



Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
Mestrado em Genética

Relação entre a indução ao ganho de peso decorrente do uso crônico de olanzapina e os SNPs *TaqIA* no gene *DRD2* e G-308A no gene *TNF- α* .



Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
Mestrado em Genética

Relação entre a indução ao ganho de peso decorrente do uso crônico de olanzapina e os SNPs *TaqIA* no gene *DRD2* e G-308A no gene *TNF- α* .

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Genética da Pontifícia Universidade Católica de Goiás como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Genética.

Orientando: **Rodrigo Bernini de Brito**

Orientador: Dr. Aparecido Divino da Cruz, PhD

Co-Orientadora: Dra. Daniela de Melo e Silva

B862r Brito, Rodrigo Bernini de.

Relação entre a indução ao ganho de peso decorrente do uso crônico de olanzapina e os SNPs TaqIA no gene *DRD2* e G-308A no gene *TNF- α* [manuscrito] / Rodrigo Bernini de Brito. – 2011.
57 f. : il. figs.

Bibliografia:

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Departamento de Biologia, 2011.

Orientador: Prof. Dr. Aparecido Divino da Cruz.

Inclui lista de tabelas, figuras

Inclui Índice

1. Olanzapina. 2. Corpo – peso - ganho. 3. Alterações metabólicas. 4. Farmacogenética. 5. Gene *DRD2*. 6. Gene *TNF- α* . I. Título.

CDU: 615.214:616.613.2.03(043.3)



**PUC
GOIÁS**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Av. Universitária, 1069 ● Setor Universitário
Caixa Postal 86 ● CEP 74605-010
Goiânia ● Goiás ● Brasil
Fone: (62) 3946.1070 ● Fax: (62) 3946.1070
www.pucgoias.edu.br ● prope@pucgoias.edu.br

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM GENÉTICA
DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
DEFENDIDA EM 20 DE DEZEMBRO DE 2011 E APROVADA
PELA BANCA EXAMINADORA COM A NOTA**

100 (DEZ)

Divino
.....
Prof. Dr. Aparecido Divino da Cruz, PhD - PUC Goiás
(presidente-orientador)

Cláudio
.....
Prof. Dr. Cláudio Carlos da Silva / PUC Goiás
(membro interno)

Angela Adamski da Silva Reis
.....
Prof^a Dr^a Angela Adamski da Silva Reis / UFG
(membro externo)

*“Sinto-me nascido a cada momento
Para a eterna novidade do Mundo...”*

Fernando Pessoa

Dedico este trabalho ...

*Aos meus filhos Enzo e Lara que
são minha fonte de inspiração para
busca incessante de conhecimento e
aperfeiçoamento.*

Agradecimentos

No fim tu hás de ver que as coisas mais leves são as únicas que o vento não conseguiu levar:
um estribilho antigo, um carinho no momento preciso, o folhear de um livro de poemas,
o cheiro que tinha um dia o próprio vento...
Mário Quintana

Há um número de pessoas que eu gostaria de agradecer que me apoiaram durante a minha educação e que me ajudaram a completar a minha dissertação. Gostaria de agradecer ao meu orientador, Prof. Dr. Aparecido Divino da Cruz. Ele fez o meu trabalho possível e forneceu-me os recursos necessários para o contínuo aprendizado. Agradeço-lhe por sua orientação contínua e paciência durante os últimos dois anos e meio. Agradecimentos são também estendidos aos demais membros do Departamento de Biologia: Prof^a. Dra. Daniela de Melo e Silva e Prof. Dr. Cláudio Carlos da Silva pela co-orientação construtiva e apoio contínuo.

Gostaria de agradecer aos funcionários, pós-graduandos e alunos do Departamento de Biologia e dos outros departamentos que forneceram assistência em meu programa, especialmente a Prof^a. Emília Oliveira Alves Costa e Mestranda Fernanda Ribeiro Godoy por sua assistência na análise dos experimentos. Muitas pessoas foram úteis para dar tanto apoio moral quanto técnico, especialmente Aldaires Vieira de Melo, Damiana Cunha, Lysa Bernades Minasa e Thaís Cidália Vieira.

Ao Dr. Salomão Rodrigues filho e colegas da Pax Clínica Psiquiátrica, pela amizade e apoio profissional contínuo, bem como a todos os pacientes.

A minha professora de inglês Keila Márcia Teixeira Álvares pelo auxílio contínuo.

Agradeço a minha mãe e meu pai pela bondade, paciência, incentivo e apoio que me deram durante todo o meu estudo universitário. Agradeço especialmente meu pai por orientar

meus interesses para a ciência e compartilhar a felicidade da docência. Também gostaria de agradecer a minha esposa Aluska Cruvinel pela paciência e apoio moral durante a preparação desta dissertação.

Por fim aos meus filhos Enzo e Lara que são a minha força de vida.

Lista de Abreviaturas

A	Adenina
ANKK1	Anquirina
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
ARMS	<i>Amplification Refractory Mutation System</i>
C	Citosina
CATIE	<i>Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness</i>
CYP	Citocromo
D	Dopamina
DNA	ácido desoxirribonucléico
DRD2	Receptor do gene de dopamina D2
DSM-IV-TR	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Retardation – Fourth Revision – text revision</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FDA	<i>Federal Drug and Food Administration</i>
FFA	<i>Free fatty acid</i> / ácido graxo livre
G	Guanina
GLUT4	<i>Glucose transporter 4</i> / Transportador 4 de glicose
GPAA	Ganho de peso associado aos antipsicóticos
H1	Histamina
HDL	<i>High density lipoprotein</i>
5-HT	<i>5-Hydroxytryptamine</i> (Serotonina)
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de massa corporal
IR	Receptor de insulina
IRS	Substrato do receptor de insulina
NIH	<i>Institute of Health - EUA</i>
NIMH	<i>National Institute of Mental Health - EUA</i>
NPR	Núcleo de Pesquisas Replicon
OMS	Organização Mundial de Saúde

PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphisms</i>
RNA	Ácido ribonucléico
RNA _m	RNA mensageiro
SNAP-25	Proteína sinaptossomo de 25 kDa
SNC	Sistema nervoso central
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
T	Timina
TGC	Triglicérides
TNF- α	Fator de necrose tumoral α
TNFR	Receptor do Fator de Necrose Tumoral α

Lista de Tabelas

Tabela 1. Relação de estudos a partir do início da década de 90 relacionados ao uso crônico de antipsicóticos e ganho de peso	4
Tabela 2. O índice de massa corporal é uma medida, proposta pela Organização Mundial de Saúde, internacionalmente usada para determinar o grau de obesidade de uma pessoa. O IMC é uma relação do peso pelo quadrado da altura do indivíduo	8
Tabela 3. Sequência de oligonucleotídeos iniciadores usados para identificar o SNP G-308A presente no gene TNF- α , resultante de uma transição G à A, e para o controle interno da reação, que teve como alvo o gene da β Globina	22
Tabela 4. Protocolo de termociclagem para a amplificação do SNP G-308A presente no gene TNF- α para a investigação de GPAA em pacientes em uso crônico de olanzapina.	23
Tabela 5. Protocolo de termociclagem para a amplificação do SNP C/T (C32806T) associado ao gene DRD2 para a investigação de GPAA em pacientes em uso crônico de olanzapina.	24
Tabela 6. Parâmetros demográficos, genotípicos, clínicos e bioquímicos observados na coorte de pacientes esquizofrênicos e com transtorno afetivo bipolar em uso crônico de olanzapina que participaram do estudo de associação entre GPAA e SNPs presente nos genes DRD2 e TNF- α .	27
Tabela 7. Distribuição genotípica do gene DRD2 em relação ao polimorfismo TaqIA de pacientes psiquiátricos em uso prolongado de olanzapina.	29
Tabela 8. Médias e desvio padrão de diferentes variáveis que definem peso corporal e obesidade na coorte de pacientes psiquiátricos em uso crônico de olanzapina.	36
Tabela 9. Distribuição dos genótipos do SNP C32806T identificado pela enzima de restrição TaqIA, localizado próximo ao gene DRD2 de coortes e de controles saudáveis, de diversas etnias e de diferentes lugares, que participaram de estudos que genotiparam o locus para a transição C a T.	37
Tabela 10. Distribuição dos genótipos do SNP G-308A do gene TNF- α de coortes e de controles saudáveis, de diversas etnias e de diferentes lugares, que participaram de estudos que genotiparam o locus para esta substituição de bases.	38

Lista de Figuras

- Figura 1.** Suscetibilidade ao ganho de peso decorrente do uso de antipsicóticos a curto prazo, ao longo de 10 semanas de tratamento, em pacientes esquizofrênicos. Adaptado de Allison et al., (1999) 3
- Figura 2.** Fórmula estrutural da olanzapina, um antipsicótico de segunda geração considerado o medicamento de escolha para o tratamento da esquizofrenia. A fórmula molecular do fármaco é C₁₇H₂₀N₄S 6
- Figura 3.** Esquema ilustrativo do sistema de equilíbrio calórico para a manutenção do peso. Taxa metabólica, atividade física e efeito calórico do alimento afetam o equilíbrio calórico positiva ou negativamente, conseqüentemente, alteram o balanço regulatório do peso corporal. Adaptado de Spiegelman et al., 2001 9
- Figura 4.** Perfil PCR-RFLP dos genótipos para SNP TaqIA no gene DRD2. A Canaleta L contém o marcador de peso molecular de 100pb. Canaleta 1 contém o controle negativo. Canaletas 2, 3 e 4 contêm o genótipo homozigoto A2A2. Canaletas 5 e 7 contêm o genótipo heterozigoto A1A2. Canaleta 6 indica a falta de amplificação para um indivíduo. 29
- Figura 5.** Distribuição quanto ao sexo dos genótipos de DRD2 – gene do receptor D2 de dopamina – associados ao polimorfismo TaqIA, observados em pacientes psiquiátricos que faziam uso prolongado de olanzapina. 30
- Figura 6.** Ganho de peso associado ao alelo A1 do SNP TaqIA do gene DRD2 de pacientes em uso crônico de olanzapina. Em A observa-se a progressão do ganho de peso em função do tempo de uso do medicamento. Em B encontra-se a variação média do IMC pelo genótipo dos pacientes. 30
- Figura 7.** Variação no GPAA dos pacientes em uso de olanzapina. Em A variação em função do genótipos do polimorfismo TaqIA do gene DRD2 dos pacientes. Linhas vermelha e azul correspondem aos genótipos A1A1+A1A2 e A2A2, respectivamente. Em B variação no peso em associação com os alelos estudados. Linhas vermelha e azul correspondem aos alelos A1 e A2, respectivamente. 31
- Figura 8.** Perfil ARMS-PCR dos genótipos para SNP G-308A no gene TNF- α . A Canaleta L contém o marcador de peso molecular de 100pb. Canaletas 1 a 5 contêm o genótipo AG de alguns pacientes. 32
- Figura 9.** Variações médias do IMC dos pacientes psiquiátricos em uso de olanzapina ao longo do estudo. As barras verticais indicam o desvio padrão em relação às médias observadas. 33
- Figura 10.** Regressão linear indicando o efeito do uso crônico de olanzapina sobre o IMC dos pacientes. Intervalo de confiança de 95% e $p \leq 10^{-9}$. 34

Figura 11. Regressão linear simples indicando a variação nas taxas de (A) colesterol total ($p \leq 10^{-10}$), (B) HDL colesterol ($p \leq 10^{-8}$) e (C) triglicérides ($p \leq 0,00001$) em função do tempo de uso de olanzapina de pacientes esquizofrênicos e com transtorno afetivo bipolar em uso crônico do medicamento.

35

Índice Analítico

Resumo	xiii
Abstract	xv
Agradecimentos	iv
Índice analítico	xi
Lista de Tabelas	viii
Lista de Figura	ix
Lista de Abreviações	vi
1. Introdução	1
1.1 Antipsicóticos, Esquizofrenia e Transtorno Bipolar	1
1.2 Ganho de Peso e Antipsicótico	3
1.3 Olanzapina	5
1.4 Obesidade	7
1.4.1 Dopamina	9
1.4.2 Fator de Necrose Tumoral α (TNF- α)	10
1.5 Ganho de peso induzido por olanzapina e citocinas	12
1.6 Farmacogenética	13
1.7 Seleção de SNPs	17
1.7.1 Polimorfismo <i>TaqIA</i> do gene do receptor de dopamina D2 (DRD2)	17
1.7.2 Polimorfismo G-308A do gene da citocina TNF- α	18
2 Objetivos	19
2.1 Geral	19
2.2 Específicos	19
3. Materiais e Métodos	20
3.1 Delineamento do estudo	20
3.2 Grupo amostral	20
3.3 Caracterização das amostras biológicas	21
3.4 Extração isolamento e quantificação do DNA	21
3.5 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	21

3.5.1 Sistema de Amplificação Refratário a Mutações (do inglês, Amplification Refractory Mutation System) – ARMS-PCR	21
3.5.2 Polimorfismo no Tamanho dos Fragmentos de Restrição (do inglês, Restriction Fragment Length Polymorphisms) – PCR-RFLP	23
3.6 Determinação das Taxas Plasmáticas de Colesterol Total, HDL, Triglicérides, Glicose e Hemoglobina Glicada	24
3.7 Análise Estatística	25
4 Resultados	26
4.1 Polimorfismo do <i>TaqIA</i> (<i>C32806T</i>) próximo ao gene do receptor de dopamina DRD2 e ganho de peso	29
4.2 Polimorfismo G-308A do gene do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e ganho de peso	32
4.3 Efeitos da olanzapina sobre o ganho de peso acumulado e sobre as alterações bioquímicas	32
4.4 Variações do Índice de Massa Corporal (IMC) durante o estudo	33
4.5 Efeitos da olanzapina nos níveis séricos dos marcadores bioquímicos	34
4.6 Efeitos da olanzapina no depósito de gordura abdominal	36
5. Discussão	37
5.1 Farmacogenética da olanzapina na indução ao ganho de peso corporal e alterações da glicose e lipídeos plasmáticos	37
5.2 Efeitos da olanzapina sobre glicose e lipídeos plasmáticos	39
5.3 Conclusão	41
Referências	43

Resumo

A olanzapina é um antipsicótico de segunda geração que exibe uma baixa incidência de efeitos colaterais extrapiramidais e tem sido recomendada como fármaco de primeira linha para o tratamento da esquizofrenia e também é utilizada no tratamento do transtorno bipolar, mas tem o ganho de peso como efeito colateral comum no uso crônico deste medicamento. Uma análise abrangente da literatura revelou que a olanzapina induz maior ganho de peso do que a maioria dos outros antipsicóticos, com exceção da clozapina. A incidência de ganho de peso induzido pela olanzapina e doenças associadas, como diabetes e doenças cardiovasculares, é maior entre o grupo de pacientes do que a da população em geral. Estes efeitos secundários indesejados têm diminuído a adesão dos pacientes ao tratamento. Muitas observações clínicas e estudos têm tentado elucidar o possível mecanismo envolvido. No entanto, até o momento, o mecanismo subjacente ao ganho de peso induzido pela olanzapina permanece obscuro. No presente estudo foi realizada uma investigação retrospectiva, que avaliou 21 pacientes em uso de olanzapina por um período de 20 a 119 meses, comparando dentro da amostra, pacientes que perderam peso ou ficaram estáveis (< 7% ganho em relação ao IMC) ao grupo que ganhou peso de forma moderada ou grave durante o uso da olanzapina (>7% ganho em relação ao IMC). Também foram avaliados os níveis de glicose e lipídeos plasmáticos de todos os pacientes. Para o grupo de pacientes ainda foram analisados os polimorfismos genéticos de *TaqIA* no gene *DRD2* e G-308A do gene *TNF- α* por PCR-RFL e ARMS-PCR, respectivamente. O polimorfismo genéticos da *TaqIA* (C32806T) no gene *DRD2* apresentou relação com o uso prolongado de olanzapina com relevante significância estatística em relação ao ganho de peso e às alterações bioquímicas observadas no plasma dos pacientes. Em relação as variantes genética do SNP G-308A no gene *TNF- α* , os achados do presente estudo não permitiram corroborar ou refutar as conclusões de outros estudos.

Palavras-chave: Olanzapina, Polimorfismo, Ganho de Peso, *DRD2*, *TNF- α* .

Abstract

Olanzapine is a second generation antipsychotic that show low incidence of extrapyramidal side effects and has been recommended as the first line drug for the treatment of schizophrenia and is also used in the treatment of bipolar disorder. But it has the weight gain as a side effect which is common in the chronic use of this medicine. A comprehensive review of the literature revealed that olanzapine induces more weight gain than most other antipsychotics, except clozapine. The incidence of weight gain induced by olanzapine and associated diseases such as diabetes and cardiovascular diseases is higher in this group of patients than in the general population. These unwanted side effects have decreased patients' adherence to treatment. Many clinical observations and studies have attempted to elucidate the possible mechanism involved. However, to date, the mechanism underlying the weight gain induced by olanzapine remains unclear. This present study retrospective evaluates 21 patients using olanzapine for a period of 20 to 119 months, compared within the sample, patients who lost weight or remained stable (<7% gain in relation to BMI) group which gained weight at a moderate or severe way during the use of olanzapine (> 7% gain in relation to BMI). We also evaluated the levels of glucose and plasma lipids of all patients. For the group of patients were also analyzed genetic polymorphisms of TaqIA *DRD2* gene and G-308A *TNF- α* gene by PCR-RFL and ARMS-PCR, respectively. TaqIA of genetic polymorphism (C32806T) in the *DRD2* gene was correlated with prolonged use of olanzapine with relevant statistical significance in relation to weight gain and biochemical changes observed in plasma of patients. Regarding the genetic variants of the SNP G-308A *TNF- α* gene, the findings of this study failed to corroborate or refute the findings of other studies.

Keywords: Olanzapine, Polymorphism, Weight Gain, DRD2, TNF- α .

1. Introdução

1.1. Antipsicóticos, Esquizofrenia e Transtorno Bipolar

Antipsicóticos ou neurolépticos são medicamentos utilizados principalmente no tratamento de psicoses, para redução ou alívio de sintomas como delírios e alucinações. Embora estes medicamentos não curem a doença, são fundamentais no controle dos seus sintomas. O primeiro antipsicótico a ser utilizado foi a clorpromazina em 1952, que revolucionou o tratamento das psicoses, especialmente a esquizofrenia. Logo foram descobertos outros antipsicóticos, como o haloperidol, a flufenazina e a tioridazina, que têm como mecanismo básico de ação o bloqueio de um neurotransmissor cerebral denominado dopamina. Estes antipsicóticos, denominados clássicos ou convencionais ou de primeira geração, são eficazes principalmente no controle de sintomas chamados positivos, como os delírios, as alucinações e a desorganização do pensamento. Eles também produzem efeitos colaterais denominados extrapiramidais, tais como tremores e rigidez muscular (Marder, 2000).

A partir dos anos 90, uma nova geração de antipsicóticos, incluindo clozapina, risperidona e olanzapina, foram introduzidos como opções de tratamento. Os novos antipsicóticos ficaram conhecidos como atípicos ou de segunda geração. Além de bloquear a dopamina, eles bloqueiam também outros neurotransmissores cerebrais, especialmente a serotonina (Addington *et al.* 1996). Os antipsicóticos de segunda geração agem não apenas nos sintomas positivos, mas também nos sintomas negativos, como a pobreza de pensamento, o embotamento afetivo e a falta de motivação.

Antipsicóticos de primeira e de segunda geração são agentes terapêuticos de amplo espectro, capazes de atenuar a miríade de sintomas psicopatológicos. Como uma classe de agentes, os antipsicóticos de segunda geração oferecem diversas vantagens terapêuticas quando comparados com os agentes de primeira geração; por exemplo, a eficácia reforçada para déficits cognitivos e a reduzida propensão para eventos adversos neurológicos. Os

antipsicóticos de segunda geração demonstram ter vantagens em relação aos efeitos colaterais do que os antipsicóticos de primeira geração. A Associação Americana de Psiquiatria (APA) recomenda a prescrição dos antipsicóticos de segunda geração como primeira escolha no tratamento para esquizofrenia (Lehman *et al.*, 2008) e como coadjuvante ou até mesmo em monoterapia no tratamento de pacientes com transtorno bipolar. Contudo, os antipsicóticos de segunda geração apresentam algumas desvantagens como aumento do risco relativo de ganho de peso e de síndrome metabólica e consequente aumento das comorbidades associadas e da mortalidade (Allison *et al.*, 1999), que podem interferir negativamente na adesão ao tratamento e na qualidade de vida dos pacientes. Entre os antipsicóticos de segunda geração, a clozapina (Leadbetter *et al.*, 1992; Meltzer *et al.*, 2003; Lamberti *et al.*, 1992) e a olanzapina são os que mais frequentemente induzem efeitos colaterais.

O CATIE – *Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness* (Lieberman *et al.*, 2005) – foi um estudo clínico comparativo e o primeiro grande estudo randômico, duplo-cego e de comparação direta entre vários antipsicóticos, que revelou um ganho de peso de 7%, ou até mais, em 30% dos pacientes esquizofrênicos tratados com olanzapina nas doses de 7,5 a 30 mg/dia. O ganho de peso induzido pela olanzapina foi muito maior do que a induzido por quetiapina, risperidona ou ziprasidona. O CATIE foi conduzido pelo Instituto de Saúde Mental (do inglês, NIMH – *National Institute of Mental Health*) do *National Institute of Health* (NIH) dos EUA.

As observações clínicas das diferenças interindividuais no ganho de peso induzido pelas medicações sugerem que aspectos genéticos possam estar envolvidos no fenômeno, mas os mecanismos genéticos exatos, subjacentes ao processo, permanecem desconhecidos. Vários estudos sugerem a possibilidade de testes genéticos individuais (Malhota *et al.*, 2004; Basile *et al.*, 2001; Reynolds *et al.*, 2006) para se estimar o risco relativo do ganho de peso mediante o tratamento com os antipsicóticos de segunda geração.

1.2. Ganho de Peso e Antipsicóticos

Com base na definição da *Federal Drug and Food Administration* (FDA) dos EUA, o ganho de peso induzido por uma determinada droga ocorre quando há um aumento no peso corporal $\geq 7\%$ em relação ao peso basal antes do tratamento. O resumo e a interpretação de publicações sobre investigações de Ganho de Peso Associado aos Antipsicóticos (GPAA) exigem familiaridade com as limitações metodológicas dos dados. Por exemplo, na maioria dos estudos não foi possível ajustar dados sócio-demográficos, hábitos alimentares, comorbidade (por exemplo, transtorno de compulsão alimentar, hipotireoidismo, etc.), estilo de vida (por exemplo, a inatividade e tabagismo), história familiar, *status* do peso pré-mórbido, alteração de peso associada à doença, composição corporal e efeitos do tratamento concomitante nos grupos de pacientes.

Além disso, os estudos não diferenciaram o peso do paciente antes do início de sua doença psiquiátrica, dos efeitos da própria doença, ou do efeito pós-tratamento. No entanto, os resultados disponíveis na literatura mundial correlacionam o ganho de peso com os diferentes medicamentos disponíveis para o tratamento antipsicótico. Um resumo desta correlação foi apresentado por Allison e colaboradores (1999) e encontra-se adaptado na Figura 1. A Tabela 1 contém a relação dos estudos mais impactantes na literatura mundial que avaliaram o ganho de peso induzido em grupos de pacientes em tratamento com antipsicóticos.

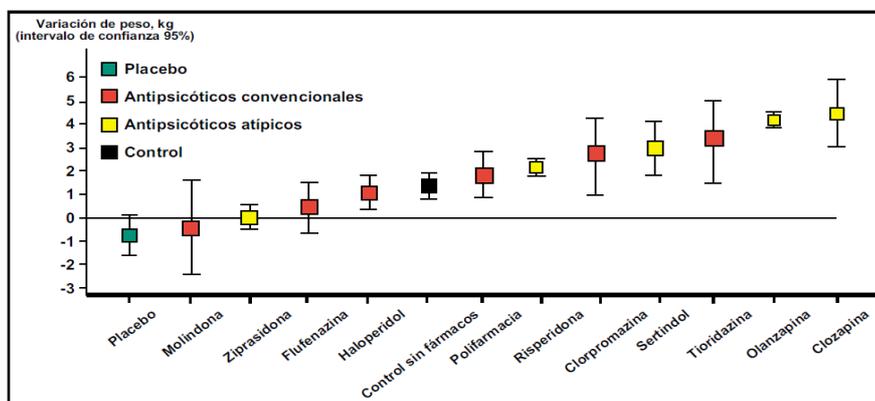


Figura 1. Suscetibilidade ao ganho de peso decorrente do uso de antipsicóticos a curto prazo, ao longo de 10 semanas de tratamento, em pacientes esquizofrênicos. Adaptado de Allison *et al.*, (1999).

Tabela 1. Relação de estudos a partir do início da década de 90 relacionados ao uso crônico de antipsicóticos e ganho de peso. As colunas 1 e 2 contêm as variáveis investigadas e os principais achados descritos nos artigos originais.

Variáveis	Achados	Estudos
Idade	Jovens apresentam maior risco	Kelly et al. 1998; Kinon et al. 1998; Lane et al. 2003 Wetterling and Mussigbrodt 1999
Sexo	Mulheres maiores que homens Homens maiores que mulheres Sem diferença entre homens e mulheres	Gopaldaswamy and Morgan 1985 Kinon et al. 1998 Lane et al. 2003
Etnia	não-brancos ganharam mais peso do que os brancos	Basson et. Al 2001; Lane et al. 2003
Ambiente	maior ganho de peso em pacientes internados	Lane et al. 2003
Tabagismo	Sem associação	Ellingrod et al. 2002
Aumento do apetite	Associação positiva	Brady 1989; Kinon et al. 1998
Peso basal	Normal ou sobrepeso no início do pré-tratamento tem maior risco	Kinon et al. 1998; Lane et al. 2003
Exposição ao tratamento anterior	Antipsicótico virgens de tratamento tem alto risco Número ou duração das internações anteriores: nenhum Associação	Wetterling and Mussigbrodt 1999 Lane et al. 2003
Dose	Positiva associação Sem associação	Lane et al. 2003; Nemeroff 1997 Ganguli 1999; Johnson and Breen 1979
Duração	Ganho de peso com risperidona foi de 3,3 kg depois de 1 ano Risperidona (dose diária média modal = 4,9 mg) ganho de peso 2,3 kg após 2 anos A olanzapina (dose diária média = 15 mg; SD 2.5) ganho de peso 11,8 kg, após um ano Ganho de peso com Olanzapina afunilou-se entre as semanas 30 e 40 Ganho de peso com Clozapina foi maior o durante o primeiro ano mas continuou até 36 meses e depois se estabilizou Estabilizou em 20 semanas com olanzapina e clozapina versus 10 semanas com a risperidona	Amery et al. 1997 Csernansky et al. 1999 Beasley et al. 1997 Eli Lilly (unpublished data); Nemeroff 1997 Umbricht et al. 1994 Wirshing et al. 1999
Formulação	oral e depósito igualmente provável	Gaulin et al. 1999; Johnson and Breen 1979
Nível Plasmático	Limite de concentração plasmática dose ponderada de 20,6 ng / mL associados com maior probabilidade de ganho de peso durante o tratamento com olanzapina	Perry et al. 2005
Resposta Clínica	Relação positiva Sem relação relação positiva com a olanzapina e a clozapina, nenhuma relação com a risperidona e haloperidol relação negativa com a clozapina	Bustillo et al. 2003; Dobmeier et al. 2000; Gupta et al. 1999; Jalenques et al. 1996; Kinon et al. 1998; Kryspin-Exner 1996; Lane et al. 2003; Leadbetter et al. 1992; Planansky and Heilizer 1959 Lamberti et al. 1992; Umbricht et al. 1994 Czobor et al. 2002 Zhang et al. 2003
Classe de antipsicóticos	Atípicos mais que convencionais	Allison et al. 1999; Wetterling and Mussigbrodt 1999

O ganho de peso associado ao uso de antipsicóticos de primeira geração foi relatado logo após a sua introdução (McIntyre *et al.*, 2001). A metanálise de Allison e colaboradores (1999) avaliou 81 estudos envolvendo, principalmente, pacientes com esquizofrenia. Os dados desta metanálise permitiram concluir que a exposição individual aos fármacos de primeira e de segunda geração resultaram em ganho de peso em curto tempo, ou seja, aumento de peso dos pacientes ao longo de 10 semanas de uso contínuo do medicamento. Um espectro de suscetibilidade de ganho de peso foi relatado para a clozapina, que representou ganho de 4,0 Kg, seguido pela olanzapina e tioridazina com 3,5 Kg, sertindol com 2,9 Kg, clorpromazina com 2,1 Kg, risperidona com 2,0 Kg e ziprasidona com 0,04 Kg. Outros relatos estimaram a suscetibilidade do ganho de peso da quetiapina e aripiprazol serem semelhantes ao da risperidona e ziprasidona, respectivamente (Borison *et al.*, 1996; Peuskens e Link, 1997). Os antipsicóticos aripiprazol, ziprasidona e risperidona apresentaram suscetibilidade de ganho de peso a curto prazo aproximadamente 2 vezes maior que o placebo, 4 vezes maior para a quetiapina e 10 vezes maior para a olanzapina quando comparados ao placebo (Casey *et al.*, 2004).

Para a maioria dos antipsicóticos de segunda geração, a taxa de aumento de ganho de peso é maior nos primeiros 2 a 3 meses de tratamento, embora um maior período de risco de ganho de peso tenha sido relatado com a olanzapina (6 a 9 meses) e clozapina (> 1 ano). É importante ressaltar que essas estimativas são extrapoladas a partir de populações heterogêneas de pacientes. Dentro desses estudos, os pacientes apresentam variações interindividuais significativas, sendo que alguns pacientes manifestam um lento e constante aumento do peso corporal durante vários anos de tratamento (Casey *et al.*, 2004).

1.3 Olanzapina

Olanzapina é uma tiofenobenzodiazepina, que é um composto heterocíclico contendo um anel diazepina fundido a um anel tiofeno e um anel de benzeno. Quimicamente é o 2-metil-4-(4-

metil-1-piperazinil)-10H-tieno[2,3-b] [1,5] benzodiazepina (Figura 2). A estrutura da olanzapina é semelhante ao da clozapina, que é o antipsicótico atípico arquetípico (Green, 2000; Trevitt *et al.*, 1999).

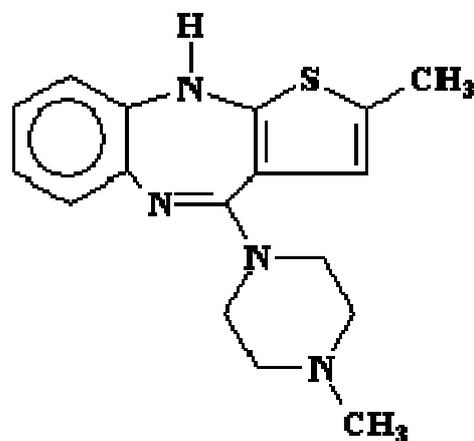


Figura 2. Fórmula estrutural da olanzapina, um antipsicótico de segunda geração considerado o medicamento de escolha para o tratamento da esquizofrenia. A fórmula molecular do fármaco é $C_{17}H_{20}N_4S$.

Experimentos *in vitro* demonstraram que a olanzapina afeta os receptores-chave relacionados com a esquizofrenia. O perfil de ligação indica que a olanzapina tem alta afinidade pelos receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C} e 5-HT₆ de serotonina e H₁ de histamina. Adicionalmente, a olanzapina apresenta afinidade moderada para o receptor D₂ de dopamina e para os receptores de muscarínicos de acetilcolina. Por outro lado, a olanzapina tem uma baixa afinidade para os receptores β-adrenérgicos (Stephenson *et al.*, 1999; Trevitt *et al.*, 1999). A olanzapina também interage não-seletivamente com receptores de dopamina e outros receptores de serotonina, como 5-HT₁, 5-HT₃, 5-HT₄ e 5-HT₇.

Estudos clínicos duplo-cegos demonstraram que a olanzapina é altamente eficaz no tratamento de sintomas psicóticos, com baixa possibilidade em induzir discinesia tardia ou parkinsonismo (Trevitt *et al.*, 1999). Em contraste com a clozapina, a olanzapina não causa agranulocitose nos pacientes. Apesar da clozapina apresentar vantagens claras sobre os antipsicóticos tradicionais, e causar menos efeitos colaterais extrapiramidais, a agranulocitose pode ser muito grave e pode ser fatal. Portanto, a olanzapina tem sido considerada como a droga

de primeira linha e amplamente utilizada no tratamento das psicoses (Green, 2000; Stephenson *et al.*, 1999).

Apesar de ser uma droga de escolha para o tratamento das psicoses, sobretudo para o tratamento da esquizofrenia, a olanzapina também apresenta efeitos colaterais, sendo mais comum o aumento de peso. Vários relatos clínicos têm demonstrado que o uso contínuo de olanzapina é acompanhado de aumento da gordura corporal, dos níveis séricos de glicose e triglicérides, e do aumento da produção de insulina e leptina. Todos os fatores mencionados induzem ganho de peso (Eder *et al.*, 2001; Melkersson *et al.*, 2000; Osser *et al.*, 1999). Investigações também mostraram que o uso da olanzapina aumenta significativamente o risco de desenvolver diabetes tipo II quando comparada ao uso dos antipsicóticos convencionais (Koro *et al.*, 2002).

McIntyre e colaboradores (2001b) relataram, após avaliar retrospectivamente 396 pacientes tratados com antipsicóticos, que a olanzapina tende a causar uma maior incidência de diabetes tipo II do que outros antipsicóticos. Naquele estudo, a prevalência de diabetes tipo II na população em geral foi de 5%-7%. No entanto, observou-se que a incidência de diabetes tipo II causada pela olanzapina foi de 11%, em comparação a 6,6% por haloperidol, 6% por risperidona, e 4,5% por flufenazina. Ganho excessivo de peso e obesidade nos pacientes tratados com antipsicóticos aumenta, portanto, o risco de outras doenças, como hipertensão arterial e doença vascular cerebral. Este efeito secundário também causa sofrimento ao paciente e seus familiares, afetando sua autoestima e diminuindo a adesão ao tratamento.

1.4 Obesidade

A obesidade é definida como o estado de grave aumento no peso corporal especialmente do tecido adiposo prejudicando a saúde dos indivíduos. Um método simples para medir a obesidade é calcular o índice de massa corporal (IMC), que é definido como o peso em quilos dividido pelo quadrado da altura em metros (Kg/m^2). A Tabela 2 contém a classificação da

Organização Mundial de Saúde (OMS) para o IMC (Leong *et al.*, 1999; Spiegelman *et al.*, 2001). Um terço dos norte-americanos são obesos com IMC superior a 25 kg/m². A obesidade tornou-se um problema de saúde em todo o mundo e é um fator de risco conhecido para doenças cardiovasculares, respiratórias, gastrintestinais, metabólicas e alguns tipos de câncer (McIntyre *et al.*, 2001a; Spiegelman *et al.*, 2001).

Tabela 2. O índice de massa corporal é uma medida, proposta pela Organização Mundial de Saúde, internacionalmente usada para determinar o grau de obesidade de uma pessoa. O IMC é uma relação do peso pelo quadrado da altura do indivíduo.

IMC	Classificação
< 18,5	Abaixo do peso
18,5 - 24,9	Peso Normal
25 - 29,9	Sobrepeso
30 - 34,9	Obesidade Grau I
35 - 39,9	Obesidade Grau I
> 40	Obesidade Grau I

Fonte: Leong *et al.*, 1999.

O peso corporal é mantido por um delicado equilíbrio entre a ingestão calórica e o gasto energético. A pessoa ganha peso quando ele está em balanço energético positivo (Figura 3). Os mecanismos de regulação no balanço energético e peso corporal incluem o controle do sistema nervoso central (SNC), neuropeptídios e citocinas (McIntyre *et al.*, 2001; Spiegelman *et al.*, 2001).

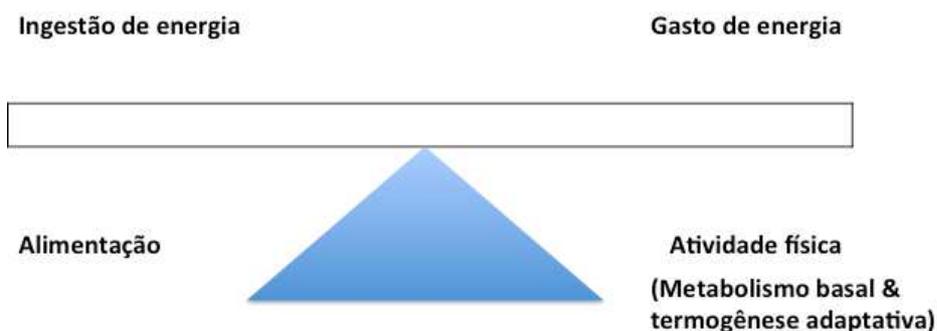


Figura 3. Esquema ilustrativo do sistema de equilíbrio calórico para a manutenção do peso. Taxa metabólica, atividade física e efeito calórico do alimento afetam o equilíbrio calórico positiva ou negativamente, consequentemente, alteram o balanço regulatório do peso corporal. Adaptado de Spiegelman *et al.*, 2001.

O SNC influencia o balanço de energia, afetando os comportamentos alimentar e físico afetando o sistema neuroendócrino. O hipotálamo é uma região do cérebro relacionado com a regulação da ingestão de alimentos. A atividade das monoaminas no hipotálamo é indicada como sendo parte responsável por esta regulação. A dopamina diminui o comportamento alimentar em modelos animais (Floris *et al.*, 2001). A serotonina também diminui a ingestão de alimentos, sugerindo que antagonistas da serotonina estimulam a ingestão de alimentos. Camundongos deficientes de receptor 5-HT_{2C} têm se mostrado acima do peso e com comer compulsivo (Tecott *et al.*, 1995). Receptores de histamina (H₁, H₂, H₃) no hipotálamo são também conhecidos por estarem envolvidos na mediação do comportamento de beber. Antagonismo histaminérgico aumenta o peso por estimular o apetite (McIntyre *et al.*, 2001b). Neuropeptídeos e citocinas também foram relatadas por afetar regulação do peso. Estes peptídeos, como a insulina, leptina e fator de necrose tumoral α (TNF- α), têm demonstrado estarem envolvidos na regulação da glicemia e do metabolismo geral (McIntyre *et al.*, 2001a).

1.4.1 Dopamina

Uma evidência convincente indica que as catecolaminas são importantes nas regulações do apetite, do comportamento alimentar e do peso corporal. Por exemplo, uma absoluta ou

relativa diminuição da disponibilidade de dopamina hipotalâmica está associada a um aumento do comportamento alimentar em modelos animais. Evidências preliminares também sugerem que os pacientes obesos podem ter uma diminuição de sua disponibilidade por um mecanismo de *downregulation* dos receptores dopaminérgicos D₂ do estriado (Wang *et al.*, 2001). Estas observações proporcionaram o impulso para o desenvolvimento de anorexígenos baseados em monoaminas (por exemplo, anfetaminas) e sugerem um modelo mecanicista para o GPAA (Parada *et al.*, 1989, Parada *et al.*, 1991)

1.4.2. Fator de Necrose Tumoral α (TNF- α)

TNF- α é uma citocina, conhecida como fator de necrose tumoral α , que foi identificada pela primeira vez no soro de camundongos tratados com endotoxina e é responsável pela necrose hemorrágica de tumores (Argiles *et al.*, 1997; Old, 1985). A TNF- α possui dois receptores, tipo I (p55), uma proteína de 55 kDa, e tipo II (p75), uma proteína de 75 kDa. O papel fisiológico da TNF- α é como mediador da transdução de sinal através da formação de complexos proteicos na adaptação citoplasmática (Ruan *et al.*, 2003). Assim, TNF- α exerce uma variedade de efeitos sobre a promoção e inibição do crescimento celular, citotoxicidade e inflamação, além de desempenhar um papel importante na regulação do metabolismo, das respostas imunes e dos comportamentos alimentares (Aggarwal *et al.*, 1996). Diferentes tipos de células, como macrófagos, monócitos, adipócitos e células musculares expressam TNF- α (Saghizadeh *et al.*, 1996).

Alguns estudos têm indicado que uma ligação entre o gene TNF- α e a obesidade. A expressão de RNAm e a produção de proteínas TNF- α estão aumentadas em tecido adiposo de seres humanos obesos. A concentração plasmática de receptores solúveis de TNF- α (TNFR) também foram encontrados aumentados em indivíduos obesos. A redução do peso dos indivíduos obesos é acompanhado com uma diminuição na expressão de RNAm do TNF- α

(Hauner *et al.*, 1998; Hotamisligil *et al.*, 1995). A TNF- α pode desempenhar um papel na patogênese da síndrome metabólica (Ritche *et al.*, 2006) e aterosclerose (Ferrara *et al.*, 2006).

A obesidade é frequentemente associada à resistência à insulina e ao diabetes tipo-II. A TNF- α age bloqueando a captação de glicose mediada pela insulina em cultura celular (Hotamisligil *et al.*, 1994a). A presença de TNF- α reduz os níveis de RNAm do transportador 4 de glicose (GLUT₄) nos adipócitos e miócitos cultivados (Stephens *et al.*, 1997). Ela também reduz a atividade catalítica do receptor de insulina. Este efeito foi observado pela sua capacidade em reduzir a insulina, estimulando a autofosforilação do receptor de insulina e a fosforilação do substrato do receptor de insulina 1 (IRS-1) (Hotamisligil *et al.*, 1994b). A neutralização de TNF- α com a administração intravenosa de TNFR-IgG em ratos Zucker fa/fa melhoraram drasticamente a sensibilidade à insulina por aumento da fosforilação em tirosina do receptor de insulina e IRS-1 (Hotamisligil *et al.*, 1994a, 1994b).

Leptina também compartilha sequência e homologia estrutural com família dos receptores de citocinas, como interleucina-6 (IL-6). Não é de estranhar que também possa estar envolvida em atividades imunológicas relacionadas com TNF- α . Tem sido conhecido que altas concentrações de leptina são observadas em pacientes obesos e diabéticos. Muitos estudos indicam que TNF- α possa estimular a secreção de leptina nos adipócitos. O mecanismo de como TNF- α afeta a produção de leptina ainda é incerto. Receptores TNF- α também podem mediar hiperleptinemia inflamatória. Estudos têm demonstrado que p55 TNFR foi essencial para TNF- α estimular a secreção de leptina (Finck *et al.*, 2000; Finck *et al.*, 2002; Moller, 2000; Sethi *et al.*, 1999).

A TNF- α pode afetar o metabolismo de proteínas, glicose e lipídios. Tem sido relatado que a infusão prolongada de TNF- α prejudica a disponibilidade de glicose e insulina no organismo, estimulando a supressão da produção de glicose hepática em ratos (Moller, 2000). A baixa expressão do RNAm de GLUT₄ e a diminuição da atividade da quinase do receptor de insulina pela TNF- α prejudicam também a homeostase da glicose (Stephens *et al.*, 1997). TNF- α

poderia estimular a lipólise inibindo a ação da lipoproteína lipase, uma enzima responsável pela hidrólise de triglicerídeos e lipoproteínas para a entrada de ácidos graxos em adipócitos. TNF- α também aumentou a atividade da lipase hormônio-sensível, uma taxa de enzima limitante de vias lipolíticas (Argiles *et al.*, 1997). Essas ações resultaram na elevação dos níveis séricos de lipídios, como triglicerídeos e ácidos graxos livres (FFA) e uma diminuição do colesterol HDL (Grimble, 2000; Ruan *et al.*, 2003).

Aumento dos níveis de FFA têm demonstrado reduzir a absorção e metabolismo da glicose no coração e nos músculos do diafragma de ratos inibindo a sinalização da insulina e síntese de glicogênio no músculo. O aumento na oxidação de FFA também tem elevado os índices de disfunção mitocondrial em acetil-CoA: CoA e NADH: NAD⁺, resultando na utilização de glicose mediado pela insulina. Portanto, a TNF- α pode influenciar o progresso da resistência à insulina por níveis alterados de FFA (Ruan *et al.*, 2003; Sethi *et al.*, 1999).

1.5 Ganho de peso induzido por olanzapina e citocinas

Olanzapina apresenta risco na indução do ganho de peso em alguns pacientes, acompanhada de níveis elevados de glicose, lipídios, insulina e leptina. Como os hormônios envolvidos na regulação do comportamento alimentar e metabolismo de nutrientes, as alterações da insulina e leptina irão exercer efeitos diretos sobre o metabolismo da glicose e lipídios. Estas anomalias podem dar origem a um desenvolvimento de resistência à insulina, resultando em diabetes induzida por fármacos e aumentar o risco de doença cardiovascular. Vários relatos clínicos têm demonstrado que os níveis sanguíneos de TNF- α e/ou TNFR estão aumentados em pacientes tratados com antipsicóticos. Clozapina induz um aumento significativo nos níveis plasmáticos de TNF- α , TNFR p55 e TNFR p75 após o tratamento de várias semanas o que pode provocar ganho de peso (Pollmacher *et al.*, 1996). A olanzapina, um análogo estrutural da clozapina, também foi relatada para aumentar o nível plasmático de TNFR nos pacientes tratados (Schuld *et al.*, 2000).

Os antipsicóticos de segunda geração podem induzir obesidade e aumentar o risco de desenvolver diabetes tipo II. O papel da TNF- α na indução do ganho de peso precisa ser avaliado em associação com os esquemas terapêuticos com olanzapina. Vários estudos recentes mostraram também que a olanzapina aumenta o comportamento alimentar em animais (Arjona *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2002; Pouzet *et al.*, 2003). Um estudo tentou analisar a relação entre a alteração de neurotransmissores dopamina, serotonina e seus metabólitos e a ingestão de alimentos (Arjona *et al.*, 2004). No entanto, o mecanismo de indução de o ganho de peso pela olanzapina e as alterações do metabolismo associadas ao ganho de peso induzido ainda não estão claros e carecem de elucidação.

1.6 Farmacogenética

As diferenças entre indivíduos e suas predisposições ao GPAA indicam que variações comuns da sequência do DNA genômico, denominados polimorfismos, podem ser responsáveis pela susceptibilidade individual associada ao ganho de peso decorrente da farmacoterapia. Alternativamente, polimorfismos genômicos podem estar em desequilíbrio de ligação com outro(s) gene(s) mais importante(s). Por exemplo, os genes que são responsáveis pelo GPAA podem estar mais prevalentes do que o esperado, de modo aleatório por sorteio devido à co-herança com outros genes mais importantes. Os polimorfismos gênicos possibilitam a produção de proteínas variantes que diferem na conformação estrutural e/ou na atividade (Basile *et al.*, 2001). As mudanças sutis na estrutura e na função das proteínas podem prenunciar padrões diferenciados de resposta individual, como a ocorrência de eventos adversos aos antipsicóticos disponíveis. Investigações farmacogenéticas têm tentado identificar associações entre os polimorfismos genômicos e GPAA díspares. Polimorfismos que codificam proteínas envolvidas na farmacodinâmica e na farmacocinética de medicamentos tem sido a área de maior interesse investigativo.

O gene do receptor 5-HT_{2C} de serotonina (*5HT_{2C}*) está localizado no cromossomo Xq24 e possui um polimorfismo na região promotora constituída por uma substituição de base do tipo transversão, na qual uma citosina (C) é trocado por uma timina (T) na posição -759 da região reguladora 5' (Niswender *et al.*, 1998; Pooley *et al.*, 2004). Em seres humanos, polimorfismos do 5HT_{2C} podem estar associados com o desenvolvimento de obesidade e resistência à insulina em indivíduos normais. O alelo variante que contem T pode oferecer um efeito protetor contra o ganho de peso, talvez relacionado ao maior nível transcricional deste gene, afetando a regulação do apetite e conferindo um fenótipo resistente à obesidade (Yuan *et al.*, 2000). Assim, o papel dos polimorfismos de *5HT_{2C}* tem sido extensamente investigado no GPAA (Buckland *et al.*, 1997).

Clozapina exibe uma elevada afinidade para o receptor D₄ da dopamina. Rietschel e colaboradores (1996) não encontraram uma associação significativa entre quatro polimorfismos do gene D₄ (*DRD4*) e o ganho de peso induzido pela clozapina em uma coorte de 149 pacientes esquizofrênicos e esquizoafetivos. Zhang e colaboradores (2003) também não encontraram associação entre indução de ganho de peso pela clozapina e o polimorfismo *TaqIA* no gene receptor de dopamina D₂ (*DRD2*).

Polimorfismos para os receptores de histamina também foram examinados por Hong e colaboradores (2002), que não encontraram uma associação entre o ganho de peso associada à clozapina em pacientes com esquizofrenia e dois polimorfismos para o receptor H₁ da histamina. Basile e colaboradores (2001) também relataram uma associação não significativa entre ganho de peso associada ao uso de clozapina e um SNP para o gene *H₁* do receptor da histamina nem para o polimorfismo -1018 A/G do gene *H₂* do receptor de histamina.

Reynolds e colaboradores (2002) avaliaram uma amostra populacional de 123 pacientes chineses da etnia *han* com primeiro episódio esquizofrênico e relataram que os casos eram significativamente menos prováveis de exibir GPAA se tivessem o polimorfismo -759C/T na região promotora de *5HT_{2C}*. Também relataram para aquela população que o polimorfismo -

759C/T respondia por até 18% (32% nos homens) da variação do ganho de peso atribuível ao uso da clozapina (Reynolds *et al.*, 2003).

Templeman e colaboradores (2005) relataram a associação entre os polimorfismos -759C/T de *HT_{2C}* e -254A/G do gene da leptina com GPAA em pacientes com primeiro episódio psicótico. Os antipsicóticos prescritos foram risperidona (n=26), olanzapina (n=19), haloperidol (n=10), quetiapina (n=11), ziprasidona (n=6) e amisulprida (n=1). Pacientes com o genótipo variante T/TC ganhavam significativamente menos peso após 6 semanas, 3 meses e 9 meses de tratamento com antipsicóticos. Esta associação foi relatada em grupos de pacientes com IMC inicial "muito baixo" (<18) e IMC inicial "muito alto" (> 28).

Não houve associação entre o genótipo da leptina e IMC basais ou mudanças no IMC em 6 semanas ou 6 meses pós-tratamento. Após 9 meses de tratamento, pacientes com o genótipo GG no gene da leptina tenderam ao aumento do IMC em relação aos genótipos AA ou AG (GG=5,8; AG=3,6; AA=3,4). Os indivíduos com alelo A (AA / AG) tiveram um aumento no IMC (AA / AG = 3,58 vs. GG = 5,81). Estes dados estenderam aos achados anteriores, indicando que o genótipo do SNP -759C/T de *HT_{2C}* pode oferecer proteção a longo prazo contra GPAA. Por outro lado, o polimorfismo -2548A/G da leptina foi associado ao aumento de peso a longo prazo em pacientes que receberam a medicação antipsicótica.

Miller e colaboradores (2005) relataram que o alelo -759T pode ser protetor contra GPAA. A frequência do alelo -759T foi menor nos pacientes que apresentavam um aumento de 7% ou mais do seu IMC basal. Indivíduos sem um alelo -759T tiveram também um risco significativamente maior para GPAA e um aumento do IMC em relação ao grupo sem o polimorfismo.

A proteína sinaptossomo de 25 kDa (SNAP-25) é uma proteína plasmática pré-sináptica envolvida na ancoragem das vesículas e maquinaria de fusão na mediação da secreção de neurotransmissores. SNAP-25 é distribuída regionalmente e está envolvida na plasticidade celular e sinaptogênese. Estudos *post-mortem* relataram uma menor imunorreatividade de

SNAP-25 em regiões corticais e subcorticais (hipocampo e cerebelo) do cérebro. SNAP-25 pode afetar a liberação de insulina das células pancreáticas e também pode ser relevante para o desempenho correto da função dos receptores de insulina (Muller *et al.*, 2005). Muller e colaboradores (2005) pesquisaram polimorfismos do gene *SNAP-25*, sensíveis ao corte das enzimas de restrição *DdeI*, *MnII* e *TaiI*, e sua associação com a resposta aos medicamentos antipsicóticos e ganho de peso. Os autores relataram que o polimorfismo *TaiI*, mas não o polimorfismo *DdeI*, estão associadas com a resposta clínica e o ganho de peso. O genótipo T/T do polimorfismo *MnII* foi associado significativamente com maior ganho de peso do que os genótipos T/G e G/G. Resultados semelhantes foram relatados para o polimorfismo *TaiI*, nos quais os portadores do genótipo C/C ganharam significativamente mais peso do que os portadores dos genótipos T/C e T/T (Muller *et al.*, 2005).

Estudos analisando a relação entre GPAA e polimorfismos têm também verificado associações com proteínas de metabolização de drogas. Por exemplo, a olanzapina é metabolizada por várias isoenzimas de citocromos (*CYP*) (Prior e Baker, 2003). Ellingrod e colaboradores (2002) relataram uma associação positiva entre as variantes do genótipo em *CYP2D6* e ganho de peso associada à olanzapina. Estes resultados concordam com o relato de Perry e colaboradores (2005), que sugeriram que o aumento na concentração plasmática da olanzapina pode predispor ao ganho de peso nos pacientes.

Tomados em conjunto, é provável que o GPAA seja causado por vários diferentes mecanismos, incluindo aspectos neurobiológicos, genéticos e ambientais. A estimulação do apetite através da interação com receptores centrais no nível do hipotálamo é provavelmente o mecanismo predominante. Um modelo coerente e abrangente do mecanismo subjacente ao GPAA ainda não está disponível. Pessoas com transtorno depressivo maior, transtorno bipolar e esquizofrenia compreendem um grupo de risco para a obesidade e as alterações metabólicas associadas ao tratamento (McIntyre e Konarski 2005). Conjectura-se que os mecanismos para o

GPAA possam coincidir com os substratos neurobiológicos de alguns sintomas psiquiátricos (McIntyre *et al.*, 2001a).

1.7 Seleção de SNPs

Dois SNPs foram escolhidos para avaliar a associação do GPAA com o perfil genético dos pacientes. Foram escolhidos os genes *DRD2* da dopamina e o gene da citocina TNF- α . Estes genes foram selecionados como candidatos putativamente associados a indução de ganho de peso, com base nos relatos previamente publicados na literatura internacional.

1.7.1 Polimorfismo *TaqIA* do gene do receptor D2 de dopamina

O gene *DRD2* está localizado em 11q22-q23 (com tamanho aproximado de 66.097 pb). Este gene codifica o subtipo D2 do receptor de dopamina, uma proteína transmembrana, que se acopla à proteína G e inibe a atividade da adenilil-ciclase. Por um mecanismo de *splicing* alternativo, o gene *DRD2* codifica para duas isoformas proteicas molecularmente distintas – D2S e D2L – que são co-expressas, embora haja um favorecimento da produção de D2L. As duas isoformas diferem entre si pela presença de 29 aminoácidos adicionais na D2L (Picetti *et al.*, 1997). Fisiologicamente, as duas formas do receptor D2 tem funções fisiológicas distintas. D2L atua principalmente nas regiões pós-sinápticas enquanto D2S participa com uma função auto-receptora pré-sináptica (Usiello *et al.*, 2000).

DRD2 é um gene altamente polimórfico e, portanto, existem diversos SNPs descritos para o gene. No entanto, muita atenção tem sido dedicada ao SNP C32806T, caracterizado por uma transição C→T localizada numa região não codificante do locus *DRD2*, que parece afetar a disponibilidade do receptor D2 e seu alelo A₁(T) esta potencialmente associado a uma taxa metabólica de glicose reduzida na regiões dopaminérgicas do cérebro humano. O SNP C32806T está localizado no domínio de quinase em um região repetitiva no gene ANKK1 (anquirina), localizado em 11q23.1, a jusante (*downstream*) do gene *DRD2* (Neville *et al.*, 2004).

O papel funcional do polimorfismo C32806T em *DRD2* ainda permanece desconhecido (Munafó *et al.*, 2005). Adicionalmente, o polimorfismo C32806T do gene *DRD2* tem sido descrito em associação com ganho de peso induzido. Este polimorfismo pode ser identificado por *RFLP*, usando-se a enzima de restrição *TaqIA* (Behravan *et al.*, 2008).

Segundo Stahl (2005) a olanzapina, um medicamento do grupo dos antipsicótico atípicos, é utilizado no tratamento de desordens neuropsiquiátricas para aliviar os sintomas decorrentes da hiperatividade de dopamina no sistema mesolímbico. A olanzapina atua bloqueando o receptor D2 de dopamina, o que reduz a atividade de dopamina em sua via. No entanto, o uso de olanzapina apresenta efeitos colaterais, sendo o GPAA o mais exacerbado. Segundo Kapur & Seeman (2001) e Stahl (2005), o bloqueio do receptor D2 por antipsicóticos atípicos, como a olanzapina, é do tipo *hit-and-run* – também conhecido como “dissociação rápida” – e, portanto, embora o medicamento cause sua ação antipsicótica, ele se desacopla do receptor muito rapidamente, que retorna ao seu estado livre.

1.7.2 Polimorfismo G-308A no gene da citocina TNF- α

O gene *TNF- α* está localizado em 6p21.1-p21.3. A substituição de G \rightarrow A na posição -308 no sítio de iniciação de transcrição na região promotora do gene foi identificada inicialmente por Wilson e colaboradores (1992). O polimorfismo consiste numa substituição de base do tipo transição de guanina (G) por uma adenina (A). Alguns estudos têm indicado um papel fundamental deste SNP na patogênese de vários componentes da síndrome metabólica e resistência à insulina (Sookoian *et al.*, 2005). Vários estudos de associação têm sido realizados sobre a variante G-308A, com resultados conflitantes. Fernandez-Real e colaboradores (1997) relataram uma associação significativa entre a variante G-308A e a sensibilidade à insulina, aumento do IMC e aumento da produção de leptina, sugerindo um papel importante na superalimentação e obesidade.

2 Objetivos

2.1 Geral

Investigar o potencial GPAA, decorrente do uso crônico de olanzapina em pacientes com esquizofrenia ou com transtorno bipolar, associado aos SNPs *TaqIA* associado ao gene *DRD2* da dopamina e G-308A no gene *TNF- α* .

2.2 Específicos

- a) Identificar diferenças no polimorfismo genético entre os casos que poderiam potencialmente influenciar a variabilidade no GPAA entre os pacientes.
- b) Identificar fatores de risco genéticos associados com ganho de peso induzido pela olanzapina.
- c) Buscar a possibilidade futura de identificar pacientes, antes do uso de olanzapina, de terem maior ou menor potencial de ganho de peso e conseqüente risco metabólico.
- d) Avaliar alterações bioquímicas e sua relação com o ganho de peso induzido pela olanzapina.

3. Materiais e Métodos

3.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo observacional de coorte retrospectiva, delineada para avaliar o desfecho do ganho de peso induzido pelo tratamento com olanzapina como antipsicótico. O estudo foi conduzido no Núcleo de Pesquisas Replicon (NPR) do Departamento de Biologia da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, em parceria com o LaGene – Laboratório de Citogenética Humana e Genética Molecular do Laboratório de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros da Secretaria de Saúde do Estado de Goiás e com a Pax Clínica Psiquiátrica – Instituto de Neurociências.

3.2 Grupo Amostral

Participaram da coorte, 21 pacientes, de ambos os sexos, com idades variando de 24 a 70 anos. Todos os indivíduos foram diagnosticados com esquizofrenia ou transtorno bipolar e em uso crônico de olanzapina, com doses diárias variando de 2,5 a 20 mg. O diagnóstico de esquizofrenia ou de transtorno bipolar foi realizado na Pax Clínica Psiquiátrica, de acordo com os critérios do DSM-IV-TR (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Retardation – Fourth Revision – text revision*). Todos os pais e/ou responsáveis foram entrevistados e preencheram o termo de consentimento livre e esclarecido para a participação no estudo e a utilização dos dados para pesquisa. Todos os participantes foram avaliados, pessoalmente, pelo pesquisador, sendo registradas as variáveis clínicas, incluindo altura, peso, dose diária de olanzapina utilizada no período, duração do tratamento, uso de medicações concomitantes, tabagismo e etilismo. Adicionalmente, no momento da entrevista os participantes assinaram um termo de anuência, autorizando a obtenção e avaliação mediante a observação retrospectiva dos prontuários médicos por um período mínimo de 12 meses, incluindo resultados dos exames bioquímicos, peso e altura e IMC.

Os participantes selecionados alcançaram os seguintes critérios de inclusão: 1) diagnóstico de esquizofrenia ou de transtorno bipolar pelos critérios do DSM-IV-TR; 2) 18 anos \leq idade \geq 70 anos; 3) pacientes ambulatoriais em uso de olanzapina por no mínimo 12 meses; e 4) preenchimento do consentimento informado, caracterizando participação voluntária no estudo.

3.3 Caracterização das amostras biológicas

Amostras de sangue periférico heparinizado foram obtidas dos participantes no Replicon/LaGene localizados na PUC – Goiás. A coleta foi feita mediante venipunção de 5mL de sangue periférico no antebraço, seguindo-se os critérios, cuidados e procedimentos operacionais padronizados internacionalmente para a coleta de sangue venoso em adultos.

3.4 Extração isolamento e quantificação do DNA

O DNA genômico foi purificado a partir de 300 μ L do sangue total usando-se um kit comercial de extração de DNA (Easy[®] DNA Purification Kit, Invitrogen, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. A concentração de DNA foi estimada em cada amostra mediante análise comparativa em géis de agarose a 1%, corados com brometo de etídio (10 μ g/mL) usando-se o marcador de tamanho *Low DNA Mass*[®] (Invitrogen, EUA).

3.5 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

3.5.1 Sistema de Amplificação Refratário a Mutações (do inglês, *Amplification Refractory Mutation System*) – ARMS-PCR

Para avaliar o polimorfismo G-308A no gene *TNF- α* foi utilizada estratégia de ARMS-PCR, inicialmente descrita por Newton e colaboradores (1989), seguindo-se o protocolo descrito por Kamali-Sarvestani e colaboradores (2007), com modificações. ARMS-PCR permite a identificação, em geral, de qualquer mutação de ponto ou pequena deleção conhecidos. Para a detecção do SNP são conduzidas duas reações complementares, uma contendo um *primer*

ARMS específico para a sequência selvagem do DNA, incapaz de amplificar o alelo mutante. A outra reação usa um *primer* específico para a sequência contendo a mutação, impedindo a amplificação do DNA tipo-selvagem. A determinação dos genótipos é feita mediante a comparação dos produtos da amplificação.

Os *primers* da ARMS-PCR usados para identificar o SNP associado ao gene *TNF- α* encontram-se descritos na Tabela 3. Como controle interno da reação foram usados os oligonucleotídeos iniciadores para o gene da β globina humana (Tabela 3). Os amplicons foram gerados mediante amplificação com P3 e TNFA1 para identificação do alelo contendo G ou com P3 e TNFA2 para a amplificação do alelo contendo A. Os *primers* diferem apenas no nucleotídeo terminal da extremidade 3', erro de pareamento nesta extremidade impedem a extensão e a amplificação do DNA alvo não ocorre. As reações amplificaram um DNA alvo que permitia a identificação dos genótipos homozigotos GG e AA e heterozigotos AG.

Tabela 3. Sequência de oligonucleotídeos iniciadores usados para identificar o SNP G-308A presente no gene *TNF- α* , resultante de uma transição G \rightarrow A, e para o controle interno da reação, que teve como alvo o gene da β Globina.

Primers	Posição	Sequência
P3 (primer 3')	-144/-164	5' - TCTCGGTTTCTTCTCCATCG-3'
TNFA1	-328/-308G	5' - ATAGGTTTTGAGGGGCATGA-3'
TNFA2	-320/-308A	5' - ATAGGTTTTGAGGGGCATGG-3'
β Globina F	-	5' - ACACAACGTGTTCCTACTAGC-3'
β Globina R	-	5' - CAACTTCATCCACGTTCCACC-3'

A PCR foi preparada para um volume final de 50 μ L de solução, contendo cerca de 100 ng de DNA. As condições da PCR incluíram 200 μ mol/L dNTPs, 2 mMol/L MgCl₂, 1 μ L de tampão 10X da *Taq* DNA polymerase, 1 U de *Taq* DNA polimerase (Promega Corporation, EUA) e 10 pmol de cada um dos *primers* usados na reação. Foi utilizado nas reações de amplificação o termociclador IQ5[®] (Biorad, EUA), sendo programado para realizar as condições específicas de termociclagem descritas na Tabela 4.

Tabela 4. Protocolo de termociclagem para a amplificação do SNP G-308A presente no gene *TNF- α* para a investigação de GPAA em pacientes em uso crônico de olanzapina.

Etapas	Temperatura e Tempo	No. de ciclos
Desnaturação Inicial	95°C por 5 min	1
Desnaturação	95°C por 90 seg	31
Anelamento	61°C por 150 seg	
Extensão	72°C por 60 seg	
Extensão final	72° por 10 min	1

Os produtos da PCR foram separados por eletroforese em um gel de agarose a 1,5% sob um campo elétrico constante de 100 V/cm. O gel foi corado com brometo de etídio (0,5 mg/ml) e o DNA foi visualizado em um sistema de vídeo-documentação usando-se luz UV.

3.5.2 Polimorfismo no Tamanho dos Fragmentos de Restrição (do inglês, *Restriction Fragment Length Polymorphisms*) – PCR-RFLP

Para avaliar o polimorfismo do gene *DRD2* foi utilizado a estratégia de PCR-RFLP, empregando-se a enzima de restrição *TaqIA* cujo sítio de corte contém um SNP C/T (C32806T), seguindo-se a metodologia proposta por Behravan e colaboradores (2008). A variante *TaqIA* do gene *DRD2* foi identificado, usando-se os *primers* MP3 (5'- ACCCTTCCTGAGTGTCATCA-3') e MP4 (5'- ACGGCTGGCCAAGTTGTCTA-3'), que produzem um amplicom de aproximadamente 310 pb.

As reações de PCR foram preparadas para um volume final de 50 μ L, contendo 100 ng de DNA genômico. As reações foram preparadas com 2 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 15 mM Tris-HCl (pH 8.4), 10 pmol de cada um dos oligonucleotídeos iniciadores, 0.2 mM de cada dNTPs e 1 U de *Taq* DNA polimerase (Promega Corporation, EUA). O protocolo de termociclagem usado para a identificação do SNP associado ao gene *DRD2* encontra-se descrito na Tabela 5.

Tabela 5. Protocolo de termociclagem para a amplificação do SNP C/T (C32806T) associado ao gene *DRD2* para a investigação de GPAA em pacientes em uso crônico de olanzapina.

Etapas	Temperatura e Tempo	No. de ciclos
Desnaturação Inicial	95°C por 3 min	1
Desnaturação	95°C por 30 seg	30
Anelamento	58°C por 30 seg	
Extensão	72°C por 60 seg	
Extensão final	72° por 5 min	1

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em um gel de agarose a 1,5% sob um campo elétrico constante de 100 V/cm. O gel foi corado com brometo de etídio (0,5 mg/mL) e o DNA foi visualizado em um sistema de vídeo-documentação usando-se luz UV.

Em seguida, foi feita a restrição enzimática utilizando um volume final de 25 µL, contendo 8 µL do produto da PCR, 2,5 µL do tampão enzimático, 1 unidade da enzima *TaqIA*. O sistema permaneceu por 1 hora a 65°C em banho-maria. Os produtos da restrição foram observados após eletroforese em campo elétrico constante de 100 V/cm, usando um gel de agarose a 1,5% corado com brometo de etídio (0,5 mg/mL). A restrição enzimática dos amplicons com *TaqIA* resulta em dois fragmentos, um de 130 pb e outro de 180 pb, quando o alelo variante A₁ está presente no genoma investigado.

3.6 Determinação das taxas plasmáticas de Colesterol Total, HDL, Triglicérides, Glicose e Hemoglobina Glicada

Os dados bioquímicos foram levantados por revisão retrospectiva dos prontuários. Após levantamento foi realizada média com desvio padrão de colesterol total, HDL, triglicérides, glicose e hemoglobina glicada plasmáticos de todos os exames anotados desde o início do tratamento com olanzapina. As dosagens bioquímicas foram realizadas conforme os procedimentos operacionais padronizados para estes tipos de análises e conduzidas em laboratórios de patologia clínica.

3.7 Análise Estatística

Os níveis sanguíneos de glicose, hemoglobina glicada, triglicérides, colesterol total e frações, dose de olanzapina e IMC (antes, durante e após o tratamento) foram correlacionados com os polimorfismos genéticos, dos marcadores TNF- α e do receptor de dopamina, com a utilização do programa Bioestat 3.0. Nessas análises foram verificadas se a dose de olanzapina, assim como o tempo de uso desse medicamento, causaram modificações, tanto nos perfis bioquímicos, quanto no IMC, dos 21 pacientes analisados. As análises incluíram ANOVA, teste de log-rank (Mantel–Cox), Regressão Linear Simples. Todos os testes foram conduzidos com nível de significância de $p \leq 0,05$ e intervalo de confiança de 95%.

4 Resultados

Dos 21 pacientes que participaram do presente estudo, 7 eram mulheres e 14 eram homens. Entre as mulheres, 2 apresentavam transtorno bipolar e 1 apresentou diagnóstico de esquizofrenia. Entre os homens, havia 1 caso de transtorno bipolar e 13 casos de esquizofrenia. A média de idade das mulheres foi de 35,1 ($\pm 8,9$) e dos homens foi de 45,7 ($\pm 12,5$). A Tabela 6 a seguir contém os resultados globais, obtidos no presente estudo.

Tabela 6. Parâmetros demográficos, genóticos, clínicos e bioquímicos observados na coorte de pacientes esquizofrênicos e com transtorno afetivo bipolar em uso crônico de olanzapina que participaram do estudo de associação entre GPAA e SNPs presente nos genes *DRD2* e *TNF- α* .

Paciente	Parâmetros Demográficos		Genótipos		Parâmetros Clínicos						Média das Variáveis Bioquímicas (\pm DP)					
	Sexo	Idade (anos)	<i>DRD2</i>	<i>TNF-α</i>	CID	Dose (mg/dia)	Tempo de uso (meses)	CA (cm)	IMC ₀	IMC ₁₂	IMC _{Atual}	CT	HDL	TGC	Glic J	Hm Glic
1	F	50	*	AG	F20	20	49	97	22,6	24,4	27,7	166,0 (23,8)	47,4 (10,7)	130,6 (47,7)	90,2 (15,3)	6,9 (1,2)
2	M	39	A2/A2	AG	F31	10	70	104	27,6	26,7	29,9	254,2 (16,3)	37,0 (4,7)	228,8 (59,3)	86,5 (8,3)	5,6 (0,5)
3	F	34	A2/A2	AG	F20	20	74	80	17,9	20,6	21,5	147,7 (4,8)	48,5 (5,5)	67,3 (13,3)	84,7 (2,6)	5,2 (0,1)
4	M	39	A2/A2	AG	F20	10	112	105	18,9	26,8	27,1	202,5 (5,7)	43,8 (3,8)	204,8 (36,7)	90,5 (9,0)	5,3 (0,5)
5	M	57	A1/A2	AG	F20	10	45	109	30,5	34,2	32,8	163,0 (11,6)	37,3 (0,2)	165,7 (84,3)	85,7 (3,5)	6,1 (1,1)
6	M	43	A1/A2	AG	F20	20	20	103	27,7	27,3	27,4	185,0	34,0	208,0	94,0	6,0
7	F	39	A1/A2	AG	F31	10	63	102	23,9	27,2	29,3	208,0 (11,7)	48,3 (9,5)	121,8 (23,5)	98,6 (10,0)	5,4
8	F	25	A2/A2	AG	F31	10	60	71	18,4	19,8	18,5	202,0 (8,3)	64,5 (18,2)	102,7 (40,5)	86,5 (2,5)	5,0
9	M	27	A2/A2	AG	F20	10	28	109	26,7	27,7	31,4	180,0	50,0	150,0	88,0	5,0
10	M	40	A2/A2	AG	F20	20	103	101	24,8	27,1	31,2	142,0 (19,2)	30,3 (2,9)	209,0 (37,5)	89,7 (4,5)	2,1
11	M	43	A1/A2	AG	F20	10	53	130	39,1	42,0	42,9	169,0 (19,0)	40,0 (8,0)	224,5 (1,5)	93,0	6,2 (0,4)
12	F	38	A2/A2	AG	F20	10	70	87	15,4	20,7	22,9	222,00 (45,2)	48,3 (14,9)	233,0 (31,4)	89,7 (8,2)	7,0
13	M	42	A2/A2	AG	F20	20	56	106	25,5	26,9	29,4	130,0	36,0	155,0	83,0	7,1
14	M	43	A1/A2	AG	F20	2,5	78	105	24,7	27,2	28,4	163,0 (28,0)	33,7 (7,6)	109,6 (35,1)	81,0 (10,7)	5,5 (0,2)
15	F	36	A1/A2	AG	F20	10	57	110	35,3	39,6	43,1	207,0 (34,2)	41,5 (8,5)	538,7 (434,3)	83,3 (5,9)	5,7
16	M	70	A2/A2	AG	F20	10	60	77	25,0	26,0	21,5	185,5 (1,5)	49,0	209,5 (19,5)	81,5 (7,5)	4,4
17	M	52	A2/A2	AG	F20	10	74	108	25,3	29,0	31,1	247,5 (17,5)	26,0	253,0 (26,0)	74,5 (1,5)	6,2 (1,3)
18	M	51	A2/A2	AG	F20	10	119	121	31,1	32,3	35,2	173,8 (21,3)	34,0 (4,9)	141,0 (52,6)	95,5 (5,1)	5,1 (0,3)
19	M	28	A2/A2	AG	F20	20	92	90	21,0	25,2	25,2	180,3 (28,8)	37,3 (4,1)	76,3 (32,3)	90,3 (6,4)	6,5 (0,8)
20	F	24	A1/A1	AG	F20	10	68	90	16,7	19,2	27,5	158,0	39,0	333,0	110,0	5,5
21	M	66	A2/A2	AG	F20	10	63	93	24,8	24,7	23,2	240,3 (12,8)	35,5 (3,5)	427,8 (63,3)	92,0 (12,0)	7,8

Média	42,2	n/a	n/a	n/a	12,5	67,3	99,9	24,9	27,3	28,9	187,0	41,0	204,3	89,0	5,7
DP	12,0	n/a	n/a	n/a	5,0	23,9	13,8	5,8	5,7	6,1	33,4	8,5	111,3	7,2	1,1

Legenda:

CID (Classificação Internacional de Doenças); CA (Cintura Abdominal) IMC (Índice de Massa Corporal); CT (Colesterol Total); HDL (Colesterol de Alta Densidade); TGC (Triglicerídeos); Glic J (Glicemia de Jejum); Hm Glic (Hemoglobina Glicada); F20 (Esquizofrenia); F31 (Transtorno Afetivo Bipolar); n/a (não se aplica)

Valores de Referência e Unidades Internacionais de Medidas:

IMC (kg/m²) [≤18,5 – peso ideal; 18,5 a 24,9 – peso normal; 25,0 a 29,9 – sobrepeso; 30,0 a 34,9 – obesidade grau I; 35,0 a 39,9 – obesidade grau II; ≥ 40,0 – obesidade grau III.

Colesterol total = <200 mg/dL

HDL = 40mg/dL

Triglicerídeos = < 150 mg/dL

Glicemia de Jejum = 70 a 110 mg/dL

Hemoglobina Glicada = 4,2 a 8,0%

4.1 Polimorfismo *TaqIA* (C32806T) próximo ao gene do receptor de dopamina *DRD2* e ganho de peso

Para o gene do receptor D2 de dopamina, na população estudada foram encontrados os alelos A_1 e A_2 , resultando nos genótipos A_1A_1 ($n=1$), A_1A_2 ($n=6$) e A_2A_2 ($n=13$), conforme pode ser observado na Figura 4. Para um indivíduo não foi observada a amplificação da região estudada por PCR. Apenas 1 mulher apresentou-se homozigota para o alelo A_1 e todos os homozigotos para o alelo A_2 eram homens. Entre os heterozigotos, cerca de 33% (2/6) eram mulheres e 67% (4/6) eram homens. A Tabela 7 e a Figura 5 ilustram a distribuição genotípica do polimorfismo *TaqIA* no gene *DRD2* pelo sexo dos participantes.

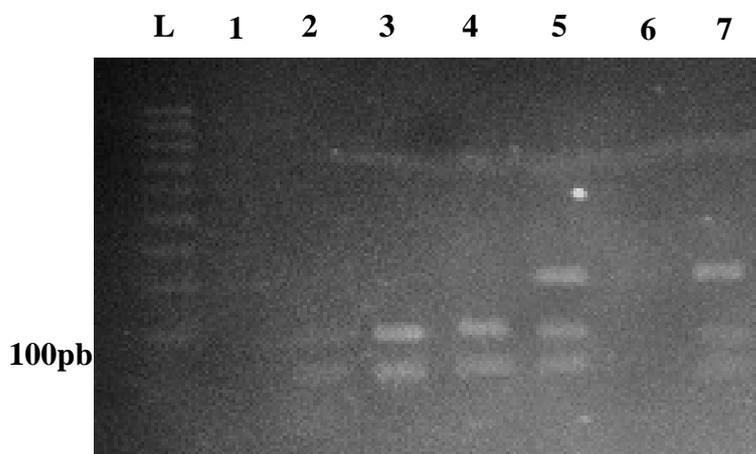


Figura 4. Perfil PCR-RFLP dos genótipos para SNP *TaqIA* no gene *DRD2*. A Canaleta L contém o marcador de peso molecular de 100pb. Canaleta 1 contém o controle negativo. Canaletas 2, 3 e 4 contêm o genótipo homozigoto A_2A_2 . Canaletas 5 e 7 contêm o genótipo heterozigoto A_1A_2 . Canaleta 6 indica a falta de amplificação para um indivíduo.

Tabela 7. Distribuição genotípica do gene *DRD2* em relação ao polimorfismo *TaqIA* de pacientes psiquiátricos em uso prolongado de olanzapina.

Genótipos	Sexo			
	Masculino		Feminino	
	n	f*	n	f
A_1A_1	0	0	1	16,7
A_1A_2	4	28,6	2	33,3
A_2A_2	10	71,4	3	50,0
<i>Total</i>	14	100	6	100

* Frequência percentual (%)

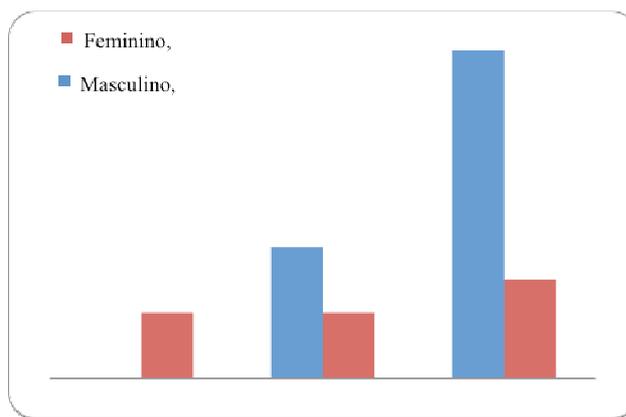


Figura 5. Distribuição quanto ao sexo dos genótipos de *DRD2* – gene do receptor D2 de dopamina – associados ao polimorfismo *TaqIA*, observados em pacientes psiquiátricos que faziam uso prolongado de olanzapina.

O teste de ANOVA (do inglês, *Analysis of Variance*) indicou diferenças significativas entre o polimorfismo *TaqIA* próximo ao gene *DRD2* e a variação média dos IMC_0 ($p=0,0185$), IMC_{12} ($p=0,0062$) e IMC_{Atual} ($p=0,0201$) dos pacientes em uso de olanzapina. A comparação entre os genótipos ($A_1A_1+A_1A_2$ e A_2A_2) com a obesidade ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) pelo teste de log-rank (Mantel–Cox) revelou significância estatística ($p=0,0392$), pode ser observado que os pacientes que possuem o alelo A_1 em seus genótipos tornam-se obesos mais precocemente (Figura 6). Os tempo de ganho de peso considerados ($> 7\%$ do IMC) para $A_1A_1+A_1A_2$ e A_2A_2 foram de 57 e 74 meses, respectivamente. Portanto, pode-se estimar que o GPAA para o genótipo A_2A_2 iniciou-se com 17 meses de diferença quando comparado com o genótipo $A_1A_1+A_1A_2$.

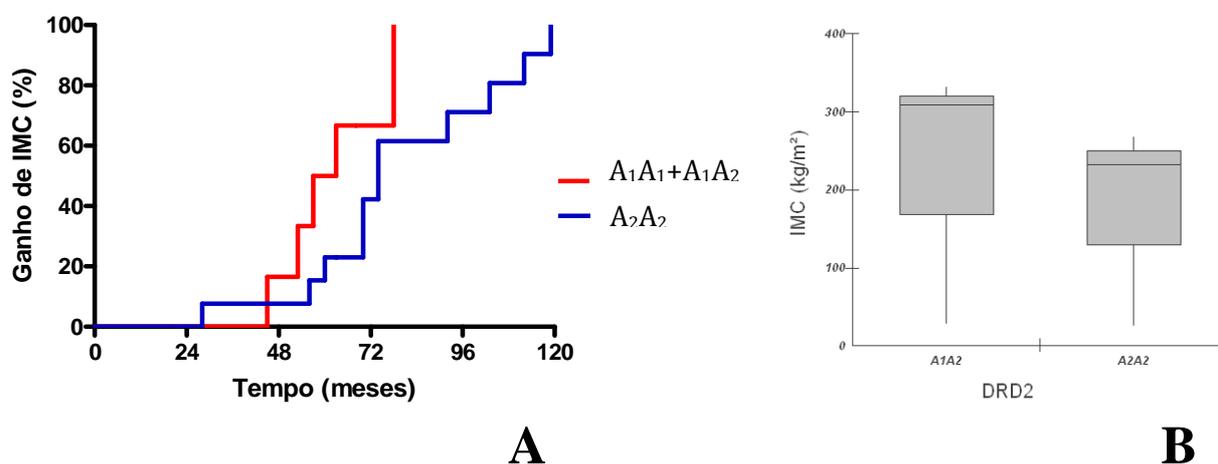


Figura 6. Ganho de peso associado ao alelo A_1 do SNP *TaqIA* do gene *DRD2* de pacientes em uso crônico de olanzapina. Em A observa-se a progressão do ganho de peso em função do tempo de uso do medicamento. Em B encontra-se a variação média do IMC pelo genótipo dos pacientes.

Adicionalmente, quando se comparou qualquer aumento de IMC em relação ao tempo de uso de olanzapina e o genótipo individual, o teste de log-rank (Mantel–Cox) revelou significância estatística ($p=0,0145$), conforme pode ser observado na Figura 7A. O resultado do teste de log-rank sobre a porcentagem de ganho de peso em relação aos alelos A_1 e A_2 também mostrou-se relevante, sendo o alelo mutante A_1 responsável pelo aumento precoce no GPAA dos paciente em uso crônico de olanzapina (Figura 7B).

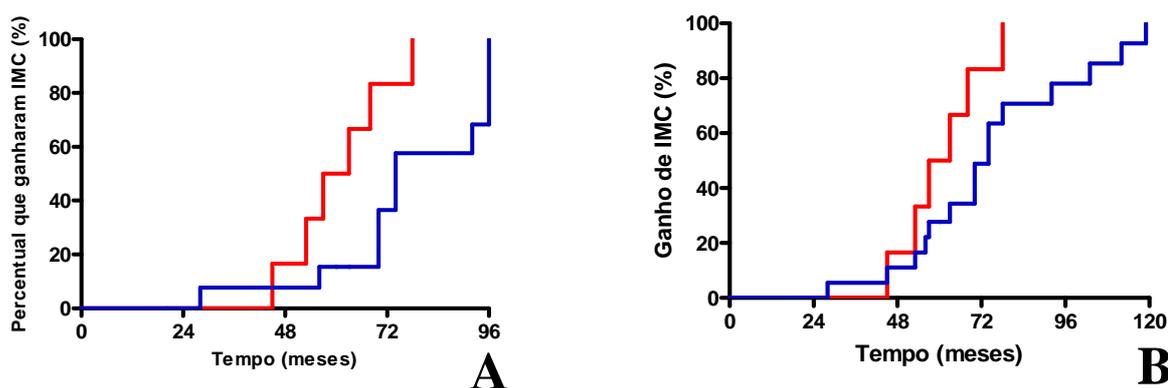


Figura 7. Variação no GPAA dos pacientes em uso de olanzapina. Em A variação em função do genótipos do polimorfismo *TaqIA* do gene *DRD2* dos pacientes. Linhas vermelha e azul correspondem aos genótipos $A_1A_1+A_1A_2$ e A_2A_2 , respectivamente. Em B variação no peso em associação com os alelos estudados. Linhas vermelha e azul correspondem aos alelos A_1 e A_2 , respectivamente.

O teste de log-rank (Mantel–Cox) foi ainda utilizado para se avaliar o impacto do tempo de tratamento com olanzapina em relação aos genótipos dos pacientes e seu efeito sobre médias das taxas plasmáticas de colesterol total, HDL colesterol e triglicerídeos observados ao longo do estudo. Esta análise não indicou significância estatística para as variações nas taxas de colesterol total ($p=0,5348$). Porém, significância estatística foi observada para as variações nas taxas de HDL ($p=0,0472$) e triglicerídeos ($p=0,0398$).

4.2 Polimorfismo G-308A do gene do fator de necrose tumoral alfa (*TNF- α*) e ganho de peso

Todos os pacientes foram heterozigotos para o polimorfismo G-308A associado ao gene *TNF- α* (Figura 8). Portanto, não foi possível estabelecer diferença estatisticamente significativa entre o genótipo observado e os IMC_0 , IMC_{12} e IMC_{Atual} ($p = 0.9965$).

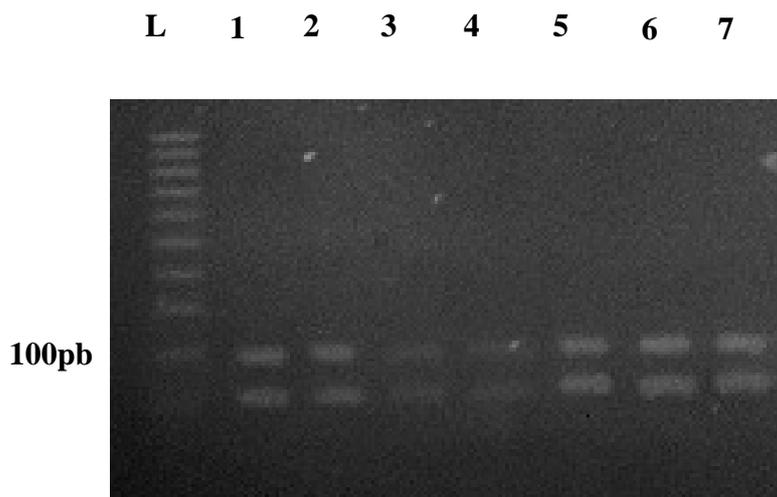


Figura 8. Perfil ARMS-PCR dos genótipos para SNP G-308A no gene *TNF- α* . A Canaleta L contém o marcador de peso molecular de 100pb. Canaletas 1 a 5 contém o genótipo AG de alguns pacientes.

4.3 Efeitos das doses terapêuticas de olanzapina sobre o ganho de peso acumulado e sobre alterações bioquímicas dos pacientes

O IMC ($p = 0.5059$) e as alterações bioquímicas ($p = 0.5142$) observadas nos pacientes não sofreram influência das doses de olanzapina usadas. Durante o estudo, as dosagens de olanzapina variaram de 2,5 a 20 mg/dia com média de 12,5 ($\pm 5,0$) mg/dia. Entre os homens a dose média foi de 12,3 ($\pm 5,4$) mg e entre as mulheres foi de 12,9 ($\pm 4,9$) mg. Entre os casos, homens fizeram uso de olanzapina por 69,5 ($\pm 29,5$) meses e as mulheres por 63,0 ($\pm 8,5$) meses. Em geral, o tempo médio de uso de olanzapina pelos pacientes foi de 67,3 ($\pm 23,9$) meses.

4.4 Variações do Índice de Massa Corporal (IMC) durante o estudo

O IMC foi avaliado no início do estudo (IMC_0), após 12 meses de uso de olanzapina (IMC_{12}) e ao fim do estudo (IMC_{Atual}), após $67(\pm 24)$ meses. Foi observado aumento médio progressivo do IMC durante o estudo (Gráfico 2). A final do primeiro ano de uso contínuo de olanzapina, os 9,5% (2/21) dos pacientes haviam ganhado peso intensamente (ganho de peso $>20,1\%$), 57,1% (12/21) registraram ganho moderado de peso (ganho de peso de 7,1 a 20%), cerca de 19,0% (4/21) mantiveram o peso corporal estável (variação de peso de 0,1 a 7%), enquanto 14,3% (3/21) registraram perda de peso. Ao final do estudo, 38,1% (8/21) dos pacientes em uso de olanzapina ganharam peso intensamente e 47,6% (10/21) moderadamente, enquanto 4,8% (1/21) dos pacientes mantiveram seu peso corporal e 9,5% (2/21) perderam peso durante o período avaliado. O teste t comparativo entre IMC_0 e IMC_{12} indicou diferença estatística significativa ($p < 0.0001$). O mesmo foi observado após comparações entre IMC_0 e IMC_{Atual} ($p < 0.0001$), que pode ser observado nas Figura 9 e 10.

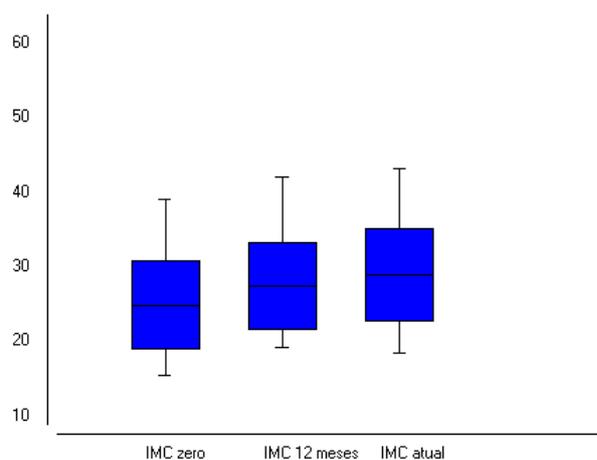


Figura 9. Variações médias do IMC dos pacientes psiquiátricos em uso de olanzapina ao longo do estudo. As barras verticais indicam o desvio padrão em relação às médias observadas.

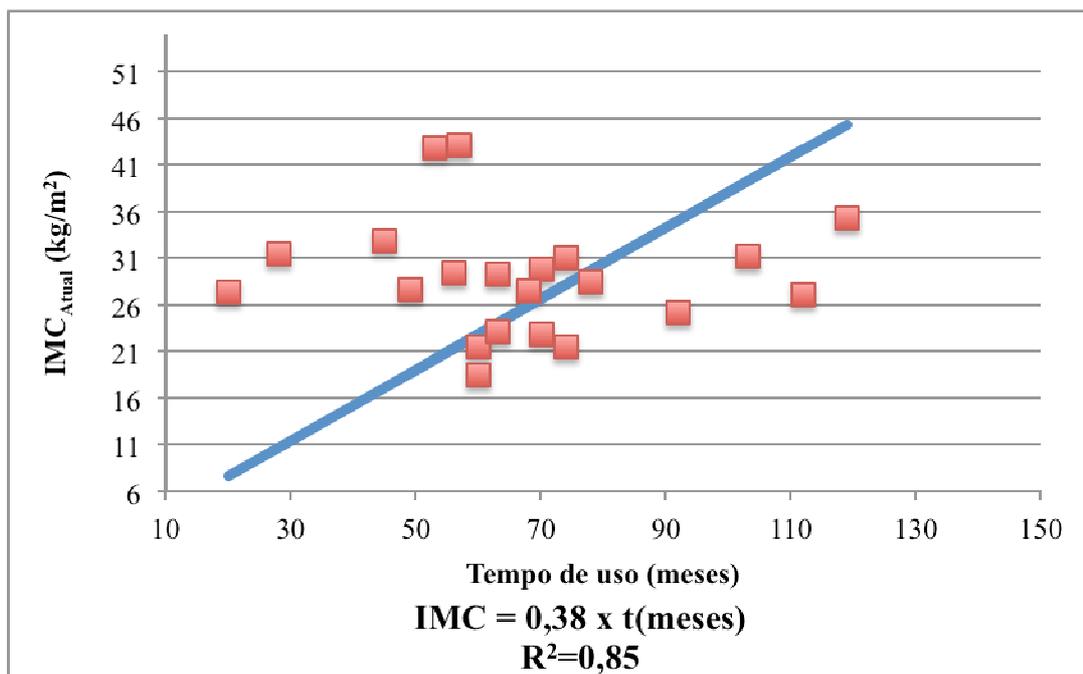


Figura 10. Regressão linear indicando o efeito do uso crônico de olanzapina sobre o IMC dos pacientes. Intervalo de confiança de 95% e $p \leq 10^{-9}$.

4.5 Efeitos da olanzapina nos níveis séricos dos marcadores bioquímicos

No grupo amostral estudado, o uso de olanzapina não afetou os níveis plasmáticos de glicose dos pacientes. A média da glicemia de jejum foi de $89,0(\pm 5,4)$ mg/dL e a média da hemoglobina glicada foi de $5,7(\pm 0,3)\%$. Os resultados observados ficaram dentro do limite da normalidade. Em relação ao lipidograma, foram observadas alterações nos níveis de colesterol total, HDL colesterol e triglicérides (Figura 11). A média do colesterol total foi de $187(\pm 14,7)$ mg/dL, com 38,1% dos pacientes apresentando colesterol médio acima da taxa normal.

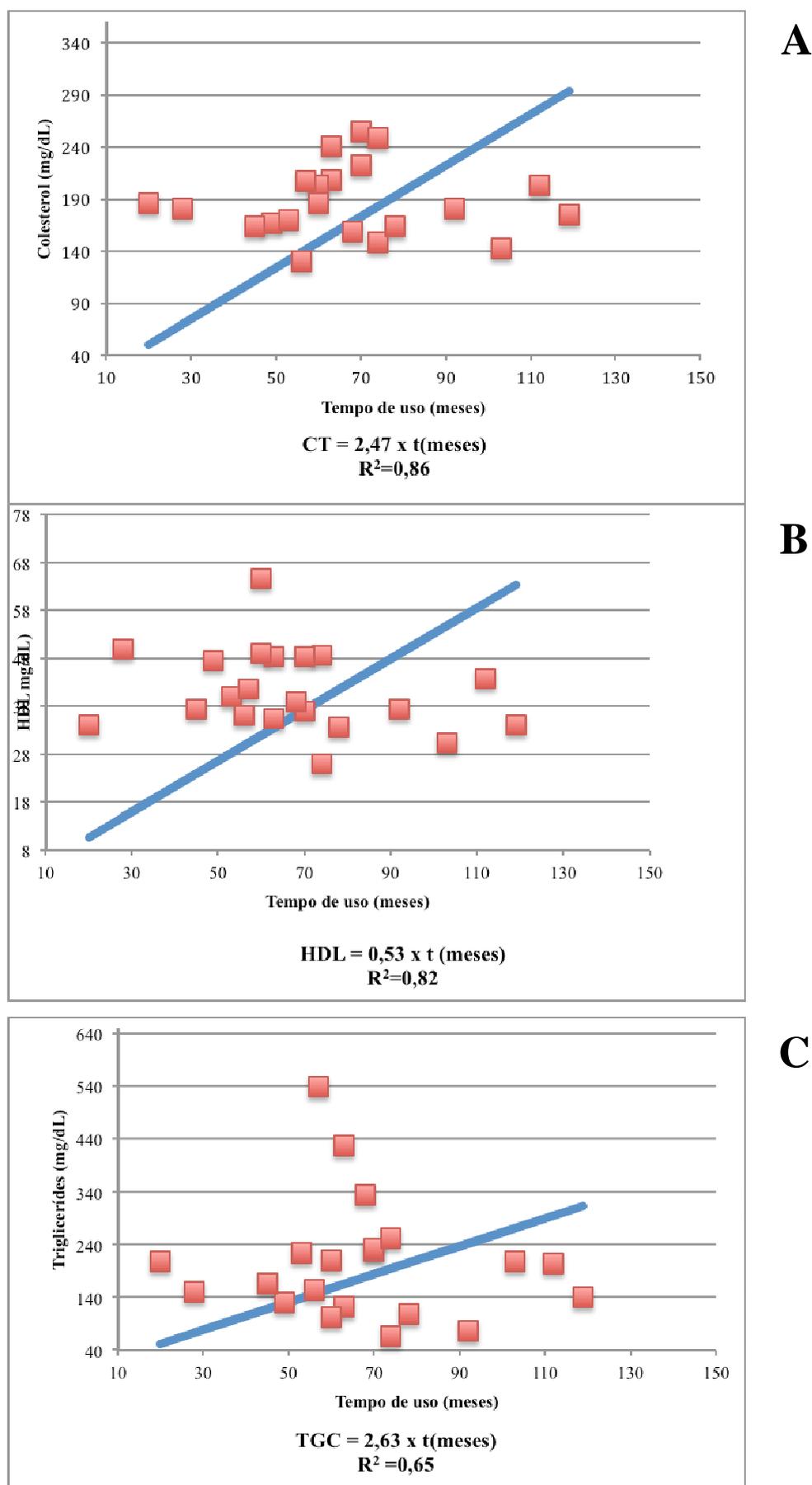


Figura 11. Regressão linear simples indicando a variação nas taxas de (A) colesterol total ($p \leq 10^{-10}$), (B) HDL colesterol ($p \leq 10^{-8}$) e (C) triglicérides ($p \leq 0,00001$) em função do tempo de uso de olanzapina de pacientes esquizofrênicos e com transtorno afetivo bipolar em uso crônico do medicamento.

A média dos níveis de HDL foi de 41,0(±5) mg/dL, sendo que a taxa considerada normal seria maior que 40 mg/dL. Cerca de 52,4% dos pacientes apresentaram média de HDL colesterol abaixo de 40 mg/dL ao longo do uso de olanzapina

Em relação ao nível de triglicérides (TGC), a média foi de 204,3(± 49,3) mg/dL, sendo que o padrão da normalidade seria taxa ≤150 mg/dL. Entre os pacientes, 62% apresentaram TGC médio elevado.

4.6 Efeitos da olanzapina no depósito de gordura abdominal

Ao fim do estudo, a medida da circunferência abdominal dos pacientes indicou que cerca de 71,4% das mulheres apresentavam índices acima da normalidade (< 80 cm) e 78,6% dos homens apresentavam índices maiores que o normal (< 94 cm). A média da cintura abdominal das mulheres e dos homens foi respectivamente de 91,0(±12,3) cm e de 104,4(±12,2) cm. A medida da circunferência abdominal previamente ao uso da medicação antipsicótica não foi realizada. A Tabela 8 indica a variação média das variáveis que definem ganho de peso e obesidade na população.

Tabela 8. Médias e desvio padrão de diferentes variáveis que definem peso corporal e obesidade na coorte de pacientes psiquiátricos em uso crônico de olanzapina.

Variáveis	Homens (n=14)	Mulheres (n=7)	Coorte
	Média (±DP)	Média (±DP)	Média (±DP)
Idade (anos)	45,7 (12,5)	35,1 (8,9)	42,2 (12,0)
IMC (kg/m ²)	29,8 (5,3)	27,2 (8,0)	28,9 (6,1)
Cintura Abdominal (cm)	104,4 (12,2)	91,0 (12,3)	99,9 (13,8)

5 Discussão

5.1 Farmacogenética da olanzapina na indução do ganho de peso corporal e alterações da glicose e lipídeos plasmáticos

O polimorfismo genéticos da *TaqIA* (C32806T) no gene *DRD2* apresentou relação com o uso prolongado de olanzapina em pacientes psiquiátricos com relevante significância estatística em relação ao ganho de peso e às alterações bioquímicas observadas no plasma dos pacientes. O alelo A_1 e seus genótipos (A_1A_1 e A_1A_2) apresentaram-se susceptíveis ao GPAA induzido pelo tratamento crônico com olanzapina, independente da dose usada no presente estudo. Em conformidade com a literatura internacional (Tabela 9), o alelo A_1 , que corresponde ao alelo mutante, é uma variante rara. No presente estudo, apenas uma paciente, portadora de esquizofrenia, apresentou o genótipo homozigoto A_1A_1 e apresentou o maior incremento no IMC ao longo do estudo, com um aumento correspondente a $10,8 \text{ kg/m}^2$.

Tabela 9. Distribuição dos genótipos do SNP C32806T identificado pela enzima de restrição *TaqIA*, localizado próximo ao gene *DRD2* de coortes e de controles saudáveis, de diversas etnias e de diferentes lugares, que participaram de estudos que genotiparam o locus para a transição C→T.

Estudo	n	A_1A_1	A_1A_2	A_2A_2	Local	População
Behravan <i>et al.</i> (2008)	63	3	39	21	Iran	Controles saudáveis
Keltikangas-Järvinen <i>et al.</i> (2007)	1491		529	962	Finlândia	Coorte de adultos saudáveis
Munafó <i>et al.</i> (2005)	895	39	309	547	Reino Unido	Coorte de adultos saudáveis, alcoolistas sociais

Uma revisão sistemática (Muller *et al.*, 2010) apontou que variantes genética do gene *DRD2* estão associadas ao ganho de peso induzido pelos tratamentos crônicos com antipsicóticos na esquizofrenia. Esta metanálise corrobora os achados do presente estudo. No entanto, apesar da diferença entre o genótipos do SNP *TaqIA* associado ao gene *DRD2* ser evidente e a distinção entre os grupos genotípicos ser possível, recomendamos cautela na atribuição de suscetibilidade ao GPAA à variante A_1 , pois a polimorfismo não está diretamente localizado no gene *DRD2*. Adicionalmente, a complexidade fisiológica subjacente à via dopaminérgica, que afeta o

fenômeno apetite/saciedade, ainda permanece sem elucidação, que torna as conclusões acerca da susceptibilidade deste locus fonte de controvérsias.

Em relação as variantes genética do SNP G-308A no gene *TNF- α* , os achados do presente estudo não permitem corroborar ou refutar as conclusões de outros estudos. Muito provavelmente devido ao discreto tamanho amostral, todos os participantes apresentaram-se heterozigotos para o locus. No entanto, ressaltamos que, a prevalência de heterozigotos na coorte estudada difere do esperado em outras populações (Tabela 10).

Tabela 10. Distribuição dos genótipos do SNP G-308A do gene *TNF- α* de coortes e de controles saudáveis, de diversas etnias e de diferentes lugares, que participaram de estudos que genotiparam o locus para esta substituição de bases.

Estudo	n	AA	AG	GG	Local	População
De Luis <i>et al.</i> (2011)	834	16	188	630	Espanha	Coorte de pacientes obesos (IMC>30kg/m ²)
Gupta <i>et al.</i> (2011)	269	0	42	230	Índia	Controles saudáveis (mulheres)
Ni <i>et al.</i> (2009)	103	0	46	57	Kuala Lumpur	Coorte de estudantes universitários
Kamali-Sarvestani <i>et al.</i> (2007)	113	1	9	103	Iran	Controles saudáveis não asmáticos
Zai <i>et al.</i> (2006)	149	2	39	108	Canada	Controles saudáveis, etnias variadas

Estudos distintos têm relatado resultados negativos, sem correlação entre as variantes do SNP G-308A do gene *TNF- α* e resistência à insulina ou qualquer outra anormalidade síndrome metabólica (Ranjith *et al.*, 2008; Pyrzak *et al.*, 2006). Além disso, grandes estudos de coorte em negros, chineses, caucasianos e americanos não mostram correlação significativa entre o polimorfismo G-308A e resistência à insulina e obesidade (Lee *et al.*, 2000; Walston *et al.*, 1999), sugerindo, se presente, *TNF- α* teria apenas um papel marginal na patogênese destas condições metabólicas.

5.2 Efeitos da olanzapina sobre glicose e lipídeos plasmáticos

No presente estudo, pode ser evidenciado o efeito da olanzapina sobre o aumento dos níveis de lipídeos no sangue, mas não nos níveis de glicose. Estudos clínicos diferem quanto a glicemia, mostrando que de 14 semanas a 25 meses após o início do tratamento com olanzapina, cerca de 11% a 44% dos pacientes apresentar-se-ão hiperglicêmicos (Melkersson *et al.*, 2004; Newcomer, 2004; Wirshing *et al.*, 2002), enquanto cerca de 39% a 62% dos pacientes se apresentarão hipertrigliceridêmicos (Casey, 2004; Melkersson *et al.*, 2000; Melkersson *et al.*, 2004; Wirshing *et al.*, 2002). Uma análise retrospectiva mostrou que o tempo médio de pico de níveis de triglicérides em pacientes tratados foi de 10 meses (Casey, 2004). Um resultado similar de outro trabalho também demonstrou que a olanzapina não induziu hiperglicemia em ratos machos Sprague-Dawley (Patel *et al.*, 2004). Portanto, o efeito da olanzapina em glicose no sangue e os níveis de triglicérides podem ser influenciados pelo período de tratamento.

Embora o pequeno número de casos avaliados no presente estudo possa ter limitado o poder das análises, uma relação significativa entre o ganho de peso e os níveis de lipídeos no sangue, e entre o aumento da massa adiposa (cintura abdominal) com dislipidemias foi observado. Diferente deste estudo, taxas mais altas de diabetes têm sido relatadas em pacientes tratados com olanzapina e muitos pacientes tratados com olanzapina se recuperaram de diabetes após a interrupção da medicação (Melkersson *et al.*, 2004).

O ganho de peso é uma achado clínico relevante, que reflete um importante efeito colateral do uso prolongado de antipsicóticos, incluindo a olanzapina. Portanto, estudos devem ser desenhados para contemplar as variantes genéticas associadas ao GPAA, que permitirão inferir os riscos individuais, contribuindo para a consolidação da medicina personalizada aplicada ao tratamento crônico da esquizofrenia e do transtorno bipolar, na perspectiva de se melhorar a qualidade de vida dos pacientes, minimizando os riscos decorrentes dos efeitos colaterais dos medicamentos usados. Alguns SNPs parecem afetar o fenótipo e modular a resposta e os efeitos adverso do tratamento com antipsicóticos. No entanto, mesmo apesar de

todos os esforços, os resultados ainda permanecem preliminares e requerem replicação e validação. Os novos avanços da genômica funcional e estrutural aplicados à farmacologia abrirão os caminhos para os estudos de farmacogenética na psiquiatria. Ainda estamos só no começo.

5.2 Conclusão

No presente estudo retrospectivo, avaliamos um grupo de pacientes em busca de investigar mecanismos farmacogenéticos envolvendo o ganho de peso e alterações metabólicas induzidas pela olanzapina. A motivação desta busca foi a de identificar diferenças genéticas entre os pacientes que poderiam potencialmente influenciar a variabilidade do ganho de peso e alterações metabólicas decorrentes do uso crônico de olanzapina, bem como buscar ferramentas farmacogenéticas para que no futuro possamos identificar os pacientes com potencial risco de ganho de peso e alterações metabólicas, antes do uso de olanzapina.

Nesta busca observamos que o polimorfismo genético da *TaqIA* (C32806T) no gene *DRD2* apresentou associação com o uso prolongado de olanzapina em pacientes psiquiátricos com relevante significância estatística em relação ao ganho de peso e às alterações bioquímicas observadas no plasma dos pacientes. Neste caso, os pacientes com genótipo A1A2 evoluíram com ganho de peso mais precoce em 17 meses comparado ao grupo com genótipo A2A2 ao longo dos meses avaliados e o genótipo A1A1 teve ganho de peso mais significativo comparado aos dois genótipos supracitados. Desta maneira concluímos que o alelo A2 teve efeito protetor no ganho de peso ao longo do uso crônico com olanzapina no presente estudo. No entanto, apesar da diferença entre os genótipos do SNP *TaqIA* associado ao gene *DRD2* ser evidente e a distinção entre os grupos genotípicos ser possível, recomendamos cautela na atribuição de suscetibilidade ao GPAA à variante A1. Desta forma, usar esta ferramenta genética pode ser útil antes de iniciar olanzapina como auxiliar na possível precocidade do ganho de peso dos pacientes com alelo A1, alertando o clínico para cuidados ainda mais intensivos com alimentação saudável e atividade física regular para indivíduos com este perfil genotípico.

Neste estudo 60% dos pacientes apresentaram ganho de peso maior que 7% nos primeiros 12 meses de tratamento, e cerca de 80% ganharam peso acima de 7% com 67(\pm 24) meses de acompanhamento, uma relação muita acima ao relatado pelo estudo CATIE que ficou em torno de 30% o ganho de peso (Lieberman *et al.*, 2005). Entre as variáveis clínicas, o IMC

basal e a duração do tratamento com olanzapina apresentaram correlação com ganho de peso induzido olanzapina. Pacientes com IMC inferior a linha de base apresentaram um maior ganho de peso semelhante ao estudo de Ujike e colaboradores (2008).

Mesmo com alterações tão significativas do peso corporal no grupo amostral estudado, o uso de olanzapina não afetou os níveis médios plasmáticos de glicose dos pacientes, entretanto 38,1% e 62% dos pacientes apresentaram aumento médio do colesterol plasmático e triglicérides respectivamente e 52,4% dos pacientes evoluíram com média de HDL abaixo do valor normal ao longo do estudo. O nível dentro da normalidade da média glicêmica pode ter relação com a contínua educação alimentar proposta a estes pacientes durante todo o estudo.

Em relação as variantes genética do SNP G-308A no gene *TNF- α* , os achados do presente estudo não permitiram corroborar ou refutar as conclusões de outros estudos. Muito provavelmente devido ao discreto tamanho amostral, todos os participantes apresentaram-se heterozigotos para o locus. Como a prevalência de heterozigotos na coorte estudada difere do esperado em outras populações, poderíamos pensar em estudar um número maior de pacientes em busca de identificar alguma correlação entre a prevalência desta heterozigose como fator de proteção contra a hiperglicemia, como ocorreu nesta coorte. De qualquer forma, ainda serão necessárias novas buscas de como a olanzapina influencia o comportamento alimentar e qual a relação com a farmacogenética.

Referências

Addington D, Collins EJ, Jones BD, *et al*: Current status and role in the pharmacotherapy of schizophrenia. *Canadian J Psychiat* 41:161-166, 1996

Aggarwal BB, Natarajan K. Tumor necrosis factor: developments during the last decade. *Eur Cytokine Netw* 7(2):93-124, 1996

Allison DB, Mentore JL, Heo M, *et al*: Antipsychotic-induced weight gain: a comprehensive research synthesis. *Am J Psychiatry* 156:1686-1696, 1999

Amery W, Zuiderwijk P, Lemmens P: Safety profile of risperidone. Presented at the 10th *European College of Neuropsychopharmacology Congress*, Vienna, September 1997

Argiles JM, Lopez-Soriano J, Busquets S, *et al*: Journey from cachexia to obesity by TNF. *FASEB J* 11:743-751, 1997

Arjona AA, Zhang SX, Adamson B *et al*: An animal model of antipsychotic-induced weight gain. *Behav Brain* 152(1):121-127, 2004

Basile VS, Masellis M, McIntyre RS, *et al*: Genetic dissection of atypical antipsychotic induced weight gain: novel preliminary data on the pharmacogenetic puzzle. *J Clin Psychiatry* 62(suppl):45-66, 2001

Basile VS, Masellis M, De Luca V, *et al*: 759C/T genetic variation of 5-HT_{2C} receptor and clozapine-induced weight gain. *Lancet* 360(9347):1790-1791, 2002

Basson BR, Kinon BJ, Taylor CC, *et al*: Factors influencing acute weight change in patients with schizophrenia treated with olanzapine, haloperidol, or risperidone. *J Clin Psychiatry* 62:231-238, 2001

Baumgart D, Naber C, Haude M, *et al*. G protein beta3 subunit 825T allele and enhanced coronary vasoconstriction on alpha(2)-adrenoceptor activation. *Circ Res* 85:965-969, 1999

Beasley CM Jr, Tollefson GD, Tran PV. Safety of olanzapine. *J Clin Psychiatry* 58(suppl):13-17, 1997

Behravan J, Hemayatkar M, Toufani H *et al*: Linkage and association of DRD2 gene TaqI polymorphism with schizophrenia in an Iranian population. *Arch Iran Med* 11(3):252-256, 2008

Bickerdike MJ. 5-HT_{2C} receptor agonists as potential drugs for the treatment of obesity. *Curr Top Med Chem* 3:885-897, 2003

Bishop JR, Ellingrod VL, Moline J, *et al*. Pilot study of the G- protein beta3 subunit gene (C825T) polymorphism and clinical response to olanzapine or olanzapine-related weight gain in persons with schizophrenia. *Med Sci Monit* 12;BR47-BR50, 2006

Borison RL, Arvanitis LA, Miller BG. ICI 204,636, an atypical antipsychotic: efficacy and safety in a multicenter, placebo-controlled trial in patients with schizophrenia. U.S.SEROQUEL Study Group. *J Clin Psychopharmacol* 16:158–169, 1996

Brady KT: Weight gain associated with psychotropic drugs. *South Med J* 82:611–617, 1989

Buckland PR, D'Souza U, Maher NA, *et al*: The effects of antipsychotic drugs on the mRNA levels of serotonin 5HT_{2A} and 5HT_{2C} receptors. *Brain Res Mol Brain Res* 48:45-52, 1997

Bustillo JR, Lauriello J, Parker K, *et al*: Treatment of weight gain with fluoxetine in olanzapine-treated schizophrenic outpatients. *Neuropsychopharmacology* 28:527–529, 2003

Casey DE, Haupt DW, Newcomer JW, *et al*: Antipsychotic-induced weight gain and metabolic abnormalities: implications for increased mortality in patients with schizophrenia. *J Clin Psychiatry* 65(suppl):4–18, 2004

Clement K, Vaisse C, Manning BS, *et al*: Genetic variation in the beta 3-adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *N Engl J Med* 333:352-354, 1995

Csernansky J, Okamoto A, Brecher M. Risperidone versus haloperidol for prevention of relapse in schizophrenia and schizoaffective disorders. *Biol Psychiatry* 45(suppl):1–7, 1999

Currie PJ, Coscina DV. 5-Hydroxytryptaminergic receptor agonists: effects on neuropeptide Y potentiation of feeding and respiratory quotient. *Brain Res* 803:212-217, 1998

Czobor P, Volavka J, Sheitman B, *et al*: Antipsychotic-induced weight gain and therapeutic response: a differential association. *J Clin Psychopharmacol* 22:244–251, 2002

Davis R, Faulds D. Dexfenfluramine: an update review of its therapeutic use in the management of obesity. *Drugs* 52:696-724, 1996

Dobmeier M, Haen E, Mueller J: Therapeutic drug monitoring of olanzapine. Presented at the 153rd Annual Meeting of the American Psychiatric Association, Chicago, IL, 2000

Eder U, Mangweth B, Ebenbichler C, *et al*: Association of olanzapine-induced weight gain with an increase in body fat. *Am J Psychiatry* 158:1719–1722, 2001

Ellingrod VL, Miller D, Schultz SK, *et al*: CYP2D6 polymorphisms and atypical antipsychotic weight gain. *Psychiatr Genet* 12:55–58, 2002

Ellingrod VL, Perry PJ, Ringold JC, *et al*. Weight gain associated with the -759C/T polymorphism of the 5HT_{2C} receptor and olanzapine. *Am J Med Genet*, 2005

Fernández-Real JM, Gutierrez C, Ricart W, *et al*: The TNF-alpha gene Nco I polymorphism influences the relationship among insulin resistance, percent body fat, and increased serum leptin levels. *Diabetes* 46(9):1468-1472, 1997

Ferrara JL, Reddy P. Pathophysiology of graft-versus-host disease. *Semin Hematol* 43(1):3-10, 2006

Finck BN, Johnson RW. Tumor necrosis factor-alpha regulates secretion of the adipocyte – derived cytokine, leptin. *Microsc Res Tech* 50(3):209-215, 2000

Finck BN, Johnson RW. Anti-inflammatory agents inhibit the induction of leptin by Tumor necrosis factor-alpha. *Am J Physiol Regul Inter Comp Physiol* 282(5):R1429-1435, 2002

Floris M, Lejeune J, Deberdt W: Effect of amantadine on weight gain during olanzapine treatment. *Eur Neuropsychopharmacol* 11:181–182, 2001

Ganguli R: Weight gain associated with antipsychotic drugs. *J Clin Psychiatry* 60(suppl):20–24, 1999

Gaulin BD, Markowitz JS, Caley CF, *et al*: Clozapine-associated elevation in serum triglycerides. *Am J Psychiatry* 156:1270–1272, 1999

Gopaldaswamy AK, Morgan R: Too many chronic mentally disabled patients are too fat. *Acta Psychiatr Scand* 72:254–258, 1985

Green B. Focus on Olanzapine. *Curr Med Res Opin* 16(2):57-65, 2000.

Grimble RF. Inflammatory status and insulin resistance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 5(5):551-559, 2002

Gupta S, Droney T, Al Samarrai S, *et al*: Olanzapine: weight gain and therapeutic efficacy. *J Clin Psychopharmacol* 19:273–275, 1999

Gupta SK, Mishra RK. Effects of chronic treatment of haloperidol and clozapine on levels of G-protein subunits in rat striatum. *J Mol Neurosci* 3:197-201, 1992

Gutersolm A, Naber C, Muller N, *et al*: G protein beta3 subunit 825 TT genotype and post-pregnancy weight retention. *Lancet* 355:1240-1241, 2000

Hauner H, Bender M, Haastert B, *et al*: Plasma concentrations of soluble TNF-alpha receptors in obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord* 22:1239–1243, 1998

Hauner H, Rohrig K, Siffert W. Effects of the G-protein beta3 subunit 825T allele on adipogenesis and lipolysis in cultured human preadipocytes and adipocytes. *Horm Metab Res* 34:475-480, 2002

Hong CJ, Lin CH, Yu YW, *et al*: Genetic variants of the serotonin system and weight change during clozapine treatment. *Pharmacogenetics* 11:265–268, 2001

Hong CJ, Lin CH, Yu YW, *et al*: Genetic variant of the histamine-1 receptor (Glu349asp) and body weight change during clozapine treatment. *Psychiatr Genet* 12:169–171, 2002

Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, *et al*: Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 95(5): 2409-2415, 1995

Hotamisligil GS, Budavari A, Murray D, *et al*: Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes. Central role of tumor necrosis factor- α . *J Clin Invest* 94(4):1543-1549.a, 1994

Hotamisligil GS, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor- α : a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* 43(11):1271-1278.b, 1994

Jalenques I, Tauveron I, Albuissou E, *et al*: Weight gain and clozapine. *Encephale* 22:77-79, 1996

Johnson DAW, Breen M: Weight changes with depot neuroleptic maintenance therapy. *Acta Psychiatr Scand* 59:525-528, 1979

Kamali-Sarvestani E, Ghayomi MA, Nekoe A. Association of TNF- α -308 G/A and IL-4 -589 C/T gene promoter polymorphisms with asthma susceptibility in the south of Iran. *J Investig Allergol Clin Immunol* 17(6):361-366, 2007

Kapur S, Seeman P: Does fast dissociation from the dopamine D2 receptor explain the action of atypical antipsychotics? A new hypothesis. *Am J Psychiatry* 158:360-369, 2001

Kelly DL, Conley RR, Love RC, *et al*: Weight gain in adolescents treated with risperidone and conventional antipsychotics over six months. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 18:151-159, 1998

Kinon BJ, Basson B, Szyanski KA, *et al*: Factors associated with weight gain during olanzapine treatment. Poster Session No. 10, presented at the 38th Annual Meeting for New Clinical Drug Evaluation Unit Program, Boca Raton, FL, June 1998

Kinon BJ, Kaiser CJ, Ahmed S, *et al*: Association between early and rapid weight gain and change in weight over one year of olanzapine therapy in patients with schizophrenia and related disorders. *J Clin Psychopharmacol* 25:255-258, 2005

Koro CE, Fedder DO, L'Italien GJ, *et al*: Assessment of independent effect of olanzapine and risperidone on risk of diabetes among patients with schizophrenia: population based nested case-control study. *BMJ* 325(7358): 243, 2002

Kryspin-Exner W: Beitrage zum verlauf des korpergewichtes bei psychosen. *Wien Klin Wochenschr* 1947:68–72, 1996

Lamberti JS, Bellnier T, Schwarzkopf SB: Weight gain among schizophrenic patients treated with clozapine. *Am J Psychiatry* 149:689–690, 1992

Lane HY, Chang YC, Cheng YC, *et al*: Effects of patient demographics, risperidone dosage, and clinical outcome on body weight in acutely exacerbated schizophrenia. *J Clin Psychiatry* 64:316–320, 2003

Leadbetter R, Shutty M, Pavalonis D, *et al*: Clozapine-induced weight gain: prevalence and clinical relevance. *Am J Psychiatry* 149:68–72, 1992

Lee MD, Clifton PG. Meal patterns of free feeding rats treated with clozapine, olanzapine, or haloperidol. *Pharmacol Biochem Behav* 71(1-2):147-154, 2002

Lee SC, Pu YB, Thomas GN, Lee ZS, *et al*: Tumor necrosis factor alpha gene G-308A polymorphism in the metabolic syndrome. *Metabolism* 49(8):1021-1024, 2000

Lehman AF, Lieberman JA, Dixon LB, *et al*: Practice guideline for the treatment of patients with schizophrenia, 2nd ed. *Am J Psychiatry* 161:1-56, 2004. Available at: <http://www.psychiatryonline.com/contrnt.aspx?aid=45859>. Accessed April 14, 2008

Leong KS, Wilding JP. Obesity and diabetes. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 13 (2):221-237, 1999

Lett TAP, Wallace TJM, Chowdhury NI, *et al*: Pharmacogenetics of antipsychotic-induced weight gain: review and clinical implications. *Mol Psychiatry* Sep 6, 2011

Lieberman JA, Stroupe TS, McEvoy JP, *et al*. Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *N Engl J Med* 353:1209-1223, 2005

Malhota AK. Candidate gene studies of antipsychotic drug efficacy and drug-induced weight gain. *Neurotox Res* 6:51-56, 2004

Marder SR: Newer antipsychotics. *Current Opinion in Psychiat.* 13: 11-14, 2000

McIntyre RS, Konarski JZ: Tolerability profiles of atypical antipsychotics in the treatment of bipolar disorder. *J Clin Psychiatry* 66(suppl):28–36, 2005

McIntyre RS, Mancini DA, Basile VS: Mechanisms of antipsychotic-induced weight gain. *J Clin Psychiatry* 62(suppl):23–29, 2001a

McIntyre RS, McCann SM, Kennedy SH: Antipsychotic metabolic effects: weight gain, diabetes mellitus, and lipid abnormalities. *Can J Psychiatry* 46:273–281, 2001b

McIntyre RS, Mancini DA, Basile VS, *et al*: Antipsychotic-induced weight gain: bipolar disorder and leptin. *J Clin Psychopharmacol* 23:323–327, 2003

McIntyre RS, Konarski JZ, Yatham LN: Comorbidity in bipolar disorder: a framework for rational treatment selection. *Hum Psychopharmacol* 19:369–386, 2004

Melkersson K. Clozapine and olanzapine, but not conventional antipsychotics, increase insulin release in vitro. *Eur Neuropsychopharmacol* 14(2):115-119, 2004

Melkersson K, Dahl ML. Adverse metabolic effects associated with atypical antipsychotics: literature review and clinical implication. *Drugs* 64(7):701-723, 2004

Melkersson KI, Hulting AL: Insulin and leptin levels in patients with schizophrenia or related psychoses: a comparison between different antipsychotic agents. *Psychopharmacol (Berl)* 154:205–212, 2001

Melkersson KI, Hulting AL, Brismar KE. Elevated levels of insulin, leptin, and blood lipids in olanzapine-treated patients with schizophrenia or related psychoses. *J Clin Psychiatry* 61(10):742-749, 2000.

Meltzer HY, Perry E, Jayathilake K. Clozapine-induced weight gain predicts improvement in psychopathology. *Schizophr Res* 59:19-27, 2003

Miller DD, Ellingrod VL, Holman TL, *et al*: Clozapine-induced weight gain associated with the 5HT_{2C} receptor -759C/T polymorphism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 133:97–100, 2005

Moller DE. Potential role of TNF-alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trend Endocrinol Metab* 11(6):212-217, 2000.

Muller DJ, Muglia P, Fortune T, *et al*: Pharmacogenetics of antipsychotic-induced weight gain. *Pharmacol Res* 49:309–329, 2004

Muller DJ, Klempan TA, De Luca V, *et al*: The SNAP-25 gene may be associated with clinical response and weight gain in antipsychotic treatment of schizophrenia. *Neurosci Lett* 379:81–89, 2005

Muller DJ, Zai CC, Sicard M, *et al*: Systematic analysis of dopamine receptor genes (DRD1-DRD5) in antipsychotic-induced weight gain. *Pharmacogenomics J*. Aug 17, 2010

Munafò MR, Johnstone EC, Welsh KI *et al*: Association between the DRD2 gene Taq1A (C32806T) polymorphism and alcohol consumption in social drinkers. *The Pharmacogenomics Journal* 5, 96–101, 2005

Naber C, Hermann BL, Vietzke D, *et al*. Enhanced epinephrine-induced platelet aggregation in individuals carrying the G protein beta3 subunit 825T allele. *FEBS Lett* 484:199-201, 2000

National Institutes of Health: Clinical guidelines on the identification, evaluation, treatment of overweight and obesity in adults: the evidence report. *Obes Res* 6:51S–209S, 1998

Nemeroff CB: Dosing the antipsychotic medication olanzapine. *J Clin Psychiatry* 58(suppl):45–49, 1997

Neville, MJ, Johnstone EC, Walton, RT: Identification and characterization of ANKK1: a novel kinase gene closely linked to DRD2 on chromosome band 11q23.1. *Hum Mutat* 23: 540-545, 2004

Newcomer JW. Abnormalities of glucose metabolism associated with atypical antipsychotic drugs. *J Clin Psychiatry* 65 (Suppl 18):36-46, 2004

Newton CR, Graham A, Heptinstall LE, *et al*: Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Res* 17(7):2503-2516, 1989

Niswender CM, Sanders-Bush E, Emeson RB: Identification and characterization of RNA editing events within the 5-HT_{2C} receptor. *Ann N Y Acad Sci* 861:38–48, 1998

Old LJ. Tumor necrosis factor (TNF). *Science* 230:630–632, 1985

Osser DN, Najarian DM, Dufresne RL: Olanzapine increases weight and serum triglyceride levels. *J Clin Psychiatry* 60 (11):767-770, 1999.

Parada MA, Hernandez L, Paez X, *et al*: Mechanism of the body weight increase induced by systematic sulpiride. *Pharmacol Biochem Behav* 33:45–50, 1989

Parada MA, Puig DP, Hernandez L, *et al*: Ventromedial hypothalamus vs. lateral hypothalamic D₂ satiety receptors in the body weight increase induced by systematic sulpiride. *Physiol Behav* 50:1161–1165, 1991

Patel M, Bapu C, Padh H, *et al*: Olanzapine induced thrombocytopenia in Sprague-Dawley rats. *Drug Chem Toxicol* 27(4):379-387, 2004

Perry PJ, Argo TR, Carnahan RM, *et al*: The association of weight gain and olanzapine plasma concentrations. *J Clin Psychopharmacol* 25:250–254, 2005

Peuskens J, Link CG: A comparison of quetiapine and chlorpromazine in the treatment of schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand* 96:265–273, 1997

Picetti R, Saiardi A, Abdel Samad T *et al*: Dopamine D₂ receptors in signal transduction and behavior. *Crit. Rev. Neurobiol.* 11: 121-142, 1997

Planansky K, Heilizer F: Weight changes in relation to the characteristics of patients on chlorpromazine. *J Clin Exp Psychopathol* 20:53–57, 1959

Polesskaya OO, Sokolov BP. Differential expression of the “C” and “T” alleles of the 5-HT_{2A} receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics. *J Neurosci Res* 67:812-822, 2002

Pollmacher T, Hinze-Selch D, Mullington J. Effects of clozapine on plasma cytokine and soluble cytokine receptor levels. *J Clin Psychopharmacol* 16(5):403-409, 1996

Pooley EC, Fairburn CG, Cooper Z, *et al*: A 5-HT_{2C} receptor promoter polymorphism Am J Med Genet 126B:124–127, 2004

Pouzet B, Mow T, Kreilgaard M *et al*: Chronic treatment with antipsychotics in rats as a model for antipsychotic-induced weight gain in human. *Pharmacol Biochem Behav* 75(1):133-140, 2003

Prior TI, Baker GB: Interactions between the cytochrome P450 system and the second generation antipsychotics. *J Psychiatry Neurosci* 28:99–112, 2003

Pyrzak B, Wiśniewska A, Rymkiewicz-Kluczyńska B. The influence of polymorphism the Gly972Arg variant insulin receptor substrate-1 (IRS-1) gene, and G-308A TNF-alpha gene on obesity and insulin resistance in children with obesity. *Endokrynol Diabetol Chor Przemiany Materii Wieku Rozw* 12(3):175-178, 2006

Pyrzak B, Wiśniewska A, Rymkiewicz-Kluczyńska B. Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) gene G-308A polymorphism relationship to insulin resistance and lipid abnormalities in children with obesity. *Endokrynol Diabetol Chor Przemiany Materii Wieku Rozw* 12(3):171-174, 2006

Ranjith N, Pegoraro RJ, Naidoo DP, *et al*: Genetic variants associated with insulin resistance and metabolic syndrome in young Asian Indians with myocardial infarction. *Metab Syndr Relat Disord* 6(3):209-214, 2008

Reynolds GP, Hill MJ, Kirk SL. The 5-HT_{2C} receptor and antipsychotic induced weight gain-mechanisms and genetics. *J Psychopharmacol* 20(suppl 4):15-18, 2006

Reynolds GP, Zhang ZJ, Zhang XB: Association of antipsychotic drug-induced weight gain with a 5-HT_{2C} receptor gene polymorphism. *Lancet* 359:2086–2087, 2002

Reynolds GP, Zhang Z, Zhang X: Polymorphism of the promoter region of the serotonin 5-HT_{2C} receptor gene and clozapine-induced weight gain. *Am J Psychiatry* 160:677–679, 2003

Rietschel M, Naber D, Oberlander H, *et al*: Efficacy and side-effects of clozapine: testing for association with allelic variation in the dopamine D₄ receptor gene. *Neuropsychopharmacology* 15:491–496, 1996

Rietschel M, Naber D, Fimmers R, *et al*: Efficacy and side-effects of clozapine not associated with variation in the 5-HT_{2C} receptor. *Neuroreport* 8(8):1999–2003, 1997

Risselada AJ, Mulder H, Heerdink ER, *et al*: Pharmacogenetic testing to predict antipsychotic-induced weight gain: a systematic review. *Pharmacogenomics*, 12(8) 1213–1227, 2011

Ritchie SA, Connell JM. The link between abdominal obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 17: 319–326, 2006

Ruan H, Lodish HF. Insulin resistance in adipose tissue: direct and indirect effects of tumor necrosis factor- α . *Cytokine Growth Factor Rev* 14(5):447–455, 2003

Ryan MC, Flanagan S, Kinsella U, *et al*: The effects of atypical antipsychotics on visceral fat distribution in first episode, drug-naïve patients with schizophrenia. *Life Sci* 74:1999–2008, 2004

Ryden M, Faulds G, Hoffstedt J, *et al*: Effects of the (C825T) Gbeta (3) polymorphis on adrenoceptor-mediated lipolysis in human fat cells. *Diabetes* 51:1601–1608, 2002

Saghizadeh M, Ong JM, Garvey WT, *et al*: The expression of TNF alpha by human muscle. Relationship to insulin resistance. *J Clin Invest* 97(4):1111–1116, 1996

Schuld A, Kraus T, Haack M, *et al*: Plasma levels of cytokines and soluble cytokine receptors during treatment with olanzapine. *Schizophr Res* 43(2-3):164–166, 2000

Schunkert H, Hense HW, Doring A, *et al*: Association between a polymorphism in the G protein beta3 subunit gene and lower renin and elevated diastolic blood pressure levels. *Hypertension* 32:510-513, 1998

Sethi JK, Hotamisligil GS. The role of TNF alpha in adipocyte metabolism. *Semin Cell Dev Biol* 10(1):19-29

Siffert W, Foster P, Jockel KH, *et al*. Worldwide ethnic distribution of the G protein beta 3 submit 825T allele and its association with obesity in Caucasian, Chinese, and Black African individuals. *J Am Soc Nephrol* 10:1921-1930, 1999

Siffert W, Roszkopf D, Siffert G, *et al*: Association of a human G-protein beta3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet* 18:45-48, 1998

Sookoian SC, González C, Pirola CJ. Meta-analysis on the G-308A tumor necrosis factor alpha gene variant and phenotypes associated with the metabolic syndrome. *Obes Res* 13(12):2122-31, 2005

Spiegelman BM, Flier JS. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell* 23; 104(4):531-543, 2001

Stahl SM. Describing an Atypical Antipsychotic: Receptor Binding and Its Role in Pathophysiology. *J Clin Psychiatry* 5[suppl 3]:9-13, 2003

Stefan N, Stumvoll M, Machicao F, *et al*. C825T polymorphism of the G protein beta3 subunit is associated with obesity but not with insulin sensitivity. *Obes Res* 12:679-683, 2004

Stephenson CM, Pilowsky LS. Psychopharmacology of olanzapine. A review. *Br J Psychiatry Suppl* (38):52-58, 1999

Stephens JM, Lee J, Pilch PF. Tumor necrosis factor-alpha insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is accompanied by a loss of insulin receptor substrate-1 and GLUT4 expression without a loss of insulin receptor-mediated signal transduction. *J Biol Chem* 272(2):971-976, 1997

Strosberg AD, Structure and function of the beta 3-adrenergic receptor. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 37:421-450, 1997

Sugimoto Y, Yoshikawa T, Yamada J. Effects of Peripherals administration of 5-hydroxytryptamine (5-HT) on 2-deoxy-D-glucose-induces hyperphagia in rats. *Biol Pharm Bull* 25:1364-1366, 2002

Tecott LH, Sun LM, Akana SF, *et al*: Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-HT_{2c} serotonin receptors. *Nature* 374:542–546, 1995

Templeman LA, Reynolds GP, Arranz B, *et al*: Polymorphisms of the 5-HT_{2C} receptor and leptin genes are associated with antipsychotic drug-induced weight gain in Caucasian subjects with a first-episode psychosis. *Pharmacogenet Genomics* 15:195–200, 2005

Theisen FM, Linden A, Konig IR, *et al*: Spectrum of binge eating symptomatology in patients treated with clozapine and olanzapine. *J Neural Transm* 110:111–121, 2003

Trevitt JT, Carlson BB, Salamone JD. Behavioral assessment of atypical antipsychotics in rats: studies of the effects of olanzapine. *Psychopharmacology (Berl)* 145(3): 309-316, 1999

Tsai SJ, Yu YW, Lin CH, *et al*. Association study of adrenergic beta₃ receptor (Trp64Arg) and G-protein beta 3 subunit gene (C825T) polymorphisms and weight change during clozapine treatment. *Neuropsychobiology* 50:37-40, 2004

Tsai SJ, Hong CJ, Yu YW, *et al*. Association study of a functional serotonin transporter gene polymorphism with schizophrenia, psychopathology and clozapine response. *Schizophr Res* 44:177-181, 2000

Tsai SJ, Hong CJ, Yu YW, *et al*: -759C/T genetic variation of 5-HT_{2C} receptor and clozapine- induced weight gain. *Lancet* 360(9347):1790, 2002

Ujike H, Nomura A, Morita Y, *et al*: Multiple genetic factors in olanzapine-induced weight gain in schizophrenia patients: a cohort study. *J Clin Psychiatry* 69(9):1416-1422, 2008

Umbricht DS, Pollack S, Kane JM: Clozapine and weight gain. *J Clin Psychiatry* 55(suppl): 157–160, 1994

Usiello A, Baik JH, Rouge-Pont F, *et al*: Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors. *Nature* 408:199-203, 2000

Von Beckerath N, Schusterschitz Y, Koch W, *et al*: G protein beta 3 subunit 825T allele carriage and risk of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 167:135-139, 2003

Walston J, Andersen RE, Seibert M, *et al*: Arg64 beta3-andrenoceptor variant and the components of energy expenditure. *Obes Res* 11: 509-511, 2003

Walston J, Seibert M, Yen CJ, *et al*: Tumor necrosis factor-alpha-238 and -308 polymorphisms do not associated with traits related to obesity and insulin resistance. *Diabetes* 48(10):2096-2098, 1999

Wang GJ, Volkow ND, Logan J, *et al*: Brain dopamine and obesity. *Lancet* 357:354–357, 2001

Wang YC, Bai YM, Chen JY, *et al*: C825T polymorphism in the human G protein beta3 subunit gene is associated with long-term clozapine treatment-induced body weight change in the Chinese population. *Pharmacogenet Genom* 15(10):743-748, 2005

Wetterling T, Mussigbrodt HE: Weight gain: side effect of atypical neuroleptics? *J Clin Psychopharmacol* 19:316–321, 1999

Wilson AG, di Giovine FS, Blakemore AI, *et al*: Single base polymorphism in the human tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) gene detectable by NcoI restriction of PCR product. *Hum Mol Genet* 1(5):353, 1992

Wirshing DA, Boyd JA, Meng LR *et al*: The effect of novel antipsychotics on glucose and lipid levels. *J Clin Psychiatry* 63(10):856-865, 2002

Wirshing DA, Wirshing WC, Kysar L, *et al*: Novel antipsychotics: comparison of weight gain liabilities. *J Clin Psychiatry* 60:358–363, 1999

Yamada J, Sugimoto Y, Yoshikawa T, *et al*. The effects of peripheral serotonin2 receptor agonista on food intake of rats. *Adv Exp Med Biol* 398:555-557, 1996

Yamada M, Miyakawa T, Duttaroy A, *et al*: Mice lacking the M3 muscarinic acetylcholine receptor are hypophagic and lean. *Nature* 410:207–212, 2001

Yuan X, Yamada K, Ishiyama-Shigemoto, *et al*: Identification of polymorphic loci in the promoter region of the serotonin 5-HT_{2C} receptor gene and their association with obesity and type II diabetes. *Diabetol* 43:373–376, 2000

Zhang ZJ, Yao ZJ, Zhang XB, *et al*: No association of antipsychotic agent-induced weight gain with a DA receptor gene polymorphism and therapeutic response. *Acta Pharmacol Sin* 24:235–240, 2003

Zhang ZJ, Yao ZJ, Liu W, *et al*: Effects of antipsychotics on fat deposition and changes in leptin and insulin levels: magnetic resonance imaging study of previously untreated people with schizophrenia. *Br J Psychiatry* 184:58–62, 2004