento metodológico de novos estudos.

6. CONCLUSÃO

Existem consideráveis dificuldades no diagnóstico e tratamento de doenças neuropsiquiátricas. Diversos estudos primários buscam identificar biomarcadores genéticos associados a estas doenças, apresentando resultados discordantes. Revisões sistemáticas com metanálise, como as desenvolvidas neste trabalho, permitem a realização de uma síntese estatística dos resultados provenientes destes estudos com o objetivo de obter uma conclusão geral sobre a questão estudada e auxiliar no direcionamento personalizado de intervenções clínicas para transtornos neurológicos.

Através do desenvolvimento deste estudo podemos observar a presença de heterogeneidade clínica entre os estudos primários incluídos nas metanálises. A variabilidade encontrada pode explicar a discordância entre os resultados dos estudos e evidenciam a necessidade da padronização dos procedimentos clínicos e da descrição adequada das populações amostradas.

Os resultados obtidos com as metanálises realizadas neste trabalho indicam que o polimorfismo rs4532, do gene DRD1, não está associado à resposta ao tratamento com antipsicóticos e o alelo E4, do gene ApoE, não está associado com o desenvolvimento de transtornos neurocognitivos associados ao HIV. Desta forma podemos concluir que estes polimorfismos não podem ser utilizados como biomarcadores dos fenótipos neuropsiquiátricos avaliados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Biomarkers Definitions Working, G., *Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework*. Clin Pharmacol Ther, 2001. **69**(3): p. 89-95.
2. Schwarz, E. and S. Bahn, *Biomarker discovery in psychiatric disorders*. Electrophoresis, 2008. **29**(13): p. 2884-90.
3. Scarr, E., et al., *Biomarkers for Psychiatry: The Journey from Fantasy to Fact, a Report of the 2013 CINP Think Tank*. Int J Neuropsychopharmacol, 2015.
4. Oertel-Knochel, V., et al., *Discovery and development of integrative biological markers for schizophrenia*. Prog Neurobiol, 2011. **95**(4): p. 686-702.
5. Meiser, B. and S. Dunn, *Psychological effect of genetic testing for Huntington's disease: an update of the literature*. West J Med, 2001. **174**(5): p. 336-40.
6. Casey, B.J., et al., *DSM-5 and RDoC: progress in psychiatry research?* Nat Rev Neurosci, 2013. **14**(11): p. 810-4.
7. Kvajo, M., H. McKellar, and J.A. Gogos, *Molecules, signaling, and schizophrenia*. Curr Top Behav Neurosci, 2010. **4**: p. 629-56.
8. Poelmans, G., et al., *Integrated genome-wide association study findings: identification of a neurodevelopmental network for attention deficit hyperactivity disorder*. Am J Psychiatry, 2011. **168**(4): p. 365-77.
9. Weber, H., et al., *Cross-disorder analysis of bipolar risk genes: further evidence of DGKH as a risk gene for bipolar disorder, but also unipolar depression and adult ADHD*. Neuropsychopharmacology, 2011. **36**(10): p. 2076-85.
10. Strimbu, K. and J.A. Tavel, *What are biomarkers?* Curr Opin HIV AIDS, 2010. **5**(6): p. 463-6.
11. Narod, S.A. and W.D. Foulkes, *BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond*. Nat Rev Cancer, 2004. **4**(9): p. 665-76.
12. Ward, A., et al., *Prevalence of apolipoprotein E4 genotype and homozygotes (APOE e4/4) among patients diagnosed with Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis*. Neuroepidemiology, 2012. **38**(1): p. 1-17.
13. Gonzalez-Castro, T.B. and C.A. Tovilla-Zarate, *Meta-analysis: a tool for clinical and experimental research in psychiatry*. Nord J Psychiatry, 2014. **68**(4): p. 243-50.
14. Nordmann, A.J., B. Kasenda, and M. Briel, *Meta-analyses: what they can and cannot do*. Swiss Med Wkly, 2012. **142**: p. w13518.
15. Moher, D., et al., *Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement*. J Clin Epidemiol, 2009. **62**(10): p. 1006-12.
16. Liberati, A., et al., *The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration*. J Clin Epidemiol, 2009. **62**(10): p. e1-34.
17. Higgins, J.P.T. and S. Green, *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions - Version 5.1.0 [updated March 2011]*. The Cochrane Collaboration, 2011. **Available from www.cochrane-handbook.org**.
18. Egger, M., et al., *Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test*. BMJ, 1997. **315**(7109): p. 629-34.
19. van Os, J. and S. Kapur, *Schizophrenia*. Lancet, 2009. **374**(9690): p. 635-45.
20. Tsapakis, E.M., T. Dimopoulou, and F.I. Tarazi, *Clinical management of negative symptoms of schizophrenia: An update*. Pharmacol Ther, 2015.

21. Carlsson, A., *Antipsychotic drugs, neurotransmitters, and schizophrenia*. Am J Psychiatry, 1978. **135**(2): p. 165-73.
22. Ban, T.A., *Fifty years chlorpromazine: a historical perspective*. Neuropsychiatr Dis Treat, 2007. **3**(4): p. 495-500.
23. Abi-Dargham, A., *Schizophrenia: overview and dopamine dysfunction*. J Clin Psychiatry, 2014. **75**(11): p. e31.
24. Kahn, R.S. and I.E. Sommer, *The neurobiology and treatment of first-episode schizophrenia*. Mol Psychiatry, 2015. **20**(1): p. 84-97.
25. Lett, T.A., et al., *Pharmacogenetics of antipsychotic-induced weight gain: review and clinical implications*. Mol Psychiatry, 2012. **17**(3): p. 242-66.
26. Tarsy, D. and R.J. Baldessarini, *Epidemiology of tardive dyskinesia: is risk declining with modern antipsychotics?* Mov Disord, 2006. **21**(5): p. 589-98.
27. Lehman, A.F., et al., *Practice guideline for the treatment of patients with schizophrenia, second edition*. Am J Psychiatry, 2004. **161**(2 Suppl): p. 1-56.
28. Horacek, J., et al., *Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs and the neurobiology of schizophrenia*. CNS Drugs, 2006. **20**(5): p. 389-409.
29. Kane, J.M. and C.U. Correll, *Past and present progress in the pharmacologic treatment of schizophrenia*. J Clin Psychiatry, 2010. **71**(9): p. 1115-24.
30. Strassnig, M.T. and P.D. Harvey, *Treatment resistance and other complicating factors in the management of schizophrenia*. CNS Spectr, 2014. **19 Suppl 1**: p. 16-23; quiz 13-5, 24.
31. Malhotra, A.K., G.M. Murphy, Jr., and J.L. Kennedy, *Pharmacogenetics of psychotropic drug response*. Am J Psychiatry, 2004. **161**(5): p. 780-96.
32. Remington, G., et al., *Clozapine's role in the treatment of first-episode schizophrenia*. Am J Psychiatry, 2013. **170**(2): p. 146-51.
33. Kay, S.R., A. Fiszbein, and L.A. Opler, *The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia*. Schizophr Bull, 1987. **13**(2): p. 261-76.
34. Leucht, S., *Measurements of response, remission, and recovery in schizophrenia and examples for their clinical application*. J Clin Psychiatry, 2014. **75 Suppl 1**: p. 8-14.
35. Elkis, H., *Treatment-resistant schizophrenia*. Psychiatr Clin North Am, 2007. **30**(3): p. 511-33.
36. Ascher-Svanum, H., et al., *Clinical, functional, and economic ramifications of early nonresponse to antipsychotics in the naturalistic treatment of schizophrenia*. Schizophr Bull, 2008. **34**(6): p. 1163-71.
37. Motulsky, A.G., *Drug reactions enzymes, and biochemical genetics*. J Am Med Assoc, 1957. **165**(7): p. 835-7.
38. Brandl, E.J., J.L. Kennedy, and D.J. Muller, *Pharmacogenetics of antipsychotics*. Can J Psychiatry, 2014. **59**(2): p. 76-88.
39. Relling, M.V., et al., *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines for rasburicase therapy in the context of G6PD deficiency genotype*. Clin Pharmacol Ther, 2014. **96**(2): p. 169-74.
40. Arranz, M.J. and J. de Leon, *Pharmacogenetics and pharmacogenomics of schizophrenia: a review of last decade of research*. Mol Psychiatry, 2007. **12**(8): p. 707-47.
41. Zhang, J.P., T. Lencz, and A.K. Malhotra, *D2 receptor genetic variation and clinical response to antipsychotic drug treatment: a meta-analysis*. Am J Psychiatry, 2010. **167**(7): p. 763-72.
42. Essali, A., et al., *Clozapine versus typical neuroleptic medication for schizophrenia*. Cochrane Database Syst Rev, 2009(1): p. CD000059.

43. Tauscher, J., et al., *Equivalent occupancy of dopamine D1 and D2 receptors with clozapine: differentiation from other atypical antipsychotics*. Am J Psychiatry, 2004. **161**(9): p. 1620-5.
44. Potkin, S.G., et al., *D1 receptor alleles predict PET metabolic correlates of clinical response to clozapine*. Mol Psychiatry, 2003. **8**(1): p. 109-13.
45. Huo, R., et al., *Association of dopamine receptor D1 (DRD1) polymorphisms with risperidone treatment response in Chinese schizophrenia patients*. Neurosci Lett, 2015. **584**: p. 178-83.
46. Hwang, R., et al., *Association study of four dopamine D1 receptor gene polymorphisms and clozapine treatment response*. J Psychopharmacol, 2007. **21**(7): p. 718-27.
47. Ota, V.K., et al., *DRD1 rs4532 polymorphism: a potential pharmacogenomic marker for treatment response to antipsychotic drugs*. Schizophr Res, 2012. **142**(1-3): p. 206-8.
48. Thomas, P., et al., *Correlates of response to Olanzapine in a North Indian Schizophrenia sample*. Psychiatry Res, 2008. **161**(3): p. 275-83.
49. Maartens, G., C. Celum, and S.R. Lewin, *HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention*. Lancet, 2014.
50. Ortblad, K.F., R. Lozano, and C.J. Murray, *The burden of HIV: insights from the Global Burden of Disease Study 2010*. AIDS, 2013. **27**(13): p. 2003-17.
51. UNAIDS, *Report on the global AIDS epidemic 2013*. http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2013/gr2013/UNAIDS_Global_Report_2013_en.pdf (accessed Jul 1, 2014), 2013.
52. Clifford, D.B. and B.M. Ances, *HIV-associated neurocognitive disorder*. Lancet Infect Dis, 2013. **13**(11): p. 976-86.
53. Bruggeman, L.A., et al., *Renal epithelium is a previously unrecognized site of HIV-1 infection*. J Am Soc Nephrol, 2000. **11**(11): p. 2079-87.
54. Chu, C. and P.A. Selwyn, *Complications of HIV infection: a systems-based approach*. Am Fam Physician, 2011. **83**(4): p. 395-406.
55. Kaul, M., *HIV-1 associated dementia: update on pathological mechanisms and therapeutic approaches*. Curr Opin Neurol, 2009. **22**(3): p. 315-20.
56. Liu, Y., et al., *CD4-independent infection of astrocytes by human immunodeficiency virus type 1: requirement for the human mannose receptor*. J Virol, 2004. **78**(8): p. 4120-33.
57. Mocchetti, I., A. Bachis, and V. Avdoshina, *Neurotoxicity of human immunodeficiency virus-1: viral proteins and axonal transport*. Neurotox Res, 2012. **21**(1): p. 79-89.
58. Bachis, A., et al., *Axonal transport of human immunodeficiency virus type 1 envelope protein glycoprotein 120 is found in association with neuronal apoptosis*. J Neurosci, 2006. **26**(25): p. 6771-80.
59. Antinori, A., et al., *Updated research nosology for HIV-associated neurocognitive disorders*. Neurology, 2007. **69**(18): p. 1789-99.
60. Christo, P.P., *[Cognitive alterations associated with HIV-1 infection and AIDS]*. Rev Assoc Med Bras, 2010. **56**(2): p. 242-7.
61. Scott, J.C., et al., *A neuropsychological investigation of multitasking in HIV infection: implications for everyday functioning*. Neuropsychology, 2011. **25**(4): p. 511-9.
62. Scott, J.C., et al., *Neurocognitive consequences of HIV infection in older adults: an evaluation of the "cortical" hypothesis*. AIDS Behav, 2011. **15**(6): p. 1187-96.
63. Levine, A.J., S.E. Panos, and S. Horvath, *Genetic, transcriptomic, and epigenetic studies of HIV-associated neurocognitive disorder*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2014. **65**(4): p. 481-503.

64. McArthur, J.C., et al., *Human immunodeficiency virus-associated neurocognitive disorders: Mind the gap*. *Ann Neurol*, 2010. **67**(6): p. 699-714.
65. Heaton, R.K., et al., *HIV-associated neurocognitive disorders persist in the era of potent antiretroviral therapy: CHARTER Study*. *Neurology*, 2010. **75**(23): p. 2087-96.
66. Fox, H.S., *Biomarkers for NeuroAIDS: recent progress in the field*. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2013. **8**(5): p. 1055-8.
67. Tan, I.L. and J.C. McArthur, *HIV-associated neurological disorders: a guide to pharmacotherapy*. *CNS Drugs*, 2012. **26**(2): p. 123-34.
68. McArthur, J.C., et al., *Human immunodeficiency virus-associated dementia: an evolving disease*. *J Neurovirol*, 2003. **9**(2): p. 205-21.
69. Grant, I., et al., *Asymptomatic HIV-associated neurocognitive impairment increases risk for symptomatic decline*. *Neurology*, 2014. **82**(23): p. 2055-62.
70. Liu, C.C., et al., *Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy*. *Nat Rev Neurol*, 2013. **9**(2): p. 106-18.
71. Tanzi, R.E., *The genetics of Alzheimer disease*. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012. **2**(10).
72. Samatovicz, R.A., *Genetics and brain injury: apolipoprotein E*. *J Head Trauma Rehabil*, 2000. **15**(3): p. 869-74.
73. Polvikoski, T., et al., *Apolipoprotein E, dementia, and cortical deposition of beta-amyloid protein*. *N Engl J Med*, 1995. **333**(19): p. 1242-7.
74. Corder, E.H., et al., *HIV-infected subjects with the E4 allele for APOE have excess dementia and peripheral neuropathy*. *Nat Med*, 1998. **4**(10): p. 1182-4.
75. Cysique, L.A., et al., *APOE epsilon4 moderates abnormal CSF- β 42 levels, while neurocognitive impairment is associated with abnormal CSF tau levels in HIV+ individuals - a cross-sectional observational study*. *BMC Neurol*, 2015. **15**: p. 51.
76. Joska, J.A., et al., *Association between apolipoprotein E4 genotype and human immunodeficiency virus-associated dementia in younger adults starting antiretroviral therapy in South Africa*. *J Neurovirol*, 2010. **16**(5): p. 377-83.
77. Morgan, E.E., et al., *Apolipoprotein E4 genotype does not increase risk of HIV-associated neurocognitive disorders*. *J Neurovirol*, 2013. **19**(2): p. 150-6.
78. Soontornniyomkij, V., et al., *Cerebral beta-amyloid deposition predicts HIV-associated neurocognitive disorders in APOE epsilon4 carriers*. *AIDS*, 2012. **26**(18): p. 2327-35.
79. Sun, B., et al., *Peripheral biomarkers do not correlate with cognitive impairment in highly active antiretroviral therapy-treated subjects with human immunodeficiency virus type 1 infection*. *J Neurovirol*, 2010. **16**(2): p. 115-24.
80. Valcour, V., B. Shiramizu, and C. Shikuma, *Frequency of apolipoprotein E4 among older compared with younger HIV patients: support for detrimental effect of E4 on survival*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. **105**(41): p. E66; author reply E67-8.
81. Chang, L., et al., *Impact of apolipoprotein E epsilon4 and HIV on cognition and brain atrophy: antagonistic pleiotropy and premature brain aging*. *Neuroimage*, 2011. **58**(4): p. 1017-27.
82. Spector, S.A., et al., *APOE epsilon4 and MBL-2 O/O genotypes are associated with neurocognitive impairment in HIV-infected plasma donors*. *AIDS*, 2010. **24**(10): p. 1471-9.
83. Dmitrzak-Weglarz, M., et al., *Dopamine receptor D1 gene -48A/G polymorphism is associated with bipolar illness but not with schizophrenia in a Polish population*. *Neuropsychobiology*, 2006. **53**(1): p. 46-50.
84. Iwata, Y., et al., *Early-onset schizophrenia and dopamine-related gene polymorphism*. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2003. **116B**(1): p. 23-6.

85. Kojima, H., et al., *Dopamine D1 receptor gene polymorphism and schizophrenia in Japan*. Am J Med Genet, 1999. **88**(2): p. 116-9.
86. Overall, J. and D. Gorham, *The brief psychiatry rating scale*. Psychol Rep, 1962. **10**: p. 799-812.
87. Leucht, S., et al., *Equipercntile linking of the BPRS and the PANSS*. Eur Neuropsychopharmacol, 2013. **23**(8): p. 956-9.
88. Wei, W.H., G. Hemani, and C.S. Haley, *Detecting epistasis in human complex traits*. Nat Rev Genet, 2014. **15**(11): p. 722-33.
89. Phillips, P.C., *Epistasis--the essential role of gene interactions in the structure and evolution of genetic systems*. Nat Rev Genet, 2008. **9**(11): p. 855-67.
90. Salanti, G., S. Sanderson, and J.P. Higgins, *Obstacles and opportunities in meta-analysis of genetic association studies*. Genet Med, 2005. **7**(1): p. 13-20.
91. Altmann, A., et al., *Sex modifies the APOE-related risk of developing Alzheimer disease*. Ann Neurol, 2014. **75**(4): p. 563-73.
92. Ioannidis, J.P., et al., *The geometric increase in meta-analyses from China in the genomic era*. PLoS One, 2013. **8**(6): p. e65602.
93. Minelli, C., et al., *The quality of meta-analyses of genetic association studies: a review with recommendations*. Am J Epidemiol, 2009. **170**(11): p. 1333-43.
94. Lee, Y.H., *Meta-analysis of genetic association studies*. Ann Lab Med, 2015. **35**(3): p. 283-7.
95. Trikalinos, T.A., et al., *Establishment of genetic associations for complex diseases is independent of early study findings*. Eur J Hum Genet, 2004. **12**(9): p. 762-9.