

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria

Emily Galvão da Silva

Aumento de IGF-1 sérico em pacientes com transtorno bipolar

Porto Alegre

2016

Emily Galvão da Silva

Aumento de IGF-1 sérico em pacientes com transtorno bipolar

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Médicas:
Psiquiatria da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul como requisito parcial para
obtenção do título de mestre em Psiquiatria.

Orientadora: Adriane Ribeiro Rosa

Porto Alegre
2016

CIP - Catalogação na Publicação

GALVÃO DA SILVA, EMILY
AUMENTO DE IGF-1 SÉRICO EM PACIENTES COM
TRANSTORNO BIPOLAR / EMILY GALVÃO DA SILVA. -- 2016.
47 f.

Orientadora: ADRIANE RIBEIRO ROSA.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria,
Porto Alegre, BR-RS, 2016.

1. TRANSTORNO BIPOLAR. 2. NEUROTROFINAS. 3. IGF-
1. 4. BIOMARCADORES. I. RIBEIRO ROSA, ADRIANE,
orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

RESUMO

O transtorno bipolar (TB) é uma doença crônica, altamente incapacitante e sua fisiopatologia não está bem esclarecida. Apresenta altas taxas de comorbidades clínicas e risco de suicídio trazendo prejuízos e custos significativos para o indivíduo com a doença e para a sociedade. Existem evidências que relacionam o TB à alterações no fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF- 1) e nos sistemas endócrino e imune. O objetivo deste estudo foi avaliar os níveis séricos de IGF-1 em pacientes bipolares comparados com indivíduos controle e sua relação com a inflamação. Foram selecionados 31 pacientes com TB e 33 controles saudáveis. Foram avaliadas as concentrações séricas de IGF-1, hormônio do crescimento (GH), insulina e fator de necrose tumoral α (TNF-α). Como resultado deste estudo, observamos que os níveis séricos de IGF-1 estavam aumentados em pacientes com TB em relação aos controles ($p = 0,001$). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos nas dosagens de insulina, GH e TNF- α. Este estudo sugere uma associação entre IGF-1 na fisiopatologia do transtorno bipolar. É possível que este aumento periférico esteja relacionado com um aumento da resistência do IGF- 1 no SNC, reduzindo assim a sua ação neuroprotetora.

Palavras-chave: Transtorno Bipolar, IGF-1, neurotrofinas

ABSTRACT

Bipolar disorder (BD) is a chronic, highly debilitating and its pathophysiology is not well understood. It offers high rates of clinical comorbidities and suicide risk causing losses and significant costs to the individual with the disease and society. There is evidence that relates to changes in TB-like growth factor type 1 insulin (IGF-1) and the endocrine and immune systems. The aim of this study was to evaluate serum levels of IGF-1 in bipolar patients compared with control subjects and their relationship to inflammation. We selected 31 patients with TB and 33 healthy controls. Serum concentrations of IGF-1, growth hormone, were evaluated (GH), insulin and tumor necrosis factor α (TNF- α). As a result of this study, we observed that serum levels of IGF-1 were increased in TB patients compared to controls ($p = 0.001$). No statistically significant differences were found between groups in insulin dosages, GH, and TNF- α . This study suggests an association between IGF-1 in the pathophysiology of bipolar disorder. It is possible that this increase is associated with peripheral increased IGF-1 resistance in the CNS, thus reducing its neuroprotective action.

Key-words: bipolar disorder, IGF-1, neurotrophins

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AKT	Protein kinase B
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
CGI	Clinical Global Impressions
CID	Classificação Internacional de Doenças
DSM-V	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
FAST	Functioning Assessment Short Test
FGF-2	Fator de Crescimento de Fibroblasto
GH	Hormônio do Crescimento
HAMD	Hamilton Rating Scale for Depression
IGF-1	Fator de Crescimento Semelhante a Insulina tipo 1
IGF-1R	Receptor do Hormônio do Crescimento Semelhante a Insulina tipo 1
IGF-2	Fator de Crescimento Semelhante a Insulina tipo 2
IGFBP	<i>Insulin-like growth factor-binding protein</i>
IL-10	Interleucina 10
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IRS	Substrato do Receptor de Insulina
JNK	<i>c-Jun N-terminal kinase</i>
LPS	Lipopolissacarídeo
MAPK	<i>Mitogen-activated protein kinases</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
OS	Estresse Oxidativo
PI3K	<i>phosphoinositide 3-kinase</i>
PRL	Prolactina
ROS	Espécie Reativa de Oxigênio
RT-PCR	Real-Time Quantitative Reverse Transcription
SD	Spreading Depression
SNC	Sistema Nervoso Central
TB	Transtorno Bipolar
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral
YMRS	Young Mania Rating Scale

β-NGF

Nerve growth factor β

Sumário

1.	INTRODUÇÃO	9
1.1.	TRANSTORNO BIPOLAR	9
1.2	FISIOPATOLOGIA DO TRANSTORNO BIPOLAR	10
1.3	IGF-1	11
1.4	IGF-1 E NEUROPLASTICIDADE	13
1.5	IGF-1 NO TRANSTORNO BIPOLAR	15
1.6	RELAÇÃO DO TNF-ALFA COM O IGF-1	17
2	JUSTIFICATIVA	18
3	OBJETIVOS	19
3.1	OBJETIVO GERAL	19
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4	METODOLOGIA	20
5	ARTIGO CIENTÍFICO	22
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
7	REFERÊNCIAS	43

1. INTRODUÇÃO

1.1. TRANSTORNO BIPOLAR

O transtorno bipolar (TB) é uma patologia mental complexa multifatorial, recorrente e potencialmente grave, com uma prevalência em torno de 2,4% da população mundial (1). Apresenta altas taxas de morbidade e mortalidade trazendo prejuízos e custos significativos para o indivíduo com a doença e para a sociedade (2,3).

O TB é caracterizado pela alternância de episódios de humor chamados de mania e depressão aliados a períodos de remissão dos sintomas (2). De acordo com a classificação internacional de doenças (CID-10) e o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM V) o transtorno bipolar é classificado em dois subtipos: o TB tipo I, caracterizado pela presença de episódios maníacos, e o TB tipo II, onde ocorrem episódios hipomaníacos.

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), o TB é considerado a sexta maior causa de incapacitação do mundo na faixa etária entre 15 e 44 anos (3). Estudos demonstram dificuldade no âmbito do trabalho além de altas taxas de desemprego e aposentadoria por invalidez entre pacientes com TB (4,5).

O paciente bipolar é acometido por muitas doenças clínicas, secundárias ao transtorno psiquiátrico, normalmente relacionado a doenças metabólicas, possivelmente originadas da polifarmacoterapia e uso de antipsicóticos (6,7). A ampla maioria dos pacientes com transtorno bipolar é acometido por pelo menos uma comorbidade clínica associada, sendo mais frequente a obesidade, diabetes e síndrome metabólica. Alterações em metabolismo da glicose e maiores taxas de resistência a insulina, prevalentes nessas doenças, sugerem a importante interação do sistema endócrino na fisiopatologia da doença (8).

1.2 FISIOPATOLOGIA DO TRANSTORNO BIPOLAR

Embora sua fisiopatologia não esteja bem esclarecida, existem evidências de que a doença está associada a um desequilíbrio do sistema imune e respostas inflamatórias (9). Estudos mostram aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral (TNF α) e a interleucina-6 (IL-6) em pacientes em episódio (10). Em outro estudo observou-se um aumento dos níveis de TNF α e IL-6 em pacientes eutímicos, comparados com indivíduos saudáveis (11).

Em um estudo pioneiro foram avaliadas citocinas inflamatórias em pacientes bipolares em estado de mania e depressão. Foi evidenciado um aumento nos níveis de IL-6, nos pacientes em episódio de mania, e aumento de TNF- α e interleucina-8 (IL-8) e nos pacientes em episódio depressivo comparados com indivíduos saudáveis. Esse resultado sugere um prejuízo funcional no sistema imune de indivíduos com transtorno bipolar, nos dois estados da doença (12).

Kauer-Sant'Anna e colaboradores (2009) avaliaram citocinas inflamatórias e fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) em pacientes bipolares em estágio inicial e tardio do transtorno bipolar comparados com indivíduos saudáveis, pareados por sexo e idade. Os resultados deste estudo mostraram um aumento nas dosagens de TNF- α , IL-6 e interleucina-10 (IL-10) em pacientes bipolares em estágios inicial e tardio da doença, comparados com indivíduos controle. Foi possível observar ainda que os níveis de BDNF diminuíram com a progressão do transtorno bipolar, sugerindo esses analitos como possíveis biomarcadores da doença (11). Estes dados evidenciam uma correlação entre o TB e o sistema imunológico e sugerem que a inflamação está relacionada com a fisiopatologia dessa doença.

1.3 IGF-1

O Fator de Crescimento semelhante à Insulina I (IGF-1) é um peptídeo de 70 aminoácidos, que tem um papel importante no crescimento e desenvolvimento humano (13). O termo “*insulin-like*” surgiu em 1954, e embora não seja preciso, se refere ao fato de o IGF-1 estimular a captação de glicose pelo músculo e tecido adiposo, mecanismo semelhante à insulina (14). O IGF-1 possui um importante papel no cérebro adulto, embora também atue no cérebro durante seu desenvolvimento (15).

Embora esta neurotrofina seja preferencialmente produzida no fígado e pâncreas, ela também existe em outros órgãos, como por exemplo, o cérebro e sistema periférico. No sistema periférico, a expressão de IGF-1 é regulada pelo Hormônio do Crescimento (GH). O sistema somatotrópico humano é composto pelo GH e pelo IGF-1, exercendo efeitos sobre metabolismo e crescimento. Após o término do crescimento, GH e IGF-1 atuam na otimização da composição corporal e manutenção do balanço metabólico (16) influenciando metabolismo da glicose e perfil lipídico (17,18). A maioria dos efeitos centrais no sistema somatotrópico são exercidos pelo mediador GH - IGF-1, que é expresso no cérebro por neurônios e células da glia, ou chega ao cérebro após ser produzida pelo fígado (19).

Existem dois tipos de Fatores de Crescimento semelhantes a Insulina: IGF- 1, que está mais expresso na vida adulta e IGF-2, no recém-nascido. O IGF-1 exerce suas funções principalmente através dos receptores de IGF-1 (IGF-1R). Os IGF-1R são formados por duas subunidades α, extracelulares e duas subunidades β, intracelulares. A ativação dos receptores se dá com uma mudança na conformação da subunidades α e a autofosforilação da subunidade β. Isso leva a fosforilação do substrato do receptor e ativação de uma das duas principais vias de sinalização intracelular, a via da *Mitogen-activated protein kinases* (MAPK) ou *phosphoinositide 3-kinase/Protein kinase B* (PI3K/AKT) (20).

O IGF-1 é dependente de proteínas de ligação, como *Insulin-like growth factor-binding protein* (IGFBP) 1-6, para estar na circulação periférica e líquor (21), e isso ocorre para impedir a degradação desta neurotrofina através da

fosforilação ou glicosilação (22). Os diferentes tipos de IGFBPs estão distribuídos no organismo de acordo com a especificidade anatômica (23). Essas proteínas de ligação podem desempenhar uma atividade importante no cérebro, como o controle de IGF-1 no plasma, regular seu tempo de meia-vida e diminuir perda de atividade biológica, controlar os locais de ligação específicos intra e extra-celulares e a modulação e facilitação dos IGFBPs aos receptores (20). As proteínas IGFBP 2, IGFBP 4 e IGFBP 5 estão expressos em maior quantidade no cérebro, enquanto menores quantidades de IGFBP 1, IGFBP 3 e IGFBP 6 são bem descritos (23–25).

O IGF-1 atravessa a barreira hemato-encefálica e pode atuar na neuroproteção, em resposta ao dano neuronal, como neurogênese e sinaptogênese (27,28). Em adultos, está principalmente presente em áreas do cérebro com grande densidade de neurônios, como cerebelo, bulbo olfatório, hipotálamo, hipocampo e córtex (20). É uma neurotrofina que promove a sobrevivência neuronal e inibe a apoptose (29).

O GH e o IGF-1 exercem alguma influência sobre outros hormônios, inclusive os hormônios sexuais. O estradiol, por exemplo, é regulado pela secreção de GH e metabolismo de IGF-1 (30). Um estudo avaliou os níveis de IGF-1 em períodos pré-menopausa e observou a diminuição desses níveis comparados com os períodos de peri e pós-menopausa (31) e perimenopausa já foi associada com diminuição do risco de depressão (32).

1.4 IGF-1 E NEUROPLASTICIDADE

Assim como descrito acima, o IGF-1 tem importante ação para a sobrevivência neuronal e função cognitiva. Alguns estudos tem demonstrado que a deficiência de IGF-1 parece estar relacionada com alterações cognitivas, tais como, dificuldades de aprendizado. Junto a isso, outros autores mostraram uma relação entre os níveis de IGF-1 e o tamanho do hipocampo, ou seja, níveis diminuídos de IGF-1 estava associado com a diminuição do hipocampo (30). Os neurônios presentes no hipocampo desempenham papel crucial no processamento da memória espacial e na aprendizagem (33). Em um modelo animal de trauma, os autores mostraram que a ativação de IGF-1R foi associada ao processo neuroprotetor e manutenção da homeostase cerebral (34).

Estudos relataram que a deficiência de IGF-1 está associada com comprometimento cognitivo (35). Essa alteração está presente em pacientes com transtorno bipolar mesmo em períodos de remissão (36).

Ozdemir e colaboradores (2012) (37) estudaram a relação entre os níveis de IGF-1 periférico e disfunção cognitiva induzida por trauma cerebral em ratos jovens. Os resultados deste estudo mostraram uma redução dos níveis séricos reduzidos de IGF-1 em ratos, tanto no estado precoce (7 dias) quanto tardio (21 dias) ao trauma. Tal redução estava relacionada a perda neuronal no hipocampo e ao déficit de memória espacial, e sugere que a regulação dos níveis de IGF-1 poderia prevenir danos cerebrais em crianças.

Estudos descrevem a microglia como um tipo celular que expressa IGF-1, tendo efeito neuroprotetor, promotor de sobrevivência e atividades regeneradoras no cérebro (38,39).

Em um estudo pré-clínico, Slusarczyk e colaboradores (2015) (40) estudaram a vulnerabilidade da microglia utilizando um modelo de depressão de estresse pré-natal. O estresse foi aplicado durante o período gestacional de ratas e a avaliação dos parâmetros morfológicos e bioquímicos com potencial dano ou proteção a microglia foi feito na prole. Os autores mostraram uma

redução na concentração de IGF-1 e na secreção de suas proteínas, quando comparado aos controles, em cultura de microglia da prole. Tais resultados sugerem que o estresse pré-natal poderia levar a alterações na microglia, que se refletirá no comportamento depressivo em idade adulta.

1.5 IGF-1 NO TRANSTORNO BIPOLAR

Existem relatos dos efeitos neuroprotetores do IGF-1 em diversas patologias, como doenças inflamatórias, injúria, trauma cerebral e esclerose múltipla tanto *in vitro* (41) como *in vivo* (42).

Relacionando o IGF-1 em nível de sistema nervoso central, Park e colaboradores (2011) (43) avaliaram o efeito antidepressivo do IGF-1 em um modelo de neuroinflamação aguda. Foi realizada a administração intracerebroventricular de Lipopolissacarídeo (LPS), para induzir comportamento tipo-depressivo, e de IGF-1, para reverter o comportamento, em camundongos, e foram avaliadas neurotrofinas e citocinas inflamatórias. Os autores observaram que a administração central de IGF-1 foi capaz de reverter o comportamento tipo-depressivo induzido por LPS, diminuir a expressão de citocinas inflamatórias no cérebro e aumentar a expressão de neurotrofinas, como BDNF.

Outro estudo demonstrou que o tratamento com antidepressivos foi capaz de regular os níveis de IGF-1 no cérebro de ratos (44). Paslakis e colaboradores (2012) (45) sugeriram a administração intranasal de IGF-1 como opção terapêutica para a depressão e por ser administração local, minimiza possíveis reações adversas do IGF-1.

Sievers e colaboradores (2014) (46) relacionaram os níveis séricos de IGF-1 com a incidência de depressão em um estudo populacional envolvendo mais de 4000 indivíduos. Esse estudo concluiu que a diminuição dos níveis de IGF-1 em mulheres e o aumento dessa neurotrofina em homens, pode ser um valor preditivo de depressão nos próximos cinco anos.

Em outra pesquisa, foi realizada cultura de células linfoblastoides de sangue fresco pacientes com Transtorno Bipolar respondedores (10) e não respondedores (10) ao tratamento farmacológico com Lítio, comparado com indivíduos saudáveis (8). Utilizando a técnica de microarranjo, foram selecionados 9 genes, que posteriormente foi confirmado utilizado *Real-Time*

Quantitative Reverse Transcription (RT-PCR). Este estudo demonstrou aumentada expressão de IGF-1 somente no grupo de respondedores ao lítio comparado aos não respondedores e controles. Tais dados sugerem um provável efeito neuroprotetor do lítio e a relação disto com o IGF-1 (47).

Em um estudo com 27 pacientes esquizofrênicos e 23 pacientes com Transtorno Bipolar, em primeiro episódio psicótico, comparado com controles, Palomino e colaboradores (2013) (48) encontraram um aumento significativo nos níveis plasmáticos de IGF-1 em pacientes esquizofrênicos comparado ao grupo de bipolares e controles.

Em contrapartida, outro estudo envolvendo pacientes com transtorno bipolar (n=70), em episódio maníaco, demonstrou um aumento dos níveis séricos de IGF-1, Fator de Crescimento de Fibroblasto tipo 2 (FGF-2) e Nerve growth factor β (β -NGF) em pacientes maníacos, quando comparados com os controles. Os autores sugerem um que este aumento de neurotrofinas deve representar um mecanismo compensatório de neuroproteção e angiogênese, importante para a reparação dos processos envolvidos no Transtorno Bipolar (49).

Em outra pesquisa envolvendo pacientes com transtorno bipolar em episódio maníaco (n=102), avaliou-se a concentração de algumas neurotrofinas (IGF-1, β -NGF e BDNF) em cultura de linfócitos extraídos de sangue periférico. Observou-se um aumento dos níveis de IGF-1 quando comparados com controles. Não foram encontradas alterações nas dosagens de BDNF ou β -NGF e não houve associação dessas neurotrofinas com os sintomas maníacos (50).

Por fim, um estudo *post-morten* relatou uma redução de mRNA da proteína IGFBP-2 no córtex pré-frontal de pacientes com Transtorno Bipolar, tanto naqueles pacientes que estavam tratados com lítio quanto naqueles que não estavam em tratamento com lítio (51).

1.6 RELAÇÃO DO TNF-ALFA COM O IGF-1

Existe uma interação entre os sistemas imune e endócrino. Esses sistemas estão em constante adaptação para a manutenção da homeostase do corpo, e essas alterações regulam a ação e secreção adequadas de hormônios e citocinas (52,53). Algumas alterações imunes são moduladas pelo sistema endócrino, especialmente pelo GH, IGF-1 e Prolactina (PRL) (54).

A redução nos níveis de IGF-1 circulante está associada ao aumento de sobrevida e manutenção de função cognitiva ao longo da vida. Entretanto, o aumento da expressão de IGF-1 no cérebro de ratos é potencialmente benéfica (55).

A resistência ao IGF-1 é um fenômeno natural para regular a ação específica do IGF-1. Além da diminuição da sensibilidade, a resistência hormonal é caracterizada pela diminuição da resposta de ligação. A resistência hormonal induzida por citocinas pró-inflamatórias foi mais bem observada em decorrência de comorbidades metabólicas em pacientes depressivos (56).

Níveis elevados de TNF- α associado à diminuição sérica de IGF-1 estão relacionados a fatores de risco de doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer (57,58). O IGF-1 foi capaz de reduzir a excitabilidade induzida por estresse oxidativo (OS) e espécies reativas de oxigênio (ROS) em Spreading Depression (SD). SD é uma patologia induzida pelo desbalanço de ROS e pelo TNF- α (59,60).

2 JUSTIFICATIVA

O TB é uma doença crônica, altamente incapacitante, associada com um alto índice de morbidade e suicídio e de etiologia multifatorial. Existem evidências de que esta doença esteja associada a um desequilíbrio do sistema imune e endócrino. Portanto, a melhor compreensão dessa relação no TB é fundamental para um melhor entendimento das bases biológicas da doença bem como ajudaria a delinear novas estratégias terapêuticas.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente estudo foi avaliar os níveis séricos de IGF-1 em pacientes com Transtorno Bipolar e a relação desta neurotrofina com variáveis clínicas e funcionalidade.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os níveis séricos de IGF-1 em pacientes com Transtorno Bipolar, comparados com indivíduos controle;
- Avaliar correlação entre os níveis séricos de IGF-1 com valores de TNF- α ;
- Avaliar os níveis séricos de GH e insulina em pacientes com Transtorno Bipolar, comparados com indivíduos controle.

4 METODOLOGIA

Trinta e um pacientes foram recrutados no ambulatório do Programa de Transtorno Afetivo Bipolar no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Brasil. Os pacientes preencheram os critérios de transtorno bipolar de acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, quarta edição (DSM-IV).

Trinta e três controles saudáveis foram recrutados a partir do banco de sangue do mesmo hospital. Eles não tinham histórico de doenças psiquiátricas ou distúrbios neurológicos, avaliados pela entrevista clínica estruturada para o DSM-V (SCID).

Os critérios de exclusão para todos os participantes foram história de doenças auto-imunes, infecção crônica/distúrbios inflamatórios, ou qualquer doença sistêmica grave, e uso de terapia imunossupressora.

Todos os participantes forneceram consentimento informado por escrito e o estudo foi aprovado pelo comitê de ética local. (09-121)

Os dados sociodemográficos, clínicos e farmacológicos foram coletados por meio de entrevista estruturada e examinando registros clínicos dos pacientes. A Hamilton Rating Scale for Depression (HAMD) e o Mania Rating Scale Young (YMRS), foram administrados por avaliadores experientes para avaliar os sintomas depressivos e maníacos, respectivamente. Melhora Clínica Global (CGI) foi administrada para avaliar curso da doença (Guy, 1976) e o Teste de Avaliação de Funcionamento (FAST) foi utilizado para avaliar o comprometimento funcional.

Dez mililitros de sangue foram retiradas de cada indivíduo por punção venosa, respeitando o mesmo horário para todos os participantes. O sangue sem anticoagulante foi imediatamente processado e o soro armazenado para análise posterior.

Os níveis séricos de insulina foram medidos pela técnica de quimiluminescência utilizando equipamento ADVIA Centaur XP. GH e IGF-1

foram analisados pelo SIEMENS® e IMMULITE 2000 ®. As medições foram feitas com base nas instruções do fabricante.

A concentração sérica de TNF-a foi determinado por citometria de fluxo usando a matriz BD™ Citometria conjunto de microesferas (CBA) Flex sensibilidade melhorada para o TNF-alfa Interleucina (BD Biosciences, San Diego, CA). A análise técnica e os dados foram realizados de acordo com as recomendações do fabricante. A aquisição de dados foi realizada em um fluxo FACS Calibur citômetro (BD Biosciences, San Diego, CA) e os resultados foram analisados usando a matriz BD CBA Analysis Software FCAP™ software (BD Biosciences, San Diego, CA).

5 ARTIGO CIENTIFICO

A ser submetido ao *International Journal of Neuropsychopharmacology*.

PERIPHERAL INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR 1 IN BIPOLAR DISORDER

Emily G. da Silva^{1,2}, Adriane R. Rosa^{1,2,3}, Julio Walz^{2,5}, Bianca Pfaffenseller^{1,4}, Laura Stertz⁶, Gabriel Fries⁶, Pedro Magalhães^{1,2}.

¹ Laboratory of Molecular Psychiatry, INCT for Translational Medicine - CNPq, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil, ² Post Graduate Program in Medicine, Department of Psychiatry and Sciences of Behavior, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil, ³ Department of Pharmacology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil, ⁴ Post Graduate Program in Life Sciences: Biochemistry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil, ⁵ Unilasalle, University Center La Salle, Canoas, Rio Grande do Sul, Brazil, ⁶ Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, University of Texas Health Science Center, Houston, TX 77054, USA.

Please direct correspondence to: Pedro Magalhães, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, R. Ramiro Barcelos, 2350, 90035903, Porto Alegre - RS, Brazil; Phone: +55 51 3359 8845; email: pedromaga2@gmail.com

Abstract

Background: Bipolar disorder is a recurrent and highly incapacitating illness, related to inflammation and changes in the insulin-like growth factor 1 (IGF-1). The objective of this study was to evaluate serum levels of IGF-1 in bipolar disorder patients and its relation to inflammation.

Methods: We selected 31 patients with bipolar disorder and 33 healthy controls matched for age and sex. Serum concentrations of IGF-1, growth hormone (GH), insulin and tumor necrosis factor α (TNF- α) were analyzed.

Results: The serum levels of IGF-1 seem to be increased in bipolar disorder patients compared to controls ($p = 0.001$). We did not find statistically significant differences between groups in the concentration of insulin, GH, and TNF- α .

Conclusions: This study suggests an association between IGF-1 in the pathophysiology of bipolar disorder. It is possible that this peripheral increase is related to a central nervous system increased resistance to IGF-1, thus reducing its neuroprotective action.

Introduction

Bipolar Disorder is a chronic, highly disabling disease, associated with a high morbidity and suicide rates (Yatham et al., 2013). Although its pathophysiology is not well understood, there is evidence that the disease is associated with imbalance of the immune and endocrine systems (Valverde et al., 2005). Since systemic toxicity and dysfunction has been repeatedly demonstrated in bipolar disorder (Kapczinski et al., 2010; Magalhães et al., 2011), there is interest in identifying molecules that are links between the central nervous system (CNS) and the periphery. As such, these targets could explain the association between illness severity, staging and the presence of medical illness (Grande et al., 2012; Gama et al., 2013; Stertz et al., 2013; Kapczinski et al., 2014).

Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) is a 70 amino acid peptide with structural homology to insulin with which it shares the receptor (Lee et al., 2003). Although this neurotrophin is preferably produced in the liver and pancreas, it also exists in other organs. This peptide is present in the developing brain, but its neurotrophic function is more relevant in the adult brain (Bondy and Lee, 1993). IGF-1 crosses the blood-brain barrier and has been shown to promote neurogenesis and synaptogenesis in response to neuronal damage (Niblock et al., 2000; Aleman and Torres-Alemán, 2009). It is mainly present in brain areas with a high neuron density, such as the cerebellum, olfactory bulb, hypothalamus, hippocampus and cortex (Russo et al., 2005).

IGF-1 is one possible mediator involved in the maintenance of cognitive function in bipolar disorder. Its deficiency seems to be related to cognitive

changes as well as the decrease in the size of the hippocampus (Al-Delaimy et al., 2009; Fernandez and Torres-Alemán, 2012). Additionally, increased serum IGF-1 appears to be associated with improved long-term memory and working memory in children with GH deficiency (Arwert et al., 2005; Nyberg and Hallberg, 2013). However, resistance to IGF-1 seems being involved in neurodegenerative processes, can occur when a decrease in binding capacity to IGF-1 receptor, possibly caused by an increase in glucose levels, alcoholism, obesity (Gatenby and Kearney, 2010; Talbot et al., 2012; Spielman et al., 2014) and metabolic syndrome (O'Connor et al., 2008). In study um, apart from low levels of insulin was observed a decreased insulin and IGF- 1 receptors in the CNS patients with Alzheimer's disease (Moloney et al., 2010).

The increase of inflammatory cytokines has been observed in people with bipolar disorder, especially during the late stages of the disease (Kauer-Sant'Anna et al., 2009). The increase in the cytokine TNF- α appears to be associated with IGF-1 resistance in neuronal culture (Venters et al., 1999) and was also able to reduce the neuroprotective effect of IGF-1 in CNS even with high concentrations of this neurotrophin (Trejo et al., 2004). Therefore, a better understanding of the relationship between the immune and the endocrine systems in bipolar disorder is essential and would help to design new therapeutic strategies to regulate both systems and, therefore, improve cognition and the prognosis of the disease.

The aim of this study was to evaluate serum levels of IGF-1 in patients with bipolar disorder compared with control subjects and its relationship to inflammation.

Methods

Subjects

Thirty-one consecutive patients were recruited from the outpatient bipolar disorders program at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Brazil. Patients met bipolar disorder criteria according to Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Fourth Edition (DSM-IV). Thirty-three healthy controls, matched for age, sex and education level were recruited from blood bank of the same hospital. They had no history of psychiatric illnesses or neurological disorders, assessed by the non-patient version of the Structured Clinical Interview for DSM-V (SCID). All participants signed the informed consent for the study, which was approved by the local ethics committee.

The exclusion criteria for all participants were: a history of autoimmune diseases, chronic infection/inflammatory disorders, or any severe systemic disease, and use of immunosuppressive therapy. All participants provided written informed consent, and the local ethics committee approved the study.

Assessments

Sociodemographic, clinical, and pharmacologic data were collected using a structured interview and examining the patients' clinical records. Experienced raters to assess depressive and manic symptoms, respectively, administered the Hamilton Depression Rating Scale (HAMD) and the Young Mania Rating Scale (YMRS). Clinical Global Improvement (CGI) was administered to evaluate

the course of the illness (Guy, 1976) and the Functioning Assessment Short Test (FAST) was used to assess functional impairment (Cacilhas et al., 2009).

Blood sample

Ten milliliters of blood were withdrawn from each subject by venipuncture, respecting the same schedule collection. The blood without anticoagulant was immediately processed and serum stored for later analysis.

Serum levels of insulin were measured by chemiluminescence technique using ADVIA CENTAUR XP equipment. GH and IGF-1 were analyzed by the SIEMENS® and IMMULITE 2000 ®. The measurements were made based on the manufacturer's instructions.

The serum concentration of TNF-alpha was determined by flow cytometry using the BD™ Cytometric Bead Array (CBA) Flex Set Enhanced Sensitivity to TNF-alpha Interleukin (BD Biosciences, San Diego, CA). The technique and data analysis were performed according to the manufacturer's recommendations. The data acquisition was carried out on the FACS Calibur flow cytometer (BD Biosciences, San Diego, CA) and the results were analyzed using the BD CBA Analysis Software FCAP Array™ software (BD Biosciences, San Diego, CA).

Statistical Analysis

Comparisons of demographic variables (age and gender) between BD patients and controls were made using one-way ANOVA/chi-squared tests. Independent Mann-Whitney for continuous variables (IGF-1, TNF- α , GH,

insulin). IGF-1, TNF- α , GH and insulin levels had a skewed distribution and were log-transformed. Correlations between IGF-1 levels and CGI, HAMD, YMRS and FAST were performed using Spearman's correlation.

Results

The average age of patients and controls were 41.74 ± 11.76 and 41.00 ± 11.94 , respectively. The sample comprised mainly females in both groups (80.60% in patients and 81.80% in control groups). No differences between groups were found concerning age and sex. Other characteristics of the sample are listed in Table 1.

The patient group had significantly higher levels of IGF-1 (248.84 ± 104.91 ng/mL) compared to controls (169.18 ± 74.16 ng/mL, $p = 0.001$) (Figure 1). IGF-1 concentration has reference values, which are dependent on the age. Taking into account these values, 32% of bipolar patients had increased IGF-1 serum concentrations, while only 3% of control subjects are above normal range. Correlations between serum levels of IGF-1 and HAMD ($p = -0.041$ and $p = 0.841$), YMRS ($p = -0.275$ and $p = 0.165$), CGI ($p = -0.047$ and $p = 0.815$) and FAST ($p = -0.214$ and $p = 0.284$) were not statistically significant. Levels of insulin, GH and TNF- α are shown in Table 2. No differences between groups were observed in these parameters.

Discussion

The present study found a significant increase in IGF-1 levels in patients with bipolar disorder when compared with controls. No significant differences were seen in the TNF- α serum levels as well as levels of GH and insulin between groups. Since GH is involved in the synthesis of IGF-1 and IGF-1 shares the same insulin receptor was important to assess these analytes.

Some studies have described changes of this neurotrophin in patients with mental disorders. Palomino et al. (2013) (Palomino et al., 2013) found a significant increase in plasma IGF-1, one month after the first episode psychosis in schizophrenia patients, suggesting that IGF-1 acts as a possible marker for psychiatric diseases. It has been observed an increase of IGF-1 expression in cultured lymphocytes from patients with bipolar disorder susceptible to treatment with lithium, as compared to refractory patients (Squassina et al., 2013). The serum levels of IGF-1 were increased in bipolar patients in the manic episode, as well as the fibroblast growth factor-2 (FGF-2), and the nerve growth factor (NGF) when compared with healthy individuals (Liu et al., 2014). Finally, in a post-mortem study, was observed an mRNA reduction of IGF binding protein (IGFBP-2) in the prefrontal cortex of patients with bipolar disorder (Bezchlibnyk et al., 2007). Together with previous studies, our data suggest an association between IGF-1 changes and the pathophysiology of bipolar disorder.

In this study, there were no significant differences in TNF- α serum levels between bipolar patients and controls. However, other studies from our research group observed increased levels of inflammatory cytokines and

peripheral levels of TNF- α during acute episodes of bipolar disorder (Kapczinski et al., 2011; Frey et al., 2013). Furthermore, an increase of TNF- α in children with trauma was observed, possibly indicating the presence of an inflammatory process in these children (Bücker et al., 2015). It is important to note that in cases of systemic inflammation, IGF-1 must be produced by other cells of the body beyond the liver (Wyss-Coray and Mucke, 2002) and, particularly in inflammatory conditions, nerve cells may become resistant to this neurotrophin.

When it comes to resistance to IGF -1, is a possible relationship between the insulin receptor and IGF-1. The resistance to insulin/IGF-1 is characterized by decreased binding ability to the receptor, which can be triggered by endocrine disorders such as metabolic syndrome (O'Connor et al., 2008). Obesity is one of the leading causes of insulin resistance/IGF-1 in the periphery and may correlate with insulin resistance\IGF -1 in the CNS (Kern et al., 2001; Bigornia et al., 2012). Another possible factor involved in resistance to IGF-1, which could be associated with high serum levels of IGF-1 found in this study is the fact that TB patients present recurrent episodes of mood and, therefore, possible high systemic toxicity (Kapczinski et al., 2010; Grande et al., 2012) and profile inflammatory chronic (Stertz et al., 2013) inflammatory condition that could promote resistance to IGF-1.

Certain diseases related to inflammation, such as psychiatric disorders, clearly demonstrate the strengthening of the signal for cell death. Among these signs, there is the activation of the protein p38 MAPK (p38 - mitogen-activated protein kinases) and JNK (c-Jun N-terminal kinase) (Dávila and Torres-Aleman, 2008). These two proteins are increased in the granular culture of rat cerebellum, and both are linked to increased production of reactive oxygen

species (ROS). Both p38 and JNK inhibit the phosphorylation of the insulin receptor substrates (IRS) inhibiting the intracellular signal initiated by binding of IGF-1 to its receptor (Dávila and Torres-Aleman, 2008). It is possible that this inhibition is one of the factors involved in the central IGF-1 resistance, even in situations where there is a peripheral increase of this neurotrophin (Torres Aleman, 2012).

Some limitations should be considered when interpreting the results of this study. We measured peripheral levels of IGF-1, it is not possible to determine whether these serum measures accurately reflect changes in the CNS. All patients were receiving pharmacological treatment and were recruited from a tertiary hospital, possibly representing individuals with greater disease severity. Finally, although the role of IGF-1 in cognition, our study did not evaluate these parameters. Further studies with a larger number of individuals and evaluation of proteins that act as a substrate of IGF-1 receptors in the brain could better clarify the role this neurotrophin in bipolar disorder.

In conclusion, according to previously published studies, patients with bipolar disorder have increased systemic inflammation. In our study, the concentration of IGF-1 may be related to systemic production triggered by inflammation. It is noteworthy that during the inflammatory condition, the central nervous system can become resistant to this peptide, decreasing its neuroprotective action. Thus, new procedures that mitigate the central resistance to IGF-1 may have scientific relevance in the treatment of bipolar disorder.

Table 1. Sample characteristics.

	Patients (n=31)	Controls (n=33)	f/x ²	p
Age	41.74 ± 11.76	41.00 ± 11.94	0.063	0.803
Females	25 (80.60%)	27 (81.80%)	0.014	1.000
Bipolar Disorder				
Type I	24 (77.4%)	-		
Type II	6 (22.6%)	-		
HAMD	7.93 ± 5.67	-		
YMRS	0.81 ± 3.28	-		
CGI	2.37 ± 1.30	-		
FAST	27.54 ± 13.92	-		

HAMD - Hamilton Depression Rating Scale. YMRS - Young Mania Rating Scale. CGI - Global Assessment of Functioning. FAST - Functioning Assessment Short Test.

Table 2. Biomarkers analysis.

	Patients (n=31)	Controls (n=33)	f	p
Insulin	13.32 ± 14.78	15.05 ± 9.45	0.314	0.577
GH	1.06 ± 2.33	1.87 ± 3.07	1.382	0.244
TNF-α	3879.76 ± 18732.33	546.99 ± 2227.89	1.030	0.314

GH – Growth Hormone. TNF-α – Tumor Necrosis factor Alpha. TNF-α levels are shown as fg/mL.

Figure 1. Levels of IGF in patients and controls.

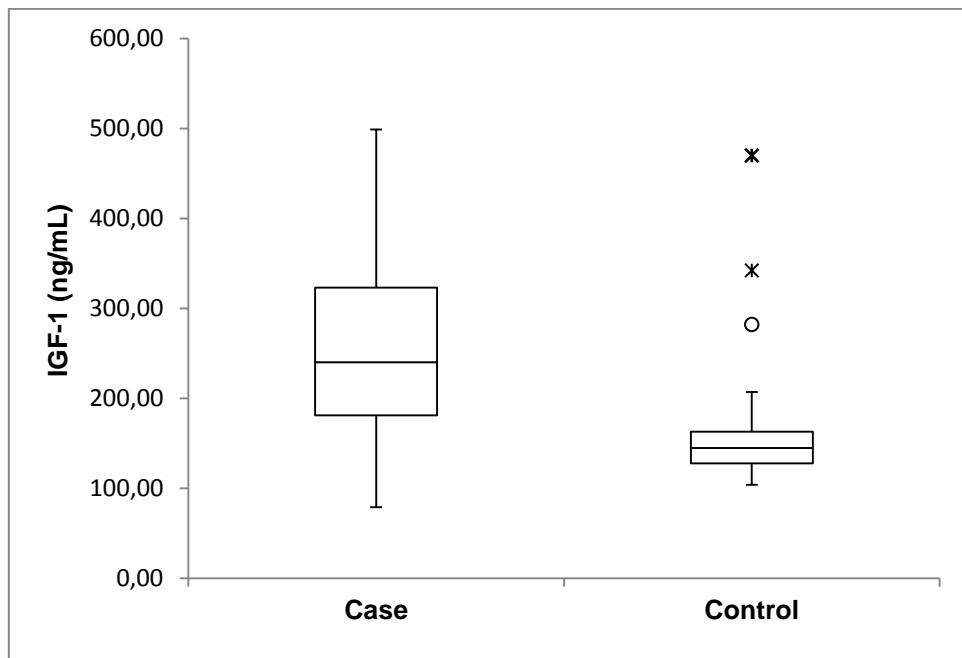


Figure 1. Serum concentration of IGF-1 in patients (case) and controls.

Acknowledgments

This work was funded by CNPq and FAPERGS/CNPq, Brazil.

Conflict of Interest

Adriane R Rosa has not conflict of interest

References

- Al-Delaimy WK, von Muhlen D, Barrett-Connor E (2009) Insulinlike growth factor-1, insulinlike growth factor binding protein-1, and cognitive function in older men and women. *J Am Geriatr Soc* 57:1441–1446.
- Aleman A, Torres-Alemán I (2009) Circulating insulin-like growth factor I and cognitive function: neuromodulation throughout the lifespan. *Prog Neurobiol* 89:256–265.
- Arwert LI, Veltman DJ, Deijen JB, van Dam PS, Delemarre-van deWaal HA, Drent ML (2005) Growth hormone deficiency and memory functioning in adults visualized by functional magnetic resonance imaging. *Neuroendocrinology* 82:32–40.
- Bezchlibnyk YB, Xu L, Wang J-F, Young LT (2007) Decreased expression of insulin-like growth factor binding protein 2 in the prefrontal cortex of subjects with bipolar disorder and its regulation by lithium treatment. *Brain Res* 1147:213–217.
- Bigornia SJ, Farb MG, Mott MM, Hess DT, Carmine B, Fiscale A, Joseph L, Apovian CM, Gokce N (2012) Relation of depot-specific adipose inflammation to insulin resistance in human obesity. *Nutr Diabetes* 2:e30.
- Bondy CA, Lee WH (1993) Patterns of insulin-like growth factor and IGF receptor gene expression in the brain. Functional implications. *Ann N Y Acad Sci* 692:33–43.
- Bücker J, Fries GR, Kapczinski F, Post RM, Yatham LN, Vianna P, Bogo Chies JA, Gama CS, Magalhães PV, Aguiar BW, Pfaffenseller B, Kauer-Sant'Anna M (2015) Brain-derived neurotrophic factor and inflammatory markers in school-aged children with early trauma. *Acta Psychiatr Scand* 131:360–368.
- Cacilhas AA, Magalhães PV da S, Ceresér KM, Walz JC, Weyne F, Rosa AR, Vieta E, Kapczinski F (2009) Validity of a short functioning test (FAST) in Brazilian outpatients with bipolar disorder. *Value Health J Int Soc Pharmacoeconomics Outcomes Res* 12:624–627.
- Dávila D, Torres-Alemán I (2008) Neuronal death by oxidative stress involves activation of FOXO3 through a two-arm pathway that activates stress kinases and attenuates insulin-like growth factor I signaling. *Mol Biol Cell* 19:2014–2025.
- Fernandez AM, Torres-Alemán I (2012) The many faces of insulin-like peptide signalling in the brain. *Nat Rev Neurosci* 13:225–239.
- Frey BN, Andreazza AC, Houenou J, Jamain S, Goldstein BI, Frye MA, Leboyer M, Berk M, Malhi GS, Lopez-Jaramillo C, Taylor VH, Dodd S, Frangou S, Hall GB, Fernandes BS, Kauer-Sant'Anna M, Yatham LN, Kapczinski F, Young LT (2013) Biomarkers in bipolar disorder: a positional paper from

the International Society for Bipolar Disorders Biomarkers Task Force. Aust N Z J Psychiatry 47:321–332.

Gama CS, Kunz M, Magalhães PVS, Kapczinski F (2013) Staging and neuroprogression in bipolar disorder: a systematic review of the literature. Rev Bras Psiquiatr São Paulo Braz 1999 35:70–74.

Gatenby VK, Kearney MT (2010) The role of IGF-1 resistance in obesity and type 2 diabetes-mellitus-related insulin resistance and vascular disease. Expert Opin Ther Targets 14:1333–1342.

Grande I, Magalhães PV, Kunz M, Vieta E, Kapczinski F (2012) Mediators of allostasis and systemic toxicity in bipolar disorder. Physiol Behav 106:46–50.

Guy M (1976) Nursing care study: splenectomy. Nurs Mirror Midwives J 143:59–60.

Kapczinski F et al. (2014) Staging systems in bipolar disorder: an International Society for Bipolar Disorders Task Force Report. Acta Psychiatr Scand 130:354–363.

Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Teixeira AL, Magalhaes PVS, Kauer-Sant'Anna M, Klamt F, Moreira JCF, de Bittencourt Pasquali MA, Fries GR, Quevedo J, Gama CS, Post R (2011) Peripheral biomarkers and illness activity in bipolar disorder. J Psychiatr Res 45:156–161.

Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Teixeira AL, Magalhaes PVS, Kauer-Sant'Anna M, Klamt F, Pasquali MA de B, Quevedo J, Gama CS, Post R (2010) A systemic toxicity index developed to assess peripheral changes in mood episodes. Mol Psychiatry 15:784–786.

Kauer-Sant'Anna M, Kapczinski F, Andreazza AC, Bond DJ, Lam RW, Young LT, Yatham LN (2009) Brain-derived neurotrophic factor and inflammatory markers in patients with early- vs. late-stage bipolar disorder. Int J Neuropsychopharmacol Off Sci J Coll Int Neuropsychopharmacol CINP 12:447–458.

Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G (2001) Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. Am J Physiol Endocrinol Metab 280:E745–E751.

Lee YI, Han YJ, Lee SY, Lee YI, Park SK, Park YJ, Moon HB, Shin JH, Lee JH (2003) Activation of insulin-like growth factor II signaling by mutant type p53: physiological implications for potentiation of IGF-II signaling by p53 mutant 249. Mol Cell Endocrinol 203:51–63.

Liu X, Zhang T, He S, Hong B, Chen Z, Peng D, Wu Y, Wen H, Lin Z, Fang Y, Jiang K (2014) Elevated serum levels of FGF-2, NGF and IGF-1 in patients with manic episode of bipolar disorder. Psychiatry Res 218:54–60.

- Magalhães PVS, Jansen K, Pinheiro RT, Klamt F, Teixeira AL, da Silva RA, Kapczinski F (2011) Systemic toxicity in early-stage mood disorders. *J Psychiatr Res* 45:1407–1409.
- Moloney AM, Griffin RJ, Timmons S, O'Connor R, Ravid R, O'Neill C (2010) Defects in IGF-1 receptor, insulin receptor and IRS-1/2 in Alzheimer's disease indicate possible resistance to IGF-1 and insulin signalling. *Neurobiol Aging* 31:224–243.
- Niblock MM, Brunso-Bechtold JK, Riddle DR (2000) Insulin-like growth factor I stimulates dendritic growth in primary somatosensory cortex. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 20:4165–4176.
- Nyberg F, Hallberg M (2013) Growth hormone and cognitive function. *Nat Rev Endocrinol* 9:357–365.
- O'Connor JC, McCusker RH, Strle K, Johnson RW, Dantzer R, Kelley KW (2008) Regulation of IGF-I function by proinflammatory cytokines: at the interface of immunology and endocrinology. *Cell Immunol* 252:91–110.
- Palomino A, González-Pinto A, Martínez-Cengotitabengoa M, Ruiz de Azua S, Alberich S, Mosquera F, Matute C (2013) Relationship between negative symptoms and plasma levels of insulin-like growth factor 1 in first-episode schizophrenia and bipolar disorder patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 44:29–33.
- Russo VC, Gluckman PD, Feldman EL, Werther GA (2005) The insulin-like growth factor system and its pleiotropic functions in brain. *Endocr Rev* 26:916–943.
- Spielman LJ, Little JP, Klegeris A (2014) Inflammation and insulin/IGF-1 resistance as the possible link between obesity and neurodegeneration. *J Neuroimmunol* 273:8–21.
- Squassina A, Costa M, Congiu D, Manchia M, Angius A, Deiana V, Ardau R, Chillotti C, Severino G, Calza S, Del Zompo M (2013) Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) expression is up-regulated in lymphoblastoid cell lines of lithium responsive bipolar disorder patients. *Pharmacol Res* 73:1–7.
- Stertz L, Magalhães PVS, Kapczinski F (2013) Is bipolar disorder an inflammatory condition? The relevance of microglial activation. *Curr Opin Psychiatry* 26:19–26.
- Talbot K, Wang H-Y, Kazi H, Han L-Y, Bakshi KP, Stucky A, Fuino RL, Kawaguchi KR, Samoyedny AJ, Wilson RS, Arvanitakis Z, Schneider JA, Wolf BA, Bennett DA, Trojanowski JQ, Arnold SE (2012) Demonstrated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline. *J Clin Invest* 122:1316–1338.

- Torres Aleman I (2012) Insulin-like growth factor-1 and central neurodegenerative diseases. *Endocrinol Metab Clin North Am* 41:395–408, vii.
- Trejo JL, Carro E, Garcia-Galloway E, Torres-Aleman I (2004) Role of insulin-like growth factor I signaling in neurodegenerative diseases. *J Mol Med Berl Ger* 82:156–162.
- Valverde AM, Benito M, Lorenzo M (2005) The brown adipose cell: a model for understanding the molecular mechanisms of insulin resistance. *Acta Physiol Scand* 183:59–73.
- Venters HD, Tang Q, Liu Q, VanHoy RW, Dantzer R, Kelley KW (1999) A new mechanism of neurodegeneration: a proinflammatory cytokine inhibits receptor signaling by a survival peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:9879–9884.
- Wyss-Coray T, Mucke L (2002) Inflammation in neurodegenerative disease--a double-edged sword. *Neuron* 35:419–432.
- Yatham LN et al. (2013) Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) and International Society for Bipolar Disorders (ISBD) collaborative update of CANMAT guidelines for the management of patients with bipolar disorder: update 2013. *Bipolar Disord* 15:1–44.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo observou aumento significativo dos níveis de IGF-1 em pacientes com Transtorno Bipolar quando comparado com controles. Não foram observadas diferenças significativas nos níveis séricos de TNF- α bem como nos níveis de GH e Insulina entre os grupos. Uma vez que GH está envolvido na síntese de IGF-1, e IGF-1 compartilha dos mesmos receptores de insulina, foi relevante avaliar esses analitos.

Alguns estudos têm descrito alterações desta neurotrofina em pacientes com transtorno mentais. Palomino e colaboradores (2013) (48) encontraram um aumento significativo nos níveis plasmáticos de IGF-1, um mês após o primeiro episódio psicótico em pacientes com esquizofrenia, sugerindo que o IGF-1 funciona como um possível sinalizador de doenças psiquiátricas. Foi observado um aumento da expressão de IGF-1 em cultura de linfócitos de pacientes com transtorno bipolar sensíveis ao tratamento com lítio, quando comparado à pacientes refratários (47). O IGF-1 sérico mostrou-se aumentado em pacientes bipolares em episódio maníaco, juntamente com fator de crescimento de fibroblasto 2 (FGF-2) e fator de crescimento de nervo (NGF) quando comparado com indivíduos hígidos (49). Por fim, em um estudo *post-mortem* observou-se uma redução de mRNA da proteína ligante de IGF (IGFBP-2) no córtex pré-frontal de pacientes com Transtorno Bipolar (51). Juntamente com prévios estudos, nossos dados sugerem uma associação entre alterações de IGF-1 e a fisiopatologia do transtorno bipolar.

Neste estudo não foram encontradas diferenças significativas nos níveis séricos de TNF- α entre pacientes bipolares e controles. Entretanto, outros estudos do nosso grupo de pesquisa observaram um aumento nos níveis de citocinas inflamatórias e TNF- α periféricos durante os episódios agudos do TB (61,62). Além disso, foi observado um aumento de TNF- α em crianças com trauma, possivelmente indicando a presença de um processo inflamatório nessas crianças(63). É importante salientar que em casos de inflamação sistêmica, o IGF deve ser produzido por outras células do organismo além do

fígado (64) e, especialmente em condições inflamatórias, as células nervosas podem tornar-se resistentes a esta neurotrofina.

Algumas doenças relacionadas com a inflamação, como os transtornos psiquiátricos, demonstram claramente um fortalecimento do sinal para a morte celular. Dentre esses sinais destaca-se a ativação da proteína p38 MAPK (p38 – mitogen-activated protein kinases) e da JNK (c-Jun N-terminal kinase) (65). Essas duas proteínas encontram-se aumentadas em cultura granular do cerebelo de ratos e ambas estão ligadas ao aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). Tanto a p38 quanto a JNK inibem a fosforilação dos substratos dos receptores da insulina (IRS), inibindo o sinal intracelular desencadeado pela ligação do IGF-1 aos seus receptores (65). É possível que essa inibição seja um dos fatores envolvidos com a resistência central ao IGF-1, mesmo em situações em que exista um aumento desta neurotrofina periférica (66).

Algumas limitações devem ser consideradas ao interpretar os resultados deste estudo. Nós medimos níveis periféricos de IGF-1, não sendo possível determinar se essas medidas séricas refletem exatamente alterações no SNC. Todos os pacientes estavam medicados e foram recrutados de um hospital terciário, possivelmente representando indivíduos com uma maior gravidade da doença. Por fim, embora seja reconhecido o papel do IGF-1 sobre a cognição, nosso estudo não avaliou tais parâmetros. Estudos futuros com um maior número de indivíduos e avaliação de proteínas que atuem como substrato ou sinalizadores dos receptores de IGF-1 no cérebro poderiam esclarecer melhor o papel desta neurotrofina no TB.

Os sistemas imune e endócrino tem interação importante, essa relação é responsável pelo controle da ação e secreção de citocinas e hormônios (52,67). Existem evidências do aumento de algumas citocinas inflamatórias provocam resistência ao IGF-1(68). Quando se fala em resistência ao IGF-1, é eminentemente a relação entre os receptores de insulina e IGF-1. A resistência a insulina/IGF-1 é caracterizada pela diminuição da capacidade de ligação ao receptor, que pode ser desencadeada por aumento nos níveis de glicose (69), alcoolismo (70), diabetes mellitus (71) e obesidade, comorbidade prevalente no

transtorno bipolar. A obesidade é uma das maiores causas da resistência à insulina/ e IGF-1 na periferia e pode se correlacionar com a resistência a insulina\IGF-1 no SNC (72,73).

Concluindo, de acordo com estudos previamente publicados, os pacientes com transtorno bipolar apresentam aumento da inflamação sistêmica. No nosso estudo, o aumento da concentração de IGF-1 pode estar relacionado à sua produção sistêmica desencadeada pela inflamação. É importante salientar que durante o quadro inflamatório, o sistema nervoso central pode tornar-se resistente a esse peptídeo, diminuindo sua ação neuroprotetora. Dessa forma, novas propostas terapêuticas que atenuam a resistência central ao IGF-1 podem apresentar relevância científica no tratamento do transtorno bipolar.

7 REFERÊNCIAS

1. Merikangas KR, Jin R, He J-P, Kessler RC, Lee S, Sampson NA, et al. Prevalence and correlates of bipolar spectrum disorder in the world mental health survey initiative. *Arch Gen Psychiatry*. 2011 Mar;68(3):241–51.
2. Goodwin FK, Jamison KR. *Manic-Depressive Illness: Bipolar Disorders and Recurrent Depression*. Oxford University Press; 2007. 1289 p.
3. Lopez AD, Murray CC. The global burden of disease, 1990-2020. *Nat Med*. 1998 Nov;4(11):1241–3.
4. Goetz I, Tohen M, Reed C, Lorenzo M, Vieta E, EMBLEM Advisory Board. Functional impairment in patients with mania: baseline results of the EMBLEM study. *Bipolar Disord*. 2007 Mar;9(1-2):45–52.
5. Gardner HH, Kleinman NL, Brook RA, Rajagopalan K, Brizee TJ, Smeeding JE. The economic impact of bipolar disorder in an employed population from an employer perspective. *J Clin Psychiatry*. 2006 Aug;67(8):1209–18.
6. Thompson WK, Kupfer DJ, Fagiolini A, Scott JA, Frank E. Prevalence and clinical correlates of medical comorbidities in patients with bipolar I disorder: analysis of acute-phase data from a randomized controlled trial. *J Clin Psychiatry*. 2006 May;67(5):783–8.
7. Soreca I, Fagiolini A, Frank E, Houck PR, Thompson WK, Kupfer DJ. Relationship of general medical burden, duration of illness and age in patients with bipolar I disorder. *J Psychiatr Res*. 2008 Sep;42(11):956–61.
8. Calkin CV, Gardner DM, Ransom T, Alda M. The relationship between bipolar disorder and type 2 diabetes: more than just co-morbid disorders. *Ann Med*. 2013 Mar;45(2):171–81.
9. Brietzke E, Kapczinski F. TNF-alpha as a molecular target in bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008 Aug 1;32(6):1355–61.
10. Ortiz-Domínguez A, Hernández ME, Berlanga C, Gutiérrez-Mora D, Moreno J, Heinze G, et al. Immune variations in bipolar disorder: phasic differences. *Bipolar Disord*. 2007 Sep;9(6):596–602.
11. Kauer-Sant'Anna M, Kapczinski F, Andreazza AC, Bond DJ, Lam RW, Young LT, et al. Brain-derived neurotrophic factor and inflammatory markers in patients with early- vs. late-stage bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol Off Sci J Coll Int Neuropsychopharmacol CINP*. 2009 May;12(4):447–58.
12. O'Brien SM, Scully P, Scott LV, Dinan TG. Cytokine profiles in bipolar affective disorder: focus on acutely ill patients. *J Affect Disord*. 2006 Feb;90(2-3):263–7.
13. Lee AV, Taylor ST, Greenall J, Mills JD, Tonge DW, Zhang P, et al. Rapid induction of IGF-IR signaling in normal and tumor tissue following intravenous injection of IGF-I in mice. *Horm Metab Res Horm Stoffwechselforschung Horm Métabolisme*. 2003 Dec;35(11-12):651–5.

14. Randle PJ. Enhancement of insulin action by pituitary growth hormone. *Nature*. 1954 Dec 4;174(4440):1053–4.
15. Bondy CA, Lee WH. Patterns of insulin-like growth factor and IGF receptor gene expression in the brain. Functional implications. *Ann N Y Acad Sci*. 1993 Aug 27;692:33–43.
16. Laughlin GA, Barrett-Connor E, Criqui MH, Kritz-Silverstein D. The prospective association of serum insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein-1 levels with all cause and cardiovascular disease mortality in older adults: the Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Jan;89(1):114–20.
17. Janssen JA, Uitterlinden P, Hofland LJ, Lamberts SW. Insulin-like growth factor I receptors on blood cells: their relationship to circulating total and “free” IGF-I, IGFBP-1, IGFBP-3 and insulin levels in healthy subjects. *Growth Horm IGF Res Off J Growth Horm Res Soc Int IGF Res Soc*. 1998 Feb;8(1):47–54.
18. Sesti G, Sciacqua A, Cardellini M, Marini MA, Maio R, Vatrano M, et al. Plasma concentration of IGF-I is independently associated with insulin sensitivity in subjects with different degrees of glucose tolerance. *Diabetes Care*. 2005 Jan;28(1):120–5.
19. Nyberg F. Growth hormone in the brain: characteristics of specific brain targets for the hormone and their functional significance. *Front Neuroendocrinol*. 2000 Oct;21(4):330–48.
20. Russo VC, Gluckman PD, Feldman EL, Werther GA. The insulin-like growth factor system and its pleiotropic functions in brain. *Endocr Rev*. 2005 Dec;26(7):916–43.
21. Riikonen R, Makkonen I, Vanhala R, Turpeinen U, Kuikka J, Kokki H. Cerebrospinal fluid insulin-like growth factors IGF-1 and IGF-2 in infantile autism. *Dev Med Child Neurol*. 2006 Sep;48(9):751–5.
22. Duan C. Specifying the cellular responses to IGF signals: roles of IGF-binding proteins. *J Endocrinol*. 2002 Oct;175(1):41–54.
23. Torres-Aleman I. Toward a comprehensive neurobiology of IGF-I. *Dev Neurobiol*. 2010 Apr;70(5):384–96.
24. Stenvers KL, Zimmermann EM, Gallagher M, Lund PK. Expression of insulin-like growth factor binding protein-4 and -5 mRNAs in adult rat forebrain. *J Comp Neurol*. 1994 Jan 1;339(1):91–105.
25. Beilharz EJ, Russo VC, Butler G, Baker NL, Connor B, Sirimanne ES, et al. Co-ordinated and cellular specific induction of the components of the IGF/IGFBP axis in the rat brain following hypoxic-ischemic injury. *Brain Res Mol Brain Res*. 1998 Aug 31;59(2):119–34.
26. Walter HJ, Berry M, Hill DJ, Cwyfan-Hughes S, Holly JM, Logan A. Distinct sites of insulin-like growth factor (IGF)-II expression and localization in lesioned rat brain: possible roles of IGF binding proteins (IGFBPs) in the mediation of IGF-II activity. *Endocrinology*. 1999 Jan;140(1):520–32.
27. Aleman A, Torres-Aleman I. Circulating insulin-like growth factor I and cognitive function: neuromodulation throughout the lifespan. *Prog Neurobiol*. 2009 Nov;89(3):256–65.

28. Niblock MM, Brunso-Bechtold JK, Riddle DR. Insulin-like growth factor I stimulates dendritic growth in primary somatosensory cortex. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2000 Jun 1;20(11):4165–76.
29. Gluckman PD, Guan J, Williams C, Scheepens A, Zhang R, Bennet L, et al. Asphyxial brain injury--the role of the IGF system. *Mol Cell Endocrinol*. 1998 May 25;140(1-2):95–9.
30. Bernardi F, Petraglia F, Seppala M, Spinetti A, Bertolini S, Ferdeghini M, et al. Somatotropic axis and body weight in pre-menopausal and post-menopausal women: evidence for a neuroendocrine derangement, in absence of changes of insulin-like growth factor binding protein concentrations. *Hum Reprod Oxf Engl*. 1998 Feb;13(2):279–84.
31. Nasu M, Sugimoto T, Chihara M, Hiraumi M, Kurimoto F, Chihara K. Effect of natural menopause on serum levels of IGF-I and IGF-binding proteins: relationship with bone mineral density and lipid metabolism in perimenopausal women. *Eur J Endocrinol Eur Fed Endocr Soc*. 1997 Jun;136(6):608–16.
32. Hunter MS. The Women's Health Questionnaire (WHQ): Frequently Asked Questions (FAQ). *Health Qual Life Outcomes*. 2003;1:41.
33. Tong W, Igarashi T, Ferriero DM, Noble LJ. Traumatic brain injury in the immature mouse brain: characterization of regional vulnerability. *Exp Neurol*. 2002 Jul;176(1):105–16.
34. Rubovitch V, Edut S, Sarfstein R, Werner H, Pick CG. The intricate involvement of the Insulin-like growth factor receptor signaling in mild traumatic brain injury in mice. *Neurobiol Dis*. 2010 May;38(2):299–303.
35. Al-Delaimy WK, von Muhlen D, Barrett-Connor E. Insulinlike growth factor-1, insulinlike growth factor binding protein-1, and cognitive function in older men and women. *J Am Geriatr Soc*. 2009 Aug;57(8):1441–6.
36. Latalova K, Prasko J, Diveky T, Velartova H. Cognitive impairment in bipolar disorder. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czechoslov*. 2011 Mar;155(1):19–26.
37. Ozdemir D, Baykara B, Aksu I, Kiray M, Sisman AR, Cetin F, et al. Relationship between circulating IGF-1 levels and traumatic brain injury-induced hippocampal damage and cognitive dysfunction in immature rats. *Neurosci Lett*. 2012 Jan 17;507(1):84–9.
38. Butovsky O, Koronyo-Hamaoui M, Kunis G, Ophir E, Landa G, Cohen H, et al. Glatiramer acetate fights against Alzheimer's disease by inducing dendritic-like microglia expressing insulin-like growth factor 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Aug 1;103(31):11784–9.
39. Chhor V, Le Charpentier T, Lebon S, Oré M-V, Celador IL, Josserand J, et al. Characterization of phenotype markers and neuronotoxic potential of polarised primary microglia in vitro. *Brain Behav Immun*. 2013 Aug;32:70–85.
40. Slusarczyk J, Trojan E, Glombik K, Piotrowska A, Budziszewska B, Kubera M, et al. Anti-inflammatory properties of tianeptine on lipopolysaccharide-induced changes in microglial cells involve Toll-like receptor-related pathways. *J Neurochem*. 2015 Dec 7;

41. Pang Y, Zheng B, Campbell LR, Fan L-W, Cai Z, Rhodes PG. IGF-1 can either protect against or increase LPS-induced damage in the developing rat brain. *Pediatr Res.* 2010 Jun;67(6):579–84.
42. Guan J, Bennet L, Gluckman PD, Gunn AJ. Insulin-like growth factor-1 and post-ischemic brain injury. *Prog Neurobiol.* 2003 Aug;70(6):443–62.
43. Park S-E, Dantzer R, Kelley KW, McCusker RH. Central administration of insulin-like growth factor-I decreases depressive-like behavior and brain cytokine expression in mice. *J Neuroinflammation.* 2011;8:12.
44. Khawaja X, Xu J, Liang J-J, Barrett JE. Proteomic analysis of protein changes developing in rat hippocampus after chronic antidepressant treatment: Implications for depressive disorders and future therapies. *J Neurosci Res.* 2004 Feb 15;75(4):451–60.
45. Paslakis G, Blum WF, Deuschle M. Intranasal insulin-like growth factor I (IGF-I) as a plausible future treatment of depression. *Med Hypotheses.* 2012 Aug;79(2):222–5.
46. Sievers C, Auer MK, Klotsche J, Athanasoulia AP, Schneider HJ, Nauck M, et al. IGF-I levels and depressive disorders: results from the Study of Health in Pomerania (SHIP). *Eur Neuropsychopharmacol J Eur Coll Neuropsychopharmacol.* 2014 Jun;24(6):890–6.
47. Squassina A, Costa M, Congiu D, Manchia M, Angius A, Deiana V, et al. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) expression is up-regulated in lymphoblastoid cell lines of lithium responsive bipolar disorder patients. *Pharmacol Res.* 2013 Jul;73:1–7.
48. Palomino A, González-Pinto A, Martínez-Cengotitabengoa M, Ruiz de Azua S, Alberich S, Mosquera F, et al. Relationship between negative symptoms and plasma levels of insulin-like growth factor 1 in first-episode schizophrenia and bipolar disorder patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2013 Jul 1;44:29–33.
49. Liu X, Zhang T, He S, Hong B, Chen Z, Peng D, et al. Elevated serum levels of FGF-2, NGF and IGF-1 in patients with manic episode of bipolar disorder. *Psychiatry Res.* 2014 Aug 15;218(1-2):54–60.
50. Kim Y-K, Na K-S, Hwang J-A, Yoon H-K, Lee H-J, Hahn S-W, et al. High insulin-like growth factor-1 in patients with bipolar I disorder: a trait marker? *J Affect Disord.* 2013 Nov;151(2):738–43.
51. Bezchlibnyk YB, Xu L, Wang J-F, Young LT. Decreased expression of insulin-like growth factor binding protein 2 in the prefrontal cortex of subjects with bipolar disorder and its regulation by lithium treatment. *Brain Res.* 2007 May 25;1147:213–7.
52. Hehlgans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology.* 2005 May;115(1):1–20.
53. Frystyk J. Free insulin-like growth factors -- measurements and relationships to growth hormone secretion and glucose homeostasis. *Growth Horm IGF Res Off J Growth Horm Res Soc Int IGF Res Soc.* 2004 Oct;14(5):337–75.
54. Arkins S, Dantzer R, Kelley KW. Somatolactogens, somatomedins, and immunity. *J Dairy Sci.* 1993 Aug;76(8):2437–50.

55. Sun LY, Al-Regaiey K, Masternak MM, Wang J, Bartke A. Local expression of GH and IGF-1 in the hippocampus of GH-deficient long-lived mice. *Neurobiol Aging*. 2005 Jun;26(6):929–37.
56. Shen W-H, Zhou J-H, Broussard SR, Freund GG, Dantzer R, Kelley KW. Proinflammatory cytokines block growth of breast cancer cells by impairing signals from a growth factor receptor. *Cancer Res*. 2002 Aug 15;62(16):4746–56.
57. Alvarez A, Cacabelos R, Sanpedro C, García-Fantini M, Aleixandre M. Serum TNF-alpha levels are increased and correlate negatively with free IGF-I in Alzheimer disease. *Neurobiol Aging*. 2007 Apr;28(4):533–6.
58. Del Villar K, Miller CA. Down-regulation of DENN/MADD, a TNF receptor binding protein, correlates with neuronal cell death in Alzheimer's disease brain and hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Mar 23;101(12):4210–5.
59. Grinberg YY, Dibbern ME, Levasseur VA, Kraig RP. Insulin-like growth factor-1 abrogates microglial oxidative stress and TNF- α responses to spreading depression. *J Neurochem*. 2013 Sep;126(5):662–72.
60. Cipolla MJ, Pusic AD, Grinberg YY, Chapman AC, Poynter ME, Kraig RP. Pregnant serum induces neuroinflammation and seizure activity via TNF α . *Exp Neurol*. 2012 Apr;234(2):398–404.
61. Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Teixeira AL, Magalhaes PVS, Kauer-Sant'Anna M, Klamt F, et al. Peripheral biomarkers and illness activity in bipolar disorder. *J Psychiatr Res*. 2011 Feb;45(2):156–61.
62. Frey BN, Andreazza AC, Houenou J, Jamain S, Goldstein BI, Frye MA, et al. Biomarkers in bipolar disorder: a positional paper from the International Society for Bipolar Disorders Biomarkers Task Force. *Aust N Z J Psychiatry*. 2013 Apr;47(4):321–32.
63. Bücker J, Fries GR, Kapczinski F, Post RM, Yatham LN, Vianna P, et al. Brain-derived neurotrophic factor and inflammatory markers in school-aged children with early trauma. *Acta Psychiatr Scand*. 2015 May;131(5):360–8.
64. Wyss-Coray T, Mucke L. Inflammation in neurodegenerative disease--a double-edged sword. *Neuron*. 2002 Aug 1;35(3):419–32.
65. Dávila D, Torres-Aleman I. Neuronal death by oxidative stress involves activation of FOXO3 through a two-arm pathway that activates stress kinases and attenuates insulin-like growth factor I signaling. *Mol Biol Cell*. 2008 May;19(5):2014–25.
66. Fernandez AM, Torres-Alemán I. The many faces of insulin-like peptide signalling in the brain. *Nat Rev Neurosci*. 2012 Apr;13(4):225–39.
67. Valverde AM, Benito M, Lorenzo M. The brown adipose cell: a model for understanding the molecular mechanisms of insulin resistance. *Acta Physiol Scand*. 2005 Jan;183(1):59–73.
68. Broussard SR, McCusker RH, Novakofski JE, Strle K, Shen WH, Johnson RW, et al. IL-1beta impairs insulin-like growth factor i-induced differentiation and downstream activation

- signals of the insulin-like growth factor i receptor in myoblasts. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2004 Jun 15;172(12):7713–20.
69. Grzelkowska-Kowalczyk K, Wieteska W. The impairment of IGF-I-stimulated protein synthesis and activation of protein kinase B, p70(S6k), MAP kinase, and p90(rsk) in mouse C2C12 myogenic cells exposed to high glucose and high insulin. *Pol J Vet Sci.* 2005;8(3):241–50.
 70. Lang CH, Kumar V, Liu X, Frost RA, Vary TC. IGF-I induced phosphorylation of S6K1 and 4E-BP1 in heart is impaired by acute alcohol intoxication. *Alcohol Clin Exp Res.* 2003 Mar;27(3):485–94.
 71. Pratipanawatr T, Pratipanawatr W, Rosen C, Berria R, Bajaj M, Cusi K, et al. Effect of IGF-I on FFA and glucose metabolism in control and type 2 diabetic subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002 Jun;282(6):E1360–8.
 72. Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001 May;280(5):E745–51.
 73. Bigornia SJ, Farb MG, Mott MM, Hess DT, Carmine B, Fiscale A, et al. Relation of depot-specific adipose inflammation to insulin resistance in human obesity. *Nutr Diabetes.* 2012;2:e30.