

# Estudos transcriptômicos no contexto da conectividade perturbada em esquizofrenia

## Transcriptome studies in the context of disturbed connectivity in schizophrenia

ANDREA SCHMITT<sup>1,2,3</sup>, DANIELA REICH-ERKELENZ<sup>1,2</sup>, PETER GEBICKE-HÄRTER<sup>4</sup>, PETER FALKAI<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Psiquiatria e Psicoterapia, Universidade de Göttingen, Alemanha.

<sup>2</sup> Departamento de Psiquiatria, Universidade Ludwig Maximilians de Munique (LMU), Alemanha.

<sup>3</sup> Laboratório de Neurociências (LIM-27), Instituto de Psiquiatria, Universidade de São Paulo (USP), Brasil.

<sup>4</sup> Departamento de Psicofarmacologia, Instituto Central de Saúde Mental, Mannheim, Alemanha.

Recebido: 23/9/2012 – Aceito: 7/11/2012

### Resumo

Esquizofrenia é uma severa doença neurobiológica com fatores genéticos e ambientais desempenhando um papel na fisiopatologia. Diversas regiões cerebrais têm sido implicadas no processo da doença e estão conectadas em complexos circuitos neuronais. Nos níveis molecular e celular, a conectividade afetada entre essas regiões, envolvendo mielinização disfuncional dos axônios neuronais, bem como as alterações no nível sináptico e metabolismo energético levando a distúrbios na plasticidade sináptica, são os maiores achados em estudos *post-mortem*. Estudos de microarranjos investigando a expressão gênica contribuíram para os achados de alterações em vias complexas em regiões cerebrais relevantes na esquizofrenia. Além disso, estudos utilizando microdissecção e captura a laser permitiram a investigação da expressão gênica em grupos específicos de neurônios. Entretanto, deve ser mantido em mente que em estudos *post-mortem*, confusos efeitos de medicação, qualidade de RNAm, bem como capacidade de mecanismos regenerativos neuroplásticos do cérebro em indivíduos com história de vida de esquizofrenia, podem influenciar o complexo padrão de alterações no nível molecular. Apesar dessas limitações, estudos transcriptômicos livres de hipóteses em tecido cerebral de pacientes esquizofrênicos oferecem uma possibilidade única para aprender mais sobre os mecanismos subjacentes, levando a novas ópticas da fisiopatologia da doença.

Schmitt A, et al. / Rev Psiq Clín. 2013;40(1):10-5

**Palavras-chave:** Esquizofrenia, expressão gênica, microarranjo, RT-PCR, hibridização *in situ*, regiões cerebrais.

### Abstract

Schizophrenia is a severe neurobiological disease with genetic and environmental factors playing a role in the pathophysiology. Several brain regions have been implicated in the disease process and are connected in complex neuronal circuits. On the cellular and molecular level, affected connectivity between these regions, involving dysfunctional myelination of neuronal axons, as well as alterations on the synaptic level and energy metabolism of neurons leading to disturbances in synaptic plasticity are major findings in *post-mortem* studies. Microarray studies investigating genome-wide gene expression have contributed to the findings of alterations in complex pathways in relevant brain regions in schizophrenia. Moreover, first Laser-capture Microdissection studies allowed the investigation of gene expression in specific groups of neurons. However, it must be kept in mind that in *post-mortem* studies confounding effects of medication, mRNA quality as well as the capability of the brain for neuroplastic regenerative mechanisms in individuals with a lifetime history of schizophrenia may influence the complex pattern of alterations on the molecular level. Despite these limitations, hypothesis-free transcriptome studies in brain tissue from schizophrenia patients offer a unique possibility to learn more about underlying mechanisms, leading to new insights in the pathophysiology of the disease.

Schmitt A, et al. / Rev Psiq Clín. 2013;40(1):10-5

**Keywords:** Schizophrenia, gene expression, microarray, RT-PCR, *in situ* hybridization, brain regions.

### Introdução

A esquizofrenia é uma debilitante desordem crônica neurocognitiva que afeta principalmente jovens adultos. Sua prevalência é de 1% ao redor do mundo, independentemente de identidade cultural ou etnicidade. A desordem é caracterizada por diversas características comportamentais motora, afetiva e cognitiva anormais. A maioria dos indivíduos afetados (> 80%) é incapaz de manter uma vida profissional autossustentável<sup>1</sup>, e sua expectativa de vida é encurtada em uma média de 10 anos<sup>2</sup>. Juntamente com frequentes hospitalizações, a progressiva piora neurocognitiva impacta profundamente as vidas daqueles afligidos e de suas famílias. A carga financeira acumulada ao sistema social e de saúde europeu é alta (€ 35.229.000.000 anualmente)<sup>3</sup>.

Apesar de tremendos avanços na ciência e na medicina, a desordem permanece um mistério. Na ausência de consistentes marcadores neurobiológicos para esquizofrenia, o diagnóstico ainda depende, em avaliações subjetivas, de um conjunto de sinais e sintomas, baseados nos critérios ICD-10 ou DSM-IV-R, e os atuais tratamentos

farmacológicos são baseados empiricamente. A identificação da fisiopatologia, associada com parâmetros biológicos utilizados para diagnosticar de maneira inequívoca ou avaliar o curso e tratamento, permanece um desafio.

Até esta data, a hipótese da esquizofrenia está baseada em interações multifatoriais, as quais impactam o desenvolvimento cerebral inicial e tardio prevalece. Diversas linhas de evidência suportam essa hipótese do neurodesenvolvimento; entre elas está a associação entre complicações obstétricas, tais como o comum fator hipóxia e esquizofrenia<sup>4,5</sup>. Há forte evidência de uma base genética para a esquizofrenia com um polimorfismo funcional na região promotora de um gene, resultando em mudanças quantitativas da expressão gênica, ou polimorfismo na região codificante, resultando em alterações qualitativas do produto gênico. Entretanto, interações anormais entre gene-ambiente durante o desenvolvimento poderiam ser devidas também a mecanismos epigenéticos no remodelamento de cromatina, os quais regulam a transcrição de genes em vias neuronais complexas, e tais mecanismos têm sido demonstrados em esquizofrenia<sup>6,7</sup>.

## Circuitos neuronais envolvidos em esquizofrenia

Investigações recentes sugerem que não somente um déficit em uma região circunscrita está envolvendo sintomas cognitivos ou positivos-negativos em esquizofrenia, mas alterações em redes neurais controlam cognição e processos sensitivos superiores.

Metanálise de estudos de imagem por ressonância magnética estrutural revela déficit de volume de massa cinzenta em um número de diferentes regiões cerebrais em pacientes esquizofrênicos. As regiões afetadas são o lobo medial temporal, incluindo o hipocampo e o córtex entorrinal, e o córtex de associação heteromodal, incluindo o córtex pré-frontal, parietal e temporal superior. O grau da redução da massa cinzenta é da faixa de 5%-10% na rede fronto-temporo-límbica<sup>8,9</sup>.

MRI estrutural e estudos *post-mortem* mostraram perda do volume no lobo temporal medial, especialmente no hipocampo, como uma das mais consistentes anormalidades estruturais, bem como déficits na memória verbal e espacial<sup>10</sup>. Adicionalmente, estudos *post-mortem* mostraram perda do volume em sub-regiões hipocampais, as quais estão relacionadas a sintomas positivos<sup>11,12</sup>. Novos desenvolvimentos em técnicas de neuroimagem como imagem de tensor de difusão (DTI) permitiram a investigação de distúrbios em conectividade e redes neurais. Estudos de DTI de tratos de substância branca do fórnix e hipocampo em esquizofrenia mostram diminuída anisotropia fracional e suportam a hipótese de desconectividade funcional e estrutural<sup>13-16</sup>, a qual está correlacionada a déficit em função cognitiva, por exemplo, memória declarativa verbal<sup>17</sup>.

O córtex pré-frontal tem sido reconhecido como uma região-chave para a fisiopatologia da doença, por causa do seu envolvimento em função executiva e memória de trabalho, as quais são afetadas na esquizofrenia<sup>18</sup>. Investigações por MRI descobriram reduções principalmente no córtex pré-frontal dorsolateral em 70% dos estudos, reportando volumes diminuídos<sup>19,20</sup>. Um sinal posterior de déficit no desenvolvimento inicial consiste no índice de girificação perturbado como uma medida de enovelamento cortical perturbado<sup>21-25</sup>. Uma absorção pré-frontal e hipofrontalmente diminuída de glicose tem sido relacionada a sintomas negativos e disfunção cognitiva<sup>26,27</sup>. O córtex anterior cingulado é parte do córtex pré-frontal medial e recebe informação sensorial da associação dos córtices insular, temporal e parietal mais a informação emocional da amígdala e córtex orbitofrontal. Essa região cerebral é moduladora do córtex pré-frontal dorsolateral<sup>28,29</sup> e tem mostrado mediar urbanidade como um fator de risco ambiental em esquizofrenia<sup>30</sup>. O córtex pré-frontal, bem como o giro temporal superior, o córtex anterior cingulado e o córtex parietal inferior, pertence ao córtex de associação heteromodal, o qual é responsável pelo processamento cognitivo e influencia o comportamento complexo<sup>31</sup>. Uma disfunção em um desses córtices tem sido descrita em pacientes com esquizofrenia crônica que moram em lares temporários, uma população que serve como base para a maioria das investigações *post-mortem*<sup>32</sup>. Uma metanálise de estudos de fMRI de função executiva em esquizofrenia revelou reduzida ativação do córtex pré-frontal, do córtex cingulado anterior e do tálamo<sup>33</sup>.

Uma redução do volume talâmico em esquizofrenia foi mostrada em estudos estruturais utilizando MRI<sup>34,35</sup>. O tálamo atua como uma estação central de repasse, transferindo informação sensorial periférica de entrada ao córtex. Ele possui um papel crítico na filtragem de informação sensorial, na regulação de entrada cognitiva ao córtex, e mediando conexões corticocorticais entre áreas particularmente implicadas na esquizofrenia, tais como as regiões frontal e temporal. Em pacientes esquizofrênicos, estudos de tomografia de emissão positrônica (PET) mostram uma disfunção do circuito neuronal córtico-cerebelar-talâmico-cortical, contribuindo para a dismetria cognitiva, i.e., cognição prejudicada e outros sintomas da doença<sup>36,37</sup>. Em adição, uma perturbada rede pré-fronto-parietal-talâmica foi mostrada estar envolvida em déficits de memória de trabalho relacionados à doença em esquizofrenia<sup>38</sup>. Em resumo, alterações da conectividade estão presentes em circuitos neuronais complexos, causando não somente uma disfunção em regiões específicas do cérebro, mas também estabelecendo déficits em complexas vias em nível molecular.

## Princípios de métodos de expressão gênica em tecidos *post-mortem*

Para revelar os distúrbios neurológicos por trás da ativação alterada da perda de volume de regiões cerebrais, durante os últimos anos, estudos transcriptômicos usando uma abordagem livre de hipótese com investigação por microarranjo de milhões de genes e estudos dirigidos por hipótese usando reação em cadeia da polimerase em tempo real quantitativa (qRT-PCR) ou hibridização *in situ* foram conduzidos. Cada um desses métodos provê vantagens em biologia molecular: a alta quantidade de genes detectados com estudos de microarranjos e a alta sensibilidade na detecção de um limitado número de genes em estudos por qRT-PCR, o que faz desse método adequado para a verificação da expressão gênica alterada em experimentos de microarranjo. A resolução espacial de sub-regiões, camadas corticais ou populações celulares é a vantagem da investigação utilizando a hibridização *in situ*. O desenvolvimento de tecnologias de aquisição de dados massiva como microarranjos *genome-wide*, proteômica ou, recentemente, sequenciamento de nova geração tem aumentado a compreensão do envolvimento de vias moleculares complexas na fisiopatologia da doença, aumentando, assim, o conhecimento sobre a disfunção de certas moléculas em particular<sup>39</sup>. Novas técnicas microscópicas como microdissecção e captura a *laser* (LCM), usada para a coleta de populações celulares de neurônios ou sub-regiões com integridade de RNAm preservada em secções histológicas coradas, permitem novas perspectivas na compreensão das interações entre redes celulares e moleculares<sup>40,41</sup>.

Entretanto, muitas amostras derivadas de autópsias humanas estão em condições subótimas para estudos de expressão gênica, e múltiplos fatores influenciam a qualidade do RNAm extraído de tecido cerebral. Eles incluem principalmente o estado agonal com hipóxia, causa de morte e atraso *post-mortem*. O pH do tecido é influenciado por esses fatores e pode servir como um marcador subsequente da qualidade do RNA. Adicionalmente, transcritos individuais de RNAm podem exibir taxas de decaimento e meia-vidas diferentes. Dessa forma, o atraso *post-mortem* e o pH deveriam ser documentados, e a qualidade do RNAm do tecido deveria ser sempre determinada usando, por exemplo, o Agilent 2100 BioAnalyzer (Agilent, Palo Alto, CA)<sup>42,43</sup>. Adicionalmente, a maioria dos pacientes esquizofrênicos crônicos foi tratada com antipsicóticos por décadas, assim os efeitos de doses de antipsicóticos calculados em equivalentes de clorpromazina deveriam ser correlacionados aos níveis individuais de RNAm<sup>44</sup>.

## Macroconectividade perturbada: evidência de estudos celulares e moleculares

Conectividade perturbada em esquizofrenia está associada a déficits de mielinização de axônios neuronais. A mielinização possui um papel importante na propagação em células nervosas e também integra a sincronia estrutural do cérebro, resultando em conectividade estrutural e funcional. Oligodendrócitos são as células da glia construtoras de mielina no cérebro. Outras funções dos oligodendrócitos são sinalização trófica a neurônios adjacentes, síntese de fatores de crescimento, sobrevivência e desenvolvimento neuronal, neurotransmissão e função sináptica<sup>45</sup>. Reduzido número, disfunção ou morte de oligodendrócitos podem influenciar a integridade neuronal. Em diversos estudos estereológicos, um diminuído número de oligodendrócitos tem sido reportado no córtex pré-frontal e na sub-região CA4 do hipocampo<sup>46-48</sup>; mapas de densidade de oligodendrócitos mostram um menor agrupamento no córtex pré-frontal<sup>47</sup>. Anormalidades estruturais da camada de mielina e mudanças regressivas nos oligodendrócitos no córtex pré-frontal e hipocampo podem estar baseadas em distúrbios do neurodesenvolvimento ou morte celular por apoptose<sup>49-51</sup>. Interessantemente, o córtex de associação heteromodal tem seu principal período na vida adulta jovem com os primeiros sintomas da esquizofrenia aparecendo<sup>52</sup>. Ao nível molecular, evidência de uma mielinização desordenada foi fornecida por diversos estudos de microarranjo

em regiões cerebrais de pacientes esquizofrênicos<sup>53-57</sup>. Estudos de RT-PCR quantitativo<sup>57,58</sup> confirmam a implicação de oligodendrócitos e mielina na patogênese pela descoberta da expressão reduzida de múltiplos genes de oligodendrócitos e/ou mielina-relacionados em diferentes regiões cerebrais<sup>59</sup>. Adicionalmente, estudos proteômicos reportaram disfunção de oligodendrócitos e perturbações relacionadas à mielinização. Proteína básica de mielina (MBP) é o principal constituinte da camada de mielina produzida pelos oligodendrócitos, e a glicoproteína da mielina do oligodendrócito (MOG) foi encontrada menos expressa no córtex pré-frontal e temporal, hipocampo e córtex entorrinal, onde foi associada a anormalidades migracionais de células pré-alfa<sup>60-63</sup>. Adicionalmente, o marcador de oligodendrócito 2',3'-nucleotídeo cíclico-3'-fosfodiesterase (CNP) foi menos expresso nessas regiões, e reduzido número de neurônios CNPase-corados foi relatado no córtex pré-frontal<sup>47</sup>. Outros genes mielina-relacionados comumente alterados são a proteína periférica de mielina 22 (PMP22), glicoproteína associada a mielina (MAG), proteína de mielina e leucócito (MAL), transferrina (TF), claudina 1, claudina 5, proteína de proteolípido (PLP), gelsolina (GSN), plasmalipina (PLL, TM4SF11) e *quaking* (QKI)<sup>56,57,59</sup>, a qual promove um importante papel no neurodesenvolvimento, crescimento e manutenção da mielina em axônios<sup>64</sup>. Essas proteínas poderiam ser também potenciais biomarcadores para a esquizofrenia<sup>65</sup>. A proteína de oligodendrócito ermina também foi encontrada sendo mais expressa no córtex pré-frontal e menos expressa no córtex temporal em dois estudos proteômicos por abordagem *shotgun* utilizados<sup>66,67</sup>. Brockschneider *et al.*<sup>68</sup> concluíram que a ermina provavelmente contribui para a manutenção e a estabilização da camada de mielina no cérebro adulto.

### Esquizofrenia como uma desordem de plasticidade sináptica perturbada

Sinapses estão localizadas nos espinhos dendríticos, os quais foram relatados como reduzidos no córtex pré-frontal de pacientes esquizofrênicos<sup>69</sup>. Possivelmente, uma hipofunção do receptor NMDA glutamatérgico agindo em potenciação em longo prazo perturba a plasticidade sináptica<sup>70</sup>. Em nível molecular, há forte evidência para uma diminuída plasticidade sináptica, principalmente afetando a expressão de proteínas de vesícula pré-sinápticas, incluindo a proteína associada a sinaptossoma 25 e syntaxina, formando o complexo receptor proteico de fixação de fator sensível à *N-etil-maleimida solúvel* (SNARE)<sup>71-79</sup>. O complexo trimérico SNARE está envolvido na fusão de membrana e exocitose de neurotransmissores. Níveis de RNAm, como têm sido relatado, estão aumentados no córtex temporal superior do grupo mais jovem de pacientes esquizofrênicos<sup>79</sup>. Um estudo de microarranjo no córtex pré-frontal mostrou expressão alterada de genes associados com a reciclagem de vesículas sinápticas em esquizofrenia<sup>80</sup>. Em conformidade com isso, no nível proteico reduzida imunoreatividade de sinaptofisina e SNAP-25 foi detectada no córtex pré-frontal<sup>60,69,81-83</sup>. Entretanto, os resultados não são consistentes e variam bastante entre diferentes regiões cerebrais<sup>83,84</sup>. Nas áreas terminais das projeções do córtex entorrinal, a expressão de SNAP-25 foi diminuída<sup>85</sup>. No hipocampo, foi mostrado que populações de neurônios possuíam menos espinhos dendríticos e arborizações dendríticas reduzidas<sup>86</sup>. Essa observação foi suportada por estudos detectando marcadores moleculares a proteína microtúbulo-associada 2 (MAP2) e espinofilina<sup>87,88</sup>. Evidência de redução de marcadores pré-sinápticos também foi reportada. Um achado mais consistente dentro do hipocampo é a anormal conectividade sináptica, como mostrado pela diminuída expressão de proteínas pré-sinápticas sinapsina, sinaptofisina e SNAP-25<sup>73</sup>. Em adição, perturbações de complexinas no hipocampo foram associadas à severidade do dano cognitivo *ante-mortem*<sup>78</sup>. Posteriores perspectivas em plasticidade sináptica perturbada foram apoiadas por um estudo de microarranjo do córtex temporal superior, mostrando que uma diminuída expressão de genes imunorrelacionados pode afetar a força sináptica e a transmissão<sup>44</sup>. De modo geral, quando combinados os achados

no nível proteico e os RNAm, isso suporta fortemente a noção de expressão de genes sinápticos regionalmente distinta.

Expressão alterada de proteínas de citoesqueleto em regiões cerebrais relacionadas à esquizofrenia pode influenciar a plasticidade sináptica durante o neurodesenvolvimento e na vida adulta, com consequências na neurotransmissão. Em nervos terminais, o cristalino mu modula proteínas de citoesqueleto<sup>89</sup>. Em um estudo proteômico, proteínas de citoesqueleto foram relatadas como mais expressas no córtex pré-frontal em esquizofrenia<sup>66</sup>. Expressão aumentada de cristalino mu em esquizofrenia também foi relatada em estudos transcriptômicos<sup>53,90</sup>. Entretanto, uma investigação mais detalhada de genes de citoesqueleto em regiões cerebrais *post-mortem* é necessária. Interessantemente, um estudo de microdissecção e captura a *laser* em neurônios granulares dentados isolados reportou diminuída expressão de genes relacionados a proteínas de citoesqueleto, plasticidade sináptica e metabolismo energético<sup>91</sup>, então suportando a hipótese de microconectividade perturbada.

### Metabolismo energético perturbado: evidência de estudos transcriptômicos

Em esquizofrenia, diversos genes alterados estão envolvidos em processos relacionados ao metabolismo energético de glicose. Por exemplo, hexoquinase foi encontrada mais expressa no córtex temporal superior e pré-frontal. Ela participa de diferentes processos celulares, seja ele a glicólise ou metabolismo de frutose, galactose, sacarose e manose<sup>65</sup>. Algumas outras proteínas reportadas alteradas em nível proteico também estão descritas como diferencialmente expressas em estudos transcriptômicos. Elas estão envolvidas no metabolismo energético, tais como o precursor mitocondrial da cadeia alfa de ATP sintase, transferrina e aldolase C<sup>53,92</sup>. Mitocôndrias neuronais são conhecidas por produzir a maior parte da energia celular. Sendo assim, alterações nas proteínas mitocondriais, causadas por fatores exógenos ou endógenos, podem resultar em desregulação da produção de energia. Vias envolvidas no metabolismo energético envolvem processos internos como a glicólise, ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa. Mudanças na fosforilação oxidativa mitocondrial no cérebro<sup>93</sup> e em plaquetas<sup>94</sup> de pacientes esquizofrênicos já foram relatadas. Genes associados a funções mitocondriais essenciais ao desenvolvimento normal do cérebro e função sináptica têm se mostrado anormais<sup>95,96</sup>. Ben-Shachar e Karry<sup>95</sup> acharam uma ligação fisiopatológica entre a função mitocondrial e a esquizofrenia. Isso foi demonstrado no nível da função mitocondrial, respiração mitocondrial e atividade do complexo I e no nível da expressão gênica e proteica. A doença exibe também uma interação anormal entre dopamina e a mitocôndria<sup>95,97</sup>. Levantou-se a hipótese de que alterações em proibitina estão envolvidas na plasticidade sináptica perturbada<sup>98</sup>. É conhecido controle da desacetilação de histona<sup>99</sup>, que pode estar localizada na membrana interior da mitocôndria.

### Conclusão

Estudos transcriptômicos indicam forte evidência para uma sinaptopatia, e déficits na função de oligodendrócitos e metabolismo energético fundamentam déficits cognitivos e domínios de sintomas na esquizofrenia. Estes podem ser fundamentais para déficits de volume em circuitos neuronais distintos, bem como para ativação cerebral alterada durante tarefas cognitivas. Entretanto, apesar dessas perspectivas fisiopatológicas, em estudos *post-mortem* feitos confusos de medicação, qualidade de RNAm, causa da morte bem como capacidade do cérebro por mecanismos regenerativos neuroplásticos em indivíduos com um histórico de vida de mecanismos de interação por processos próprios da doença, mas também por ativação física e cognitiva, podem levar a um complexo padrão de alterações cerebrais. Apesar dessas limitações, estudos transcriptômicos e proteômicos de tecido *post-mortem* oferecem a possibilidade única de identificação em vias complexas para revelar o cenário complexo da fisiopatologia da esquizofrenia e desenvolver novas estratégias de tratamento neuroprotetor.

## Referências

1. Lindstrom E, Eberhard J, Neovius M, Levander S. Costs of schizophrenia during 5 years. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 2007;(435):33-40
2. Saha S, Chant D, McGrath J. A systematic review of mortality in schizophrenia: is the differential mortality gap worsening over time? *Arch Gen Psychiatry.* 2007;64(10):1123-31.
3. Andlin-Sobocki P, Rossler W. Cost of psychotic disorders in Europe. *Eur J Neurol.* 2005;12(Suppl 1):74-7.
4. McNeil TF, Cantor-Graae E, Ismail B. Obstetric complications and congenital malformation in schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev.* 2000;31(2-3):166-78.
5. Fendt M, Lex A, Falkai P, Henn FA, Schmitt A. Behavioural alterations in rats following neonatal hypoxia and effects of clozapine: implications for schizophrenia. *Pharmacopsychiatry.* 2008;41(4):138-45.
6. Roth TL, Lubin FD, Sodhi M, Kleinman JE. Epigenetic mechanisms in schizophrenia. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1790(9):869-77.
7. Fischer A, Sananbenesi F, Mungenast A, Tsai LH. Targeting the correct HDAC(s) to treat cognitive disorders. *Trends Pharmacol Sci.* 2010;31(12):605-17.
8. Wright IC, Rabe-Hesketh S, Woodruff PW, David AS, Murray RM, Bullmore ET. Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 2000;157(1):16-25.
9. Shenton ME, Dickey CC, Frumin M, McCarley RW. A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2001;49:1-52.
10. Heckers S. Neuroimaging studies of the hippocampus in schizophrenia. *Hippocampus.* 2001;11:520-8.
11. Bogerts B, Falkai P, Haupts M, Greve B, Ernst S, Tapernon-Franz U, et al. *Post-mortem* volume measurements of limbic system and basal ganglia structures in chronic schizophrenics. Initial results from a new brain collection. *Schizophr Res.* 1990;3:295-301.
12. Bogerts B, Lieberman JA, Ashtari M, Bilder RM, Degreaf G, Lerner G, et al. Hippocampus-amygdala volumes and psychopathology in chronic schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 1993;33:236-46.
13. Kalus P, Buri C, Slotboom J, Gralla J, Remonda L, Dierks T, et al. Volumetry and diffusion tensor imaging of hippocampal subregions in schizophrenia. *Neuroreport.* 2004;15:867-71.
14. Kuroki N, Kubicki M, Nestor PG, Salisbury DF, Park HJ, Levitt JJ, et al. Fornix integrity and hippocampal volume in male schizophrenic patients. *Biol Psychiatry.* 2006;60:22-31.
15. White T, Kendi AT, Lehericy S, Kendi M, Karatekin C, Guimaraes A, et al. Disruption of hippocampal connectivity in children and adolescents with schizophrenia – a voxel-based diffusion tensor imaging study. *Schizophr Res.* 2007;90:302-7.
16. Zhou Y, Shu N, Liu Y, Song M, Hao Y, Liu H, et al. Altered resting-state functional connectivity and anatomical connectivity of hippocampus in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2008;100:120-32.
17. Lim KO, Ardekani BA, Nierenberg J, Butler PD, Javitt DC, Hoptman MJ. Voxelwise correlational analyses of white matter integrity in multiple cognitive domains in schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 2006;163:2008-10.
18. John JP. Fronto-temporal dysfunction in schizophrenia: a selective review. *Indian J Psychiatry.* 2009;51(3):180-90.
19. Cannon TD, Thompson PM, Van Erp TG, Toga AW, Poutanen VP, Huttenen M, et al. Cortex mapping reveals regionally specific patterns of genetic and disease-specific gray-matter deficits in twins discordant for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(5):3228-33.
20. Schmitt A, Weber-Fahr W, Jatzko A, Tost H, Henn FA, Braus DF. Aktueller überblick über strukturelle magnetresonanztomographie bei schizophre- nie. *Fortschr Neurologie Psychiatrie.* 2001;69(3):105-15.
21. Vogele K, Tepest R, Schneider-Axmann T, Hütte H, Zilles K, Honer WG, et al. Automated image analysis of disturbed cytoarchitecture in Brodmann area 10 in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2003;62:133-40.
22. Sallet PC, Elkis H, Alves TM, Oliveira JR, Sassi E, Campi de Castro C, et al. Reduced cortical folding in schizophrenia: an MRI morphometric study. *Am J Psychiatry.* 2003;160(9):1606-13.
23. Falkai P, Honer WG, Kamer T, Dustert S, Vogele K, Schneider-Axmann T, et al. Disturbed frontal gyrification within families affected with schizophrenia. *J Psychiatry Res.* 2007;41(10):805-13.
24. Stanfield AC, Moorhead TW, Harris JM, Owens DG, Lawrie SM, Johnstone EC. Increased right prefrontal cortical folding in adolescents at risk of schizophrenia for cognitive reasons. *Biol Psychiatry.* 2008;63(1):80-5.
25. McIntosh AM, Moorhead TW, McKirdy J, Hall J, Sussmann JE, Stanfield AC, et al. Prefrontal gyral folding and its cognitive correlates in bipolar disorder and schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand.* 2009;119(3):192-8.
26. Carter CS, Perlstein W, Ganguli R, Brar J, Mintun M, Cohen JD. Functional hypofrontality and working memory dysfunction in schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 1998;155(9):1285-7.
27. Schröder J, Buchsbaum MS, Siegel BV, Geider FJ, Lohr J, Tang C, et al. Cerebral metabolic activity correlates of subsyndromes in chronic schizophrenia. *Schizophr Res.* 1996;19(1):41-53.
28. Kerns JG, Cohen JD, MacDonald AW, Cho RY, Stenger VA, Carter CS. Anterior cingulate conflict monitoring and adjustments in control. *Science.* 2004;303:1023-6.
29. Fincham JM, Anderson JR. Distinct roles of the anterior cingulate and prefrontal cortex in the acquisition and performance of a cognitive skill. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:12941-6.
30. Lederbogen F, Kirsch P, Haddad L, Streit F, Tost H, Schuch P, et al. City living and urban upbringing affect neural social stress processing in humans. *Nature.* 2011;474(7353):498-501.
31. Pearlson GD, Petty RG, Ross CA, Tien AY. Schizophrenia: a disease of heteromodal association cortex? *Neuropsychopharmacol.* 1996;14:1-17.
32. Schmitt A, Steyskal C, Bernstein HG, Parlapani E, Schaeffer EL, Gattaz WF, et al. Stereologic investigation of the posterior part of the hippocampus in schizophrenia. *Acta Neuropathol.* 2009;117(4):395-407.
33. Minzenberg MJ, Laird AR, Thelen S, Carter CS, Glahn DC. Meta-analysis of 41 functional neuroimaging studies of executive function in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 2009;66(8):811-22.
34. Gaser C, Nenadic I, Volz HP, Büchel C, Sauer H. Neuroanatomy of “hearing voices”: a frontotemporal brain structural abnormality associated with auditory hallucinations in schizophrenia. *Cereb Cortex.* 2004;14(1):91-6.
35. Brickman AM, Buchsbaum MS, Shihabuddin L, Byne W, Newmark RE, Brand J, et al. Thalamus size and outcome in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2004;71:473-84.
36. Andreasen NC, Arndt S, Swayze V 2nd, Cizadlo T, Flaum M, O’Leary D, et al. Thalamic abnormalities in schizophrenia visualized through magnetic resonance image averaging. *Science.* 1994;266:294-8.
37. Andreasen NC, Nopoulos P, O’Leary DS, Miller DD, Wassink T, Flaum M. Defining the phenotype of schizophrenia: cognitive dysmetria and its neural mechanisms. *Biol Psychiatry.* 1999;46:908-20.
38. Schneider F, Habel U, Reske M, Kellermann T, Stöcker T, Shah NJ, et al. Neural correlates of working memory dysfunctions in first-episode schizophrenia patients: An fMRI multicenter study. *Schizophr Res.* 2007;89:198-210.
39. Gebicke-Härter PJ. Expression profiling in brain disorders. In: Karamanos Y, editor. *Expression profiling in neuroscience (neuromethods).* New York: Springer; 2011. p. 64. (DOI 10.1007/978-1-61779-448-3\_3)
40. Rossner M, Hirrlinger J, Wichert SP, Boehm C, Newrzella D, Hiemisch H, et al. Global transcriptome analysis of genetically identified neurons in the adult cortex. *J Neurosci.* 2006;26(39):9956-66.
41. Newrzella D, Pahlavan PS, Krüger C, Boehm C, Sorgenfrei O, Schröck H, et al. The functional genome of CA1 and CA3 neurons under native conditions and in response to ischemia. *BMC Genomics.* 2007;15(8):370.
42. Schmitt A, Bauer M, Feiden W, Heinsen H, the Consortium of Brainnet Europe II, Falkai P. How a neuropsychiatric brain bank should be run – A consensus paper of Brainnet Europe II. *J Neural Transm.* 2007;114(5):527-37.
43. Schmitt A, Parlapani E, Bauer M, Heinsen H, Falkai P. Is brain banking of psychiatric cases valuable for neurobiological research? *Clinics.* 2008;63(2):255-66.
44. Schmitt A, Leonardi-Essmann F, Durrenberger P, Parlapani E, Schneider-Axmann T, Spanagel R, et al. Regulation of immune-modulatory genes in left superior temporal cortex of schizophrenia patients: a genome-wide microarray study. *W J Biol Psychiatry.* 2011;12(3):201-15.
45. Du Y, Dreyfus CF. Oligodendrocytes as providers of growth factors. *J Neurosci Res.* 2002;68:647-54.
46. Hof PR, Haroutunian V, Copland C, Davis KL, Buxbaum JD. Molecular and cellular evidence for an oligodendrocyte abnormality in schizophrenia. *Neurochem Res.* 2002;27:1193-200.
47. Hof PR, Haroutunian V, Friedrich VL Jr, Byne W, Buitron C, Perl DP, et al. Loss and altered spatial distribution of oligodendrocytes in the superior frontal gyrus in schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 2003;53:1075-85.

48. Schmitt A, Steyskal C, Bernstein HG, Parlapani E, Schaeffer EL, Gattaz WF, et al. Stereologic investigation of the posterior part of the hippocampus in schizophrenia. *Acta Neuropathol.* 2009;117(4):395-407.
49. Davis KL, Stewart DG, Friedman JI, Buchsbaum M, Harvey PD, Hof PR, et al. White matter changes in schizophrenia: evidence for myelin-related dysfunction. *Arch Gen Psychiatry.* 2003;60:443-56.
50. Kolomeets NS, Orlovskaia DD, Rachmanova VI, Uranova NA. Ultrastructural alterations in hippocampal mossy fiber synapses in schizophrenia: a *post-mortem* morphometric study. *Synapse.* 2005;57(1):47-55.
51. Kolomeets NS, Uranova NA. [Pathology of oligodendroglia and myelinated fibers of the hippocampus in schizophrenia (an ultrastructural and morphometric study)]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2008;108:52-60.
52. Höistad M, Segal D, Takahashi N, Sakurai T, Buxbaum JD, Hof PR. Linking white and grey matter in schizophrenia: oligodendrocyte and neuron pathology in the prefrontal cortex. *Frontiers Neuroanat.* 2009;3:9.
53. Hakak Y, Walker JR, Li C, Wong WH, Davis KL, Buxbaum JD, et al. Genome-wide expression analysis reveals dysregulation of myelination-related genes in chronic schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:4746-51.
54. Tkachev D, Mimmack ML, Ryan MM, Wayland M, Freeman T, Jones PB, et al. Oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia and bipolar disorder. *Lancet.* 2003;362:798-805.
55. Aston C, Jiang L, Sokolov BP. Microarray analysis of *post-mortem* temporal cortex from patients with schizophrenia. *J Neurosci Res.* 2004;77:858-66.
56. Katsel P, Davis KL, Haroutunian V. Variations in myelin and oligodendrocyte-related gene expression across multiple brain regions in schizophrenia: a gene ontology study. *Schizophr Res.* 2005;79:157-73.
57. Dracheva S, Davis KL, Chin B, Woo DA, Schmeidler J, Haroutunian V. Myelin-associated mRNA and protein expression deficits in the anterior cingulate cortex and hippocampus in elderly schizophrenia patients. *Neurobiol Dis.* 2006;21:531-40.
58. Aberg K, Saetre P, Jareborg N, Jazin E. Human QKI, a potential regulator of mRNA expression of human oligodendrocyte-related genes involved in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:7482-7.
59. Haroutunian V, Katsel P, Dracheva S, Stewart DG, Davis KL. Variations in oligodendrocyte-related gene expression across multiple cortical regions: implications for the pathophysiology of schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2007;10:565-73.
60. Honer WG, Falkai P, Chen C, Arango V, Mann JJ, Dwork AJ. Synaptic and plasticity-associated proteins in anterior frontal cortex in severe mental illness. *Neuroscience.* 1999;91:1247-55.
61. Tkachev D, Mimmack ML, Ryan MM, Wayland M, Freeman T, Jones PB, et al. Oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia and bipolar disorder. *Lancet.* 2003;362(9386):798-805.
62. Chambers JS, Perrone-Bizzozero NI. Altered myelination of the hippocampal formation in subjects with schizophrenia and bipolar disorder. *Neurochem Res.* 2004;29:2293-302.
63. Parlapani E, Schmitt A, Bergmann A, Bernstein HG, Breunig B, Gruber O, et al. Association between myelin basic protein expression and left entorhinal cortex pre-alpha cell layer disorganization in schizophrenia. *Brain Res.* 2009;1301:126-34.
64. McInnes LA, Lauriat TL. RNA metabolism and dysmyelination in schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev.* 2006;30(4):551-61.
65. Martins-de-Souza D, Dias-Neto E, Schmitt A, Falkai P, Gormanns P, Maccarrone G, et al. Proteome analysis of schizophrenia brain tissue. *World J Biol Psychiatry.* 2010;11(2):110-20.
66. Martins-de-Souza D, Gattaz WF, Schmitt A, Novello JC, Marangoni S, Dias-Neto E. Proteome analysis of schizophrenia patients Wernicke's area reveals an energy metabolism dysregulation. *BMC Psychiatry.* 2009;9(1):17.
67. Martins-de-Souza D, Gattaz WF, Schmitt A, Rewerts C, Maccarrone G, Dias-Neto E, et al. Prefrontal cortex shotgun proteome analysis reveals altered calcium homeostasis and immune system imbalance in schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2009;259(3):151-63.
68. Brockschneider D, Sabanay H, Riethmaxher D, Peles E, Ermin, a myelinating oligodendrocyte-specific protein that regulates cell morphology. *J Neurosci.* 2006;26(3):757-62.
69. Glantz LA, Lewis DA. Reduction of synaptophysin immunoreactivity in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 1997;54:943-52.
70. Olney JW, Farber NB. Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 1995;52:998-1007.
71. Eastwood SL, Brunet PWJ, Harrison PJ. Expression of complexin I and II mRNAs and their regulation by antipsychotic drugs in the rat forebrain. *Synapse.* 2000;36:167-77.
72. Eastwood SL, Harrison PJ. Hippocampal synaptic pathology in schizophrenia, bipolar disorder and major depression: a study of complexin mRNAs. *Mol Psychiatry.* 2000;5(4):425-32.
73. Eastwood SL, Harrison PJ. Synaptic pathology in the anterior cingulate cortex in schizophrenia and mood disorders. A review and a Western blot study of synaptophysin, GAP-43 and the complexins. *Brain Res Bull.* 2001;55(5):569-78.
74. Eastwood SL, Harrison PJ. Decreased expression of vesicular glutamate transporter 1 and complexin II mRNAs in schizophrenia: further evidence for a synaptic pathology affecting glutamate neurons. *Schizophr Res.* 2005;73(2-3):159-72.
75. Knable MB, Barci BM, Webster MJ, Meador-Woodruff J, Torrey EF, Stanley Neuropathology Consortium. Molecular abnormalities of the hippocampus in severe psychiatric illness: *post-mortem* findings from the Stanley Neuropathology Consortium. *Mol Psychiatry.* 2004;9(6):609-20.
76. Kuromitsu J, Yokoi A, Kawai T, Nagasu T, Aizawa T, Haga S, et al. Reduced neuropeptide Y mRNA levels in the frontal cortex of people with schizophrenia and bipolar disorder. *Brain Res Gene Expr Patterns.* 2001;1(1):17-21.
77. Sawada K, Young CE, Barr AM, Longworth K, Takahashi S, Arango V, et al. Altered immunoreactivity of complexin protein in prefrontal cortex in severe mental illness. *Mol Psychiatry.* 2002;7(5):484-92.
78. Sawada K, Barr AM, Nakamura M, Arima K, Young CE, Dwork AJ, et al. Hippocampal complexin proteins and cognitive dysfunction in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 2005;62(3):263-72.
79. Sokolov BP, Tcherepanov AA, Haroutunian V, Davis KL. Levels of mRNAs encoding synaptic vesicle and synaptic plasma membrane proteins in the temporal cortex of elderly schizophrenic patients. *Biol Psychiatry.* 2000;48(3):184-96.
80. Maycox PR, Kelly F, Taylor A, Bates S, Reid J, Logendra R, et al. Analysis of gene expression in two large schizophrenia cohorts identifies multiple changes associated with nerve terminal function. *Mol Psychiatry.* 2009;14(12):1083-94.
81. Fatemi SH, Earle JA, Stary JM, Lee S, Sedgewick J. Altered levels of the synaptosomal associated protein SNAP-25 in hippocampus of subjects with mood disorders and schizophrenia. *Neuroreport.* 2001;12(15):3257-62.
82. Honer WG, Falkai P, Bayer TA, Xie J, Hu L, Li HY, et al. Abnormalities of SNARE mechanism proteins in anterior frontal cortex in severe mental illness. *Cereb Cortex.* 2002;12(4):349-56.
83. Thompson PM, Sower AC, Perrone-Bizzozero NI. Altered levels of the synaptosomal associated protein SNAP-25 in schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 1998;43(4):239-43.
84. Halim ND, Weickert CS, McClintock BW, Hyde TM, Weinberger DR, Kleinman JE, et al. Presynaptic proteins in the prefrontal cortex of patients with schizophrenia and rats with abnormal prefrontal development. *Mol Psychiatry.* 2003;8(9):797-810.
85. Young CE, Arima K, Xie J, Hu L, Beach TG, Falkai P, et al. SNAP-25 deficit and hippocampal connectivity in schizophrenia. *Cereb Cortex.* 1998;8(3):261-8.
86. Rosoklija G, Toomayan G, Ellis SP, Keilp J, Mann JJ, Latov N, et al. Structural abnormalities of subicular dendrites in subjects with schizophrenia and mood disorders: preliminary findings. *Arch Gen Psychiatry.* 2000;57(4):349-56.
87. Arnold SE, Franz BR, Gur RC, Gur RE, Shapiro RM, Moberg PJ, et al. Smaller neuron size in schizophrenia in hippocampal subfields that mediate cortical-hippocampal interactions. *Am J Psychiatry.* 1995;152:738-48.
88. Law AJ, Lipska BK, Weickert CS, Hyde TM, Straub RE, Hashimoto R, et al. Neuregulin 1 transcripts are differentially expressed in schizophrenia and regulated by 5' SNPs associated with the disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(17):6747-52.
89. Liang P, MacRae TH. Molecular chaperones and the cytoskeleton. *J Cell Sci.* 1997;110(Pt13):1431-40.

90. Arion D, Unger T, Lewis DA, Levitt P, Mirnics K. Molecular evidence for increased expression of genes related to immune and chaperone function in the prefrontal cortex in schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 2007;62(7):711-21.
91. Altar CA, Jurata LW, Charles V, Lemire A, Liu P, Bukhman Y, et al. Deficient hippocampal neuron expression of proteasome, ubiquitin, and mitochondrial genes in multiple schizophrenia cohorts. *Biol Psychiatry.* 2005;58(2):85-96.
92. Vawter MP, Barrett T, Cheadle C, Sokolov BP, Wood WH 3rd, Donovan DM, et al. Application of cDNA microarrays to examine gene expression differences in schizophrenia. *Brain Res Bull.* 2001;55(5):641-50.
93. Ben-Shachar D, Bonne O, Chisin R, Klein E, Lester H, Aharon-Peretz J, et al. Cerebral glucose utilization and platelet mitochondria complex I activity in schizophrenia: A FDG\_PET study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2007;31(4):807-13.
94. Ben-Shachar D, Zuk R, Gazawi H, Reshef A, Sheinkman A, Klein E. Increased mitochondrial complex I activity in platelets of schizophrenic patients. *Int J Neuropsychopharmacol.* 1999;2(4):245-53.
95. Ben-Shachar D, Karry R. Neuroanatomical pattern of mitochondrial complex I pathology varies between schizophrenia, bipolar disorder and major depression. *PLoS ONE.* 2008;3(11):e3676.
96. Prabakaran S, Swatton JE, Ryan MM, Huffaker SJ, Huang JT, Griffin JL, et al. Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. *Mol Psychiatry.* 2004;9(7):684-97.
97. Ben-Shachar D, Zuk R, Gazawi H, Ljubuncic P. Dopamine toxicity involves mitochondrial complex I inhibition: implications to dopamine-related neuropsychiatric disorders. *Biochem Pharmacol.* 2004;67(10):1965-74.
98. Smalla KH, Mikhaylova M, Sahin J, Bernstein HG, Bogerts B, Schmitt A, et al. A comparison of the synaptic proteome in human schizophrenia and rat ketamine psychosis suggest that Prohibitin is involved in the synaptic pathology of schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 2008;13(9):878-96.
99. Wang S, Fusaro G, Padmanabhan J, Chellappan SP. Prohibitin co-localizes with Rb in the nucleus and recruits N-CoR and HDAC1 for transcriptional repression. *Oncogene.* 2002;21(55):8388-96.