

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós - Graduação em Medicina: Clínica Médica**

Dissertação de Mestrado

**ESTUDO DA PROTEÍNA S100B EM PACIENTES
COM ESQUIZOFRENIA**

Autora: Clarissa Severino Gama

Orientador: Prof. Dr. Paulo Belmonte de Abreu

**Porto Alegre
2000**

O projeto de pesquisa que deu origem a esta Dissertação de Mestrado foi desenvolvido em caráter colaborativo entre o Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Psiquiatria e Medicina Legal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Serviço de Psiquiatria do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

O Protocolo deste estudo foi aprovado, em março de 1999 sob o número 99027, pelas Comissões Científica e de Pesquisa e Ética em Saúde, reconhecida pela CONEP como Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

“False facts are highly injurious to progress of science for they often endure long; but false views do little harm, as everyone takes a salutary pleasure in proving their falseness, and when this is done, one path toward error is closed and the road to truth is often at the same time opened.”

Charles Darwin

“Yo no hablo de venganzas, ni de perdones. El olvido es la unica venganza y el unico perdon.”

Jorge Luis Borges

“Entender o difícil não é vantagem, mas amar o que é fácil de se amar é uma grande subida na escala humana.”

Clarice Lispector

Agradecimentos

Ao meu pai, Dr. Ravardière Gama, e à minha mãe, Maria Conceição Severino Gama, por terem me dado a vida e me ensinarem a viver com amor e dignidade

Aos meus avós, Adão Oly Severino e Elocy Bernardes Severino pelo infindável carinho

Aos meus irmãos, Rafael e Rodrigo, pela compreensão e apoio para tantas conquistas

Ao Prof. Dr. Paulo Belmonte de Abreu, pela orientação nesta dissertação e por incentivar à busca de respostas

Ao Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul por tornar possível a realização deste projeto, em especial:

Dr. Diogo de Souza

Dr. Diogo Lara

Luis Portela

À equipe de trabalho do Ambulatório de Esquizofrenia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pelo apoio, estímulo e amizade

Às acadêmicas de medicina Manoela Fonseca e Simone Hauck pela ajuda imprescindível na coleta dos dados

Aos pacientes e controles pela inestimável colaboração

Ao Prof. Dr. Flávio Kapczinski e à Dra. Daniela Zippin Knijnik pela maneira solidária e muito amiga de encorajar a seguir em frente

Ao Prof. Dr. Cláudio Osório por acrescentar à citação de Eleanor Rosevelt: “O futuro pertence àqueles que acreditam na beleza de seus sonhos”, o seguinte complemento: “Mas, principalmente àqueles que não temem seus pesadelos”.

Ao Prof. Dr. Flávio Fuchs por ter aguçado, num momento bem incipiente do saber, o meu interesse pela ciência

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	7
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	9
2.1 Esquizofrenia: Diagnóstico.....	9
2.2 Esquizofrenia: Tratamento.....	13
2.3 Proteína S100B.....	14
3. OBJETIVOS.....	19
4. REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA.....	20
5. ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS.....	24
6. ARTIGO CIENTÍFICO EM PORTUGUÊS.....	43
7. ANEXOS.....	63
7.1 Escala BPRS (Brief Psychiatric Rating Scale).....	64
7.2 Consentimento Informado.....	65

INTRODUÇÃO

A esquizofrenia é uma doença mental crônica, caracterizada por distorções do pensamento, delírios bizarros, alterações na sensopercepção e respostas emocionais inadequadas, que podem levar o paciente a algum grau de deterioração. Estes sintomas ocorrem com o paciente lúcido, mas geralmente levam a uma diminuição da capacidade intelectual. Critérios diagnósticos claros baseados em características fenomenológicas são apresentados no DSM IV (APA, 1994), e são basicamente os sintomas de 1ª ordem de Schneider. Estes são alucinações auditivas de tipos específicos, como vozes repetindo ou antecipando pensamentos do pacientes, comentando os pensamentos ou condutas, discutindo a respeito do paciente na 3ª pessoa ou vozes de comando. Quanto às desordens do pensamento, estas se referem a pessoas lendo os pensamentos ou inserção do pensamento. Há ainda ações, impulsos e sentimentos expressados que parecem ser controlados.

É uma doença que atinge 1% da população e que se caracteriza por ser grave e produzir uma deterioração do funcionamento cognitivo do indivíduo. Costuma ocorrer no final da adolescência e início da vida adulta, afetando ambos os sexos igualmente. A patologia tende a interferir no desempenho escolar e profissional destes pacientes, que terão dificuldade de ingressar na universidade e até concluir os estudos, além de dificuldade de assumir posições de trabalho que exijam responsabilidade. Como resultado, o status sócio-econômico destes pacientes é reduzido.

A causa da esquizofrenia é desconhecida tendo muitas hipóteses etiológicas para tal, como fatores genéticos, epidemias virais durante a gestação, época de nascimento, traumatismos de parto, infecções perinatais, condições neurológicas ou neuropsiquiátricas que geram sintomas tipo esquizofrênicos ou desenvolvimento anormal (avaliados por testes psicológicos, estudos de neuroimagem e neuropatológicos que sugeram alterações no desenvolvimento cerebral). Estudos que permitam avançar no entendimento da psicopatologia deste subgrupo de pacientes certamente são de maior importância, na medida que proporcionarão futuras tentativas terapêuticas.

REVISÃO DA LITERATURA

1. Esquizofrenia: Diagnóstico

A esquizofrenia é difícil de ser definida ou descrita. Não existem traços patognomônicos, mas sintomas característicos que indicam uma desorganização da personalidade do paciente. A doença interfere, de uma forma geral, nos pensamentos, emoções, motivações e comportamento motor da pessoa. Os sintomas estão divididos em grandes grupos: positivos ou floridos e negativos ou defeituosos. Os primeiros são exacerbações de funções normais ou anormalidades e distorções e incluem delírios e alucinações, hiperatividade e hostilidade. Os sintomas negativos incluem discurso pobre, isolamento social, perda de vontade e motivação e embotamento emocional. O primeiro grupo tende a ser mais tratável com terapia medicamentosa, enquanto os sintomas negativos aparentemente tardios são mais difíceis de serem tratados, tendendo a persistir, indo em direção a cronicidade e dificultando a reabilitação.

Tabela 1. Critérios diagnósticos para esquizofrenia pelo DSM-IV

A. *Sintomas característicos*: Dois (ou mais) dos seguintes, cada qual presente por uma porção significativa de tempo durante o período de 1 mês (ou menos, se tratados com sucesso):

(1) Delírios

(2) Alucinações

(3) Discurso desorganizado (por ex., freqüente descarrilhamento ou incoerência)

(4) Comportamento amplamente desorganizado ou catatônico

(5) Sintomas negativos, isto é, embotamento afetivo, alogia ou avolição

Nota: Apenas um sintoma do Critério A é necessário se os delírios são bizarros ou as alucinações consistem de vozes que comentam o comportamento ou os pensamentos da pessoa, ou duas ou mais vozes conversando entre si.

B. *Disfunção social/ocupacional*: Por uma porção significativa de tempo desde o início da perturbação, uma ou mais áreas importantes do funcionamento, tais como trabalho, relações interpessoais ou cuidados pessoais, estão acentuadamente abaixo do nível alcançado antes do início (ou, quando o início dá-se na infância ou adolescência, fracasso em atingir o nível esperado de aquisição interpessoal, acadêmica ou ocupacional).

C. *Duração*: Sinais contínuos da perturbação persistem por pelo menos 6 meses. Este período de 6 meses deve incluir pelo menos 1 mês de sintomas (ou menos, se tratados com sucesso) que satisfazem o critério A (isto é, sintomas da fase ativa) e pode incluir períodos de sintomas prodrômicos ou residuais. Durante esses períodos prodrômicos ou residuais, os sinais de perturbação podem ser manifestados apenas por sintomas negativos ou por dois ou mais sintomas relacionados no Critério A presentes de uma forma atenuada (por ex., crenças estranhas, experiências perceptuais incomuns).

D. *Exclusão de Transtorno Esquizoafetivo e Transtorno do Humor:* O Transtorno Esquizoafetivo e o Transtorno do Humor com aspectos psicóticos foram descartados, porque (1) nenhum Episódio Depressivo Maior, Maníaco ou Misto ocorreu concomitantemente aos sintomas da fase ativa; ou (2) se os episódios de humor ocorreram durante os sintomas da fase ativa, sua duração total foi breve relativamente à duração dos períodos ativo e residual.

E. *Exclusão de substância/condição médica geral:* A perturbação não se deve aos efeitos fisiológicos diretos de uma substância (por ex., uma droga de abuso, um medicamento) ou a uma condição médica geral.

F. *Relação com um Transtorno Invasivo do Desenvolvimento:* Se existe uma história de Transtorno Autista ou um outro Transtorno Invasivo do Desenvolvimento, o diagnóstico adicional de Esquizofrenia é feito apenas se os delírios ou alucinações proeminentes também estão presentes por pelo menos 1 mês (ou menos, se tratados com sucesso).

Classificação do curso longitudinal (pode ser aplicada apenas 1 mês após o aparecimento inicial dos sintomas da fase ativa):

Episódico Com Sintomas Residuais Entre Episódios (episódios são definidos pelo ressurgimento de sintomas psicóticos proeminentes);
especificar também se:

Com Sintomas Negativos Proeminentes

Episódico Sem Sintomas Residuais Entre Episódios

Contínuo (sintomas psicóticos proeminentes estão presentes durante todo o período de observação); especificar também se: **Com Sintomas**

Negativos Proeminentes

Episódio Único em Remissão Parcial; especificar também se: **Com Sintomas Negativos Proeminentes**

Episódio Único em Remissão Completa

Outro Padrão ou Padrão Inespecífico

2. Esquizofrenia: Tratamento

No momento, não é possível prevenir a esquizofrenia. Dessa forma, o foco comum é o seu tratamento e a reabilitação do paciente. A farmacoterapia tem provado ser o ponto chave na terapêutica da esquizofrenia. Embora não curativas, as drogas antipsicóticas (i.e. Neurolépticas) se estabeleceram como o tratamento primário para todos os estágios da doença. Possibilitam uma redução no tempo de hospitalização e a possibilidade de manutenção dos pacientes por mais tempo em seus lares. As drogas antipsicóticas clássicas têm sido classificadas como alta, média e baixa potência. Quando usadas em doses aproximadamente equípotentes, todas as classes antipsicóticas parecem ter a mesma eficácia. A escolha da droga é feita, então, levando em consideração quais os efeitos adversos serão menos prejudiciais a determinado paciente. Durante um ataque agudo de esquizofrenia, o objetivo do tratamento é controlar os sintomas psicóticos positivos. Para a maioria dos pacientes que respondem rapidamente aos antipsicóticos a melhora é observada em duas semanas com o incremento ocorrendo em três ou quatro semanas, dependendo da dose. Incremento adicional é visto dentro de alguns meses. É do conhecimento geral que os efeitos terapêuticos dos antipsicóticos são mais pronunciados nos sintomas agudos, positivos do que nos sintomas crônicos, negativos da esquizofrenia. O tratamento de manutenção se refere ao tratamento dos pacientes por longo prazo, visando manter os ganhos obtidos durante o tratamento agudo e a prevenção de possíveis exacerbações da psicose e/ou readmissão hospitalar.

3. Proteína S100B

A S100B é uma proteína ligadora de cálcio primeiramente descrita por Moore (1965), encontrada nos tecidos de vertebrados na forma de dímeros de subunidades alfa e beta. As isoformas conhecidas são S100B ($\beta\beta$), S100A1($\alpha\beta$) e S100A0($\alpha\alpha$).

A isoforma S100B está presente em altas concentrações no Sistema Nervoso Central, onde constitui 95% da família S100, localizando-se principalmente em astrócitos e células de Schwann, mas pode ser detectada em outras células como melanócitos, adipócitos e células epidermais de Langerhans.

A S100B é uma proteína com peso molecular de 21kDa, produzida e liberada pelos astrócitos, sendo o membro da família das proteínas S100 mais presente no cérebro (Donato, 1999). Devido a sua ação trófica em neurônios e astrócitos, a S100B tem um papel no desenvolvimento e manutenção do sistema nervoso (Marshak et al., 1990; Gonçalves et al., 2000). Entretanto, um nível aumentado de S100B no líquido céfalo-raquidiano ou no soro tem sido usado como um marcador sensível de lesão cerebral (Ingebrigtsen et al., 1999) e seus níveis elevados poderiam indicar ativação ou morte de astrócitos ou uma disfunção na barreira hemato-encefálica.

Trabalhos anteriores demonstraram diferenças de concentração da proteína S100B relacionadas ao sexo e a idade em líquido de pacientes sem história de doença neurológica (Nygaard et al, 1997), com maiores níveis em homens (1,9

$\mu\text{g/L}$) do que em mulheres ($1,5 \mu\text{g/L}$) e aumentando conforme a idade. No entanto, outro estudo feito por Wiesmann et al em 1998 determinou os valores em plasma e soro de pacientes hígidos, demonstrando que 97% apresentam valores menores que $0,12 \mu\text{g/L}$, não havendo relação entre sexo e idade em pacientes adultos. Beaudry et al. (1999), estudando o líquido de pacientes com Creutzfeldt-Jacob, não encontrou diferença dos níveis de S100B entre homens e mulheres.

Um dos autores do Projeto (Portela et al., 1998a,b) padronizou um ensaio imunoluminométrico para detecção da S100B com alta sensibilidade ($0,02 \mu\text{g/L}$) e especificidade, que foi capaz de detectar a proteína em diferentes áreas de tecido cerebral, em líquido e soro de ratos. O mesmo também estudou esta proteína em plasma e líquido de pacientes com morte encefálica (Tort, 1998) e em pacientes com encefalopatia associada ao HTLV-1 (Walz, 2000), sendo encontradas elevações significativas em ambos os estudos.

Níveis séricos elevados de S100B em pacientes que sofreram danos cerebrais leves já foram relatados. Waterloo et al. (1997) avaliou pacientes com níveis de S100B elevado em comparação com controles sem níveis detectáveis da proteína. Foram realizadas medidas neuropsicológicas, não demonstrando disfunção cognitiva em nenhum dos grupos. Demonstrou-se disfunção específica com relação às medidas de tempo de reação, atenção e velocidade de processamento de informação nos pacientes com S100B elevada. Este autor concluiu que níveis séricos elevados da S100B pode ser um fator prognóstico e preditivo para disfunção cognitiva duradoura em pacientes que

sofreram dano cerebral leve e que a presença de S100B no plasma pode indicar a presença de lesão cerebral difusa. Segundo Martens et al. (1998), a S100B pode ser um marcador sérico de lesão em células cerebrais útil para avaliação clínica.

Whitaker-Azmitia et al. (1997) demonstrou em ratos transgênicos, com superexpressão de S100B, significativa perda de dendritos e aumento de coloração no corpo do axônio com um ano de idade. Estes animais não tinham boa performance nas tarefas em comparação aos ratos controles, sugerindo que o aumento de S100B no cérebro provoque uma aceleração do desenvolvimento, seguida de envelhecimento acelerado.

Entre outras funções conhecidas da proteína S100B no Sistema Nervoso Central é importante salientar sua ação neurotrófica e gliotrófica, onde é sintetizada e secretada por astrócitos (Zimmer et al., 1995). Pacientes acometidos por doenças neurodegenerativas como Alzheimer, Síndrome de Down e Demência Fronto-temporal apresentam reação glial, acompanhada de um aumento da expressão de S100B no líquido e soro (Jankovic et al., 1991; Azmitia et al., 1992; Zimmer et al., 1995; Sheng et al., 1996; Green, 1997). Em estudo de cérebro de pacientes com diagnóstico de Alzheimer (Van-Eldik et al., 1994) foi evidenciado que os maiores níveis de S100B estavam no lobo temporal e hipocampo, seguidos, pelo lobo frontal e amígdalas, não havendo elevação de S100B no lobo occipital e no cerebelo destes pacientes. Stanley et al. (1994) demonstrou astrogliose e aumento da expressão de S100B em cérebros de pacientes infectados com HIV. Achados da diminuição da expressão de

S100B foram encontrados com a exposição pré-natal à cocaína em ratos (Clarke et al, 1996; Akbari et al, 1994).

Em pacientes que sofreram hemorragia subaracnóide por aneurisma foi demonstrado que a análise de S100B no líquido ventricular durante a fase aguda está relacionada ao desfecho funcional e a sinais de dano cerebrais vistos em exames tardios de TC e SPECT, aqueles com níveis mais elevados de S100B nos primeiros dias tiveram pior prognóstico (Hardemark et al., 1989).

A esquizofrenia tem sido crescentemente considerada como uma doença de origem neurodesenvolvimental, não só por causa de achados anatomopatológicos que apoiam esta hipótese, mas também pela falta de sinais de neurodegeneração, como astrogliose, em estudos de neuropatologia (Raedler et al., 1998). Porém, uma vez que a esquizofrenia provavelmente envolve uma etiologia multifatorial, a dicotomia neurodesenvolvimento/neurodegeneração pode não ser apropriada. Além disso, como assinalado por Lieberman (1999), vários achados de neuroimagem e de necrópsia, junto com a deterioração comportamental e cognitiva observada em pacientes esquizofrênicos, poderiam refletir um processo neurodegenerativo limitado, mas significativo, provavelmente mais ativo na fase inicial (5-10 anos) da doença. Um estudo (Jimi et al., 1992) comparando os níveis de S100B no líquido de pacientes com Creutzfeldt-Jacob (CJD), demonstrou que estes são muito elevados nos pacientes com CJD já em estágios iniciais, sem a doença estar manifestada clinicamente, em comparação com controles normais e pacientes com outras doenças

neurológicas. Os níveis aumentam até um máximo quando a atividade da doença é mais proeminente, e retornam ao normal ou ficam levemente elevados no estágio mais terminal da doença.

Recentemente, dois trabalhos independentes mostraram mudanças nos níveis séricos de S100B em pacientes esquizofrênicos sob uso de medicação. Enquanto Wiesmann et al. (1999) achou níveis elevados, Gattaz et al. (2000) achou uma diminuição na média dos níveis séricos de S100B em pacientes esquizofrênicos.

Levando em consideração a hipótese neurodesenvolvimental e a neurodegenerativa na etiologia da esquizofrenia e considerando que a S100B tem sido estudada como um marcador de lesão cerebral, sua determinação pode ser útil no entendimento da fisiopatologia da esquizofrenia e no acompanhamento de pacientes portadores desta doença.

Com base nestes dois resultados contraditórios, ambos derivados de pacientes tratados, nós medimos os níveis séricos de S100B em pacientes esquizofrênicos sem uso de medicamento e em controles pareados para sexo e idade.

OBJETIVOS

1. Objetivo Geral

O objetivo deste estudo é verificar se pacientes com diagnóstico de esquizofrenia apresentam alteração nos níveis séricos de S100B quando comparados com um grupo controle de voluntários saudáveis, utilizando uma técnica de alta sensibilidade para esta proteína.

2. Objetivo específico

Determinar os níveis de S100B sérico em pacientes esquizofrênicos e em controles saudáveis.

REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA

1. AKBARI, H.M.; WHITAKER-AZMITIA, P.M.; AZMITIA, E.C. Prenatal cocaine decreases the trophic factor S-100 beta and induced microcephaly: reversal by postnatal 5-HT1A receptor agonist. *Neurosci Lett*, 1994; Mar 28;170(1):141-4.
2. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth Edition. Washington, DC, 1994.
3. AZMITIA, E.C.; GRIFFIN, S.T.; MARSHAK, D.R.; VAN ELDIK, L.J.; WHITAKER-AZMITIA, P.M. S100B and serotonin: a possible astrocytic-neuronal link to neuropathology of Alzheimer's disease. *Prog Brain Res*, 1992; 94:459-473.
4. BEAUDRY, P.; COHEN, P.; BRANDEL, J.P.; DELASNERIE-LAUPRETRE, N.; RICHARD, S.; LAUNAY, J.M.; LAPLANCHE, J.L. 14-3-3 protein, neuron-specific enolase, and S-100 protein in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Dement-Geriatr-Cogn-Disord.*, 1999; 10(1): 40-6.
5. CLASSIFICAÇÃO DE TRANSTORNOS MENTAIS E DE COMPORTAMENTO DA CID –10. Organização Mundial de Saúde - Editora Artes Médicas Sul, 1992.
6. CLARKE, C.; CLARKE, K.; MUNEYYIRCI, J.; AZMITIA, E.; WHITAKER-AZMITIA, P.M. Prenatal cocaine delays astroglial maturation: immunodensitometry shows increased markers of immaturity (vimentin and GAP-43) and decreased proliferation and production of the growth factor S-100. *Brain Res Dev Brain Res*, 1996; Feb 26;91(2):268-73.
7. DONATO, R. Functional roles of S100 proteins, calcium-binding proteins of the EF-hand type. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1999; 1450:191-231.
8. FAGNART, O.C.; SINDIC, C.J.; LATERRE, C. Particle counting immunoassay of S100 protein in serum. Possible relevance in tumors and ischemic disorders of the central nervous system. *Clin Chem*, 1988; 34(7): 1387-1391.
9. GATTAZ, W.F.; LARA, D.R.; ELKIS, H.; PORTELA, L.V.; GONÇALVES, C.A.; TORT, A.B.; HENNA, J.; SOUZA, D.O. Decreased S100B protein in schizophrenia: preliminary evidence. *Schizophrenia Research*, 2000; 43:91-95.
10. GONÇALVES, D.S.; LENZ, G.; KARL, J.D.; GONÇALVES, C.A.; RODNIGHT, R. Extracellular S100B Protein Modulates ERK in Astrocyte Cultures. *NeuroReport*, 2000; 11: 807-809.

11. GREEN, A.J.; HARVEY, R.J.; THOMPSON, E.J.; ROSSOR, M.N. Increased S100beta in the cerebrospinal fluid of patients with frontotemporal dementia. *Neurosci Lett*, 1997; 10;235(1-2):5-8.
12. HARDEMARK, H.G.; ALMQVIST, O.; JOHANSSON, T.; PAHLMAN, S.; PERSSON, L. S-100 protein in cerebrospinal fluid after aneurysmal subarachnoid haemorrhage: relation to functional outcome, late CT and SPECT changes, and signs of higher cortical dysfunction. *Acta-Neurochir-Wien*, 1989; 99(3-4): 135-44.
13. INGEBRIGTSEN, T.; WATERLOO, K.; JACOBSEN, E.A.; LANGBAKK, B.; ROMNER, B. Traumatic brain damage in minor head injury: relation of serum S-100 protein measurements to magnetic resonance imaging and neurobehavioral outcome. *Neurosurgery*, 1999; 45: 468-475.
14. JANKOVIC, B.D.; DJORDJICEVIC, D. Differential appearance of autoantibodies to human brain S100 protein, neuron specific enolase and myelin basic protein in psychiatric patients. *Int-J-Neurosci.*, 1991; 60(1-2): 119-27.
15. JIMI, T.; WAKAYAMA, Y.; SHIBUYA, S.; NAKATA, H.; TOMARU, T.; TAKAHASHI, Y.; KOSAKA, K.; ASANO, T.; KATO, K. High levels of nervous system-specific proteins in cerebrospinal fluid in patients with early stage Creutzfeldt-Jakob disease. *Clin-Chim-Acta.*, 1992; 211(1-2): 37-46.
16. LIEBERMAN, J.A. Pathophysiologic mechanisms in the pathogenesis and clinical course of schizophrenia. *Journal of Clinical Psychiatry*, 1999; 60: S9-S12.
17. MARSHAK, D.R. S100 beta as a neurotrophic factor. *Prog Brain Res*, 1990; 86: 169-181.
18. MARTENS, P.; RAABE, A.; JOHNSON, P. Serum S-100 and neuron-specific enolase for prediction of regaining consciousness after global cerebral ischemia. *Stroke*, 1998; 29(11): 2363-6.
19. MOORE, B.W. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1965; 19(6): 739-744.
20. NYGAARD, O.; BODIL, L.; ROMNER, B. Age- and sex-related changes of S-100 protein concentrations in cerebrospinal fluid and serum in patients with no previous history of neurological disorder. *Clin Chem*, 1997; 43(3):541-543.
21. PORTELA, L.V.; ZIEGLER, D.R.; TORT, A.; NETO, E.; SOUZA, D.O.; RODNIGHT, R.; GONÇALVES, C.A. S100B inhibits *in vitro* GFAP phosphorylation. Abstract P63. Fifth European Symposium on Calcium Binding Proteins in Normal and Transformed Cells, 1998.

22. PORTELA, L.V.; TORT, A.B.L.; NETO, E.C.; SOUZA, D.O.; GONÇALVES, C.A. Detection of S-100b protein in CSF, brain and serum of rats using a sensitive luminescence assay. Abstract. XXVII^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 1998.
23. RAEDLER, T.J.; KNABLE, M.B.; WEINBERGER, D.R. Schizophrenia as a developmental disorder of the cerebral cortex. *Current Opinion in Neurobiology*, 1998; 8: 157-161.
24. SHENG, J.G.; MRAK, R.E.; ROVNAGHI, C.R.; KOZLOWSKA, E.; VAN ELDIK, L.J.; GRIFFIN, W.S. Human brain S100 beta and S100 beta mRNA expression increases with age: pathogenic implications for Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 1996; May-Jun;17(3):359-63.
25. STANLEY, L.C.; MRAK, R.E.; WOODY, R.C.; PERROT L.J.; ZHANG, S.; MARSHAK, D.R.; NELSON, S.J.; GRIFFIN, W.S. Glial cytokines as neuropathogenic factors in HIV infection: pathogenic similarities to Alzheimer's disease. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1994; 53(3):231-238.
26. TORT, A.B.L.; PORTELA, L.V.; NETO, E.C.; REGNER, A.; CHEMALE, I.; FRIEDMAN, G.; KAUFMAN, M.; GONÇALVES, C.A.; SOUZA, D.O. Mensuração da proteína S-100B em líquido e plasma de pacientes com diagnóstico de morte encefálica. Abstract. 18^a Semana Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 1998.
27. VAN-ELDIK, L.J.; GRIFFIN, W.S. S100 beta expression in Alzheimer's disease: relation to neuropathology in brain regions. *Biochim-Biophys-Acta.*, 1994; 1223(3): 398-403.
28. WALZ, R.; PORTELA, L.V.; TORT, A.B.; NETO, E.C.; FERNANDES, L.N.; GONCALVES, C.A.; SOUZA, D.O. Serum S100B levels in patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Neurology*, 2000; 54(10):2021-2.
29. WATERLOO, K.; INGEBRIGTSEN, T.; ROMNER, B. Neuropsychological function in patients with increased serum levels of protein S-100 after minor head injury. *Acta-Neurochir-Wien.*, 1997; 139(1): 26-31; discussion 31-2.
30. WHITAKER-AZMITIA, P.M.; WINGATE, M.; BORELLA, A.; GERLAI, R.; RODER, J.; AZMITIA, E.C. Transgenic mice overexpressing the neurotrophic factor S-100 beta show neuronal, cytoskeletal and behavioral signs of altered aging processes: implications for Alzheimer's disease and Down's syndrome. *Brain-Res.*, 1997; 776(1-2): 51-60.
31. WIESMANN, M.; MISSLER, U.; GOTTMANN, D.; GEHRING, S. Plasma S-100B protein concentration in healthy adults is age- and sex-independent. *Clin Chem*, 1998; 44(5):1056-1057.

32. WIESMANN, M.; WANDINGER, K.P.; MISSLER, U.; ECKHOFF, D.; ROTHERMUNDT, M.; AROLT, V.; KIRCHNER, H. Elevated plasma levels of S-100b protein in schizophrenic patients. *Biological Psychiatry* 1999; 45: 1508-1511.
33. ZIMMER, D.B.; CORNWALL, E.H.; LANDAR, A.; SONG, W. The S100 protein family: history, function, and expression. *Brain Res Bull*, 1995; 37(4)417-429.

ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS

Increased serum S100B protein in schizophrenia: A study in medication-free patients

Gama CS¹, Lara DR^{1,2}, Souza DO^{2*}, Portela LVC^{2,3}, Gonçalves CA², Fonseca M¹, Hauck S¹, Belmonte-de-Abreu P¹

1. Department of Psychiatry, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Ramiro Barcelos, 2350, Porto Alegre, RS, 90035-003, Brazil

2. Department of Biochemistry, Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Ramiro Barcelos, 2600 (Anexo), Porto Alegre, RS, 90035-003, Brazil

3. Public Laboratory of Novo Hamburgo, Brazil

Corresponding Author

Diogo O. Souza
Departamento de Bioquímica – ICBS, UFRGS
Rua Ramiro Barcelos, 2600 – Anexo
Porto Alegre – RS – Brazil
90035-003
E-mail: diogo@vortex.ufrgs.br

Abstract

S100B protein is a calcium binding protein produced and released by glial cells, which has been used as a sensitive marker of brain damage. Previous studies found alterations in peripheral S100B levels in schizophrenic patients on medication. We compared serum S100B levels of 20 medication-free DSM-IV schizophrenic patients and 20 age-gender matched healthy controls and found an increase in schizophrenics (mean 0.120 $\mu\text{g/L} \pm \text{SD } 0.140$) compared to controls (mean 0.066 $\mu\text{g/L} \pm \text{SD } 0.067$; $p = 0.014$) and a negative correlation with illness duration ($r = -0.496$, $p = 0.031$). The results of this study indicate that serum S100B levels may be a state marker, particularly in the early course of schizophrenia or, at least, in a subgroup of schizophrenic patients, possibly reflecting a limited neurodegenerative process.

Key words: Schizophrenia, S100B protein, Neurodegeneration, Glia

Introduction

Schizophrenia has been increasingly regarded as a disease of neurodevelopmental origin, not only because of its supporting findings but also because neuropathological studies have not found marked signs of neurodegeneration, such as reactive astrogliosis (Raedler et al., 1998). However, since schizophrenia probably involves a multifactorial etiopathology, the dichotomy neurodevelopment/neurodegeneration may not be appropriate. Furthermore, as pointed out by Lieberman (1999), several neuroimaging and postmortem findings, along with the behavioral and cognitive deterioration observed in schizophrenic patients, could reflect a limited, but significant neurodegenerative process, probably most active in the early stages (5-10 years) of the disease.

S100B, a 21kDa calcium binding protein mainly produced and released by astrocytes, the most abundant member of the S100 family in the brain (Donato, 1999). Due to its trophic actions on neurons and astrocytes, S100B has been implicated in the development and maintenance of the nervous system (Marshak et al., 1990; Gonçalves et al., 2000). However, an increased level of CSF or serum S100B has been used as a sensitive marker of brain damage (Green et al., 1997; Ingebrigtsen et al., 1999) and its elevated levels could indicate astrocyte activation or death or blood-brain-barrier dysfunction.

Recently, two independent works showed changes in peripheral S100B levels in schizophrenic patients on medication. Whereas Wiesmann et al. (1999) found

elevated levels, Gattaz et al. (2000) found a mean decrease in schizophrenic patients, although two out of 23 patients had clearly increased levels compared to all controls. Given these conflicting results, both derived from treated patients, we measured serum S100B levels in medication-free patients and in age/gender-matched controls.

Material and Methods

Twenty schizophrenic outpatients free from medication (including benzodiazepines, alcohol and other drugs of abuse) for at least one week (13 M and 7 F, mean age 31 ± 8 years) and 20 age (± 3 years) and gender healthy controls (age 31 ± 9 years) were enrolled in this study protocol, which was approved by the Ethical committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre. The drug-free interval was assessed by patients' and relatives' report. Patients had to fulfill DSM-IV criteria for schizophrenia and had their psychopathological state measured with Positive and Negative Scale for Schizophrenia (PANSS)¹⁴ by a trained psychiatrist. Major clinical and psychiatric disorders were excluded based on history taking, chart review, physical examination and body temperature, C-reactive protein and a complete blood count in all patients and healthy control subjects. Patients were recruited from the Schizophrenia Program of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), RS and controls were mostly from the hospital staff. Fourteen patients had been just admitted to the Psychiatric Unit and six were kept in outpatient care, and all patients and relatives were advised about the procedure and signed the informed consent to participate in the study. None patient was taking depot medication before the drug-free interval. Each subject had 10 ml blood samples collected by venipuncture without anticoagulants and serum was obtained by centrifugation at 3,000xg for 5 minutes and kept frozen at -70°C for no more than 3 months, until the assay.

S100B protein concentrations from 100 µl of serum were measured using a highly specific and sensitive (detection limit of 0.02 µg/l) immunoluminometric assay (LIA-mat® Sangtec®100 - Sangtec Medical, Bromma, Sweden)⁹. Luminescence was measured in a Lumat LB 9507 luminometer (EG&G Berthold) after an automatic injection of 300 µl alkaline peroxide solution and 300 µl of catalyst solution into the test tubes. The S100B standard curve was linear within 0.02-20 µg/l concentrations and variation of duplicate values were within 5%.

Statistical Analysis

Analysis was performed by Statistical Product and Service Solutions 8.0 Version (SPSS), with the use of Wilcoxon test for non-parametric comparison and the Spearman-rank correlation coefficient for study of correlation of illness duration, time of medication-free, and PANSS scores with S100B levels.

Results

The data items included in statistical analysis are shown in Table 1. Psychopathological scores were 107 (± 29) for total, 24 (± 9) for positive and 29 (± 7) for negative symptoms in the PANSS. Mean serum S100B concentrations were significantly higher (Mean \pm SD, $p = 0.014$) in schizophrenic patients ($0.120 \pm 0.140 \mu\text{g/L}$) than in controls ($0.066 \mu\text{g/L} \pm 0.067$). Median serum S100B concentrations are shown in Figure 1.

Serum S100B levels failed to show correlation with BPRS scores ($r = -0.151$, $p = 0.562$) and PANSS total ($r = 0.047$, $p = 0.859$), positive ($r = 0.127$, $p = 0.628$) and negative ($r = 0.014$, $p = 0.959$) scores. There was a trend of association among serum S100B levels and medication-free time ($r = 0.427$, $p = 0.068$) and a negative correlation with illness duration ($r = -0.496$, $p = 0.031$). This negative correlation is shown in Figure 2, where S100B values from the respective age-gender matched control were subtracted from the values from schizophrenic patients, evidencing that patients within an earlier phase of the disease mostly accounted for the observed difference. Two further analyses were performed, first excluding a putative outlier (\blacklozenge , see Figure 1), second excluding two patients without medication for less than two weeks. The first analysis evidenced a weak negative correlation trend between S100B levels and illness duration ($r = -0.407$, $p = 0.094$) and no correlation among S100B levels and medication-free period ($r = 0.374$, $p = 0.127$). The second analysis evidenced no correlation between S100B levels and illness duration ($r = -0.4493$, $p = 0.094$) and no correlation among S100B levels and medication-free period ($r =$

0.4436, $p = 0.075$). The comparison between groups without the outlier and its respective control and without the two patients free from medication for less than two weeks and their respective controls remained statistically significant ($p=0.024$ and $p= 0.026$ respectively).

Discussion

The present findings in medication-free patients are in line with the evidence of increased S100B levels in schizophrenic patients on medication found by Wiesmann et al. (1999). However, these results are in contrast with the results from Gattaz et al. (2000). Wiesmann et al. analysed medicated inpatients (drugs not specified), whereas the sample from Gattaz et al. (2000) were outpatients, mostly on clozapine (16/23 patients), probably overweighting the contribution of refractory patients. Our sample consisted mainly of patients without pharmacological treatment and with exacerbation of symptoms, as evidenced by the high psychopathological scores. However, we found no correlation with symptom severity. It should also be pointed out that illness duration in the sample from Gattaz et al. was 17 ± 7 years, whereas in Wiesmann et al. was 8 ± 5 years, comparable to our sample (9 ± 7 years). This difference may be relevant considering the apparent negative correlation between S100B levels and illness duration, i.e., the more recent the onset of schizophrenic symptoms, the higher the S100B levels, which suggests this protein may be a state rather than a trait marker. However, this negative correlation should be cautiously interpreted, since the analysis was non-significant ($p=0.094$) when excluding the outlier, who was the only treatment-naïve patient, with recent symptom onset. This finding seems to corroborate the hypothesis of a progressive degenerative component in the early phase of the disease (Lieberman, 1999), which derived from the observations that illness progression render patients less responsive to treatment and that poorer outcome patients have an increase in ventricular volume over time (Lieberman et al., 1996; Gur et al., 1998).

These results also have other pathophysiologic implications. Once regarded as only exerting a structural role for neurons, glial cells are now recognized as functionally crucial. Astrocytes, the most abundant of the glial cells, are intimately interrelated with neurons, regulate the uptake and metabolism of neurotransmitters and ions, as well as the production of cytokines and growth factors (Vesce et al., 1999). These actions confer key roles to astrocytes in CNS development (neuronal migration and guiding), maintenance and restructuring after cerebral insult of several types. As recently pointed out (Lara and Souza, 2000; Coyle and Schwarcz, 2000), given their functions in the CNS, astrocytes deserve to be more intensely studied in psychiatry. S100B determination is a functional, rather than structural means for this approach, as increased CSF and serum S100B probably reflect glial activation and have been used as a marker of brain injury in several chronic (e.g. dementia) (Griffin et al., 1989) and acute clinical situations (e.g. brain injury, stroke) (Ingebrigtsen et al., 1999). Also, it is noteworthy that serum S100B levels have been suggested to be a more sensitive marker than magnetic resonance imaging (MRI) in certain cases of brain damage (Ingebrigtsen et al., 1999), yet reflecting ongoing rather than former brain distress. Therefore, if schizophrenia is associated with a limited neurodegenerative process affecting cell function and brain plasticity without major structural scarring, it would be more likely to find S100B elevations in patients during an early phase of the disease, but not in later phases. Interestingly, levels of neuron-specific enolase (NSE), a peripheral marker of brain damage derived from and specific for neuronal damage have not been found elevated in schizophrenia (Egan et al., 1992), suggesting that glial activity may be particularly affected at least in a subgroup of patients. Moreover,

although the serum content of S100B protein is interpreted as a peripheral marker of brain damage, the contribution of its extracellular trophic (Marshak, 1990) and apoptotic (Hu et al., 1997) effects in the pathophysiology of schizophrenia cannot be excluded at this time.

The increase in serum S100B levels could also be related to an increase in the blood-brain barrier permeability associated to schizophrenic disease (Axelsson et al., 1982), despite normal levels in the brain. However, an increased CSF S100B concentration has been reported in a schizophrenic patient (Green et al., 1997), suggesting that serum levels are reflecting central alterations in these patients. Nevertheless, serum S100B may reflect peripheral alterations observed in schizophrenia (Horrobin, 1996).

In summary, the present findings show elevated serum S100B levels in medication-free schizophrenic patients, not correlated to symptom severity. This increase seems to be particularly evident in the early course of the disease (<10 years), supporting the notion of a subtle and limited neurodegenerative process resulting in functional and plastic neural impairment, at least in a subgroup of schizophrenic patients.

Acknowledgement: This study was supported by grants from CNPq, PRONEX (#41960904), FINEP and FIPE-HCPA (#990025).

References

1. Axelsson R, Martensson E, Alling C. Impairment of the blood-brain barrier as an aetiological factor in paranoid psychosis. *British Journal of Psychiatry* 1982; 141: 273-281.
2. Coyle JT, Schwarcz R. Mind glue: implications of glial cell biology for psychiatry. *Archives of General Psychiatry*. 2000 Jan;57(1):90-3.
3. Donato R. Functional roles of S100 proteins, calcium-binding proteins of the EF-hand type. *Biochimica et Biophysica Acta* 1999; 1450:191-231.
4. Durst R, Teitelbaum A, Katz G, Knobler HY Withdrawal from clozapine: the "rebound phenomenon". *Isr J Psychiatry Relat Sci* 1999; 36:122-128.
5. Egan MF, el-Mallakh RS, Suddath RL, Lohr JB, Bracha HS, Wyatt RJ. Cerebrospinal fluid and serum levels of neuron-specific enolase in patients with schizophrenia. *Journal of Psychiatry Research* 1992; 43: 187-195.
6. Gattaz WF, Lara DR, Elkis H, Portela LV, Gonçalves CA, Tort AB, Henna J, Souza DO. Decreased S100B protein in schizophrenia: preliminary evidence. *Schizophrenia Research* 2000; 43:91-95.
7. Gonçalves DS, Lenz G, Karl JD, Gonçalves CA, Rodnight R. Extracellular S100B Protein Modulates ERK in Astrocyte Cultures. *NeuroReport* 2000; 11: 807-809
8. Green AJE, Keir G, Thompson EJ. A specific and sensitive ELISA for measuring S-100b in cerebrospinal fluid. *Journal of Immunological Methods* 1997; 205:35-41.
9. Griffin WS, Stanley EC, Ling C, White L, MacLeod V, Perrot LJ, White CL , Araoz C. Brain interleukin 1 and S-100 immunoreactivity are elevated in

- Down syndrome and Alzheimer disease. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 1989; 86: 7611-7619.
10. Gur RE, Cowell P, Turetsky BI, Gallacher F, Cannon T, Bilker W, Gur RC. A follow-up magnetic resonance imaging study of schizophrenia. Relationship of neuroanatomical changes to clinical and neurobehavioral measures. *Archives in General Psychiatry* 1998; 55: 145-152.
 11. Horrobin DF. Schizophrenia as a membrane lipid disorder which is expressed throughout the body. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 1996; 55:3-7.
 12. Hu J, Ferreira A, Van Eldik L. S100beta induces neuronal cell death through nitric oxide release from astrocytes. *Journal of Neurochemistry* 1997; 69: 2294-2301.
 13. Ingebrigtsen T, Waterloo K, Jacobsen EA, Langbakk B, Romner B. Traumatic brain damage in minor head injury: relation of serum S-100 protein measurements to magnetic resonance imaging and neurobehavioral outcome. *Neurosurgery* 1999; 45: 468-475.
 14. Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 1987; 13: 261-276.
 15. Lara DR and Souza DO. Schizophrenia: a purinergic hypothesis. *Med Hypotheses* 2000; 54: 157-166.
 16. Leenders KL, Antonini A, Schwarzbach R, Smith-Jones P, Reist H, Ben-Shachar D, Youdim M, Henn V. Blood to brain iron uptake in one rhesus monkey using [Fe-52]-citrate and positron emission tomography (PET): influence of haloperidol. *Journal of Neural Transmission Suppl* 1994; 43:123-132

17. Lieberman JA. Pathophysiologic mechanisms in the pathogenesis and clinical course of schizophrenia. *Journal of Clinical Psychiatry* 1999; 60: S9-S12.
18. Lieberman JA, Alvir JM, Koreen A, Geisler S, Chakos M, Sheitman B, Woerner M. Psychobiologic correlates of treatment response in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 1996; 14: 13S-21S.
19. Marshak DR. S100 beta as a neurotrophic factor. *Prog Brain Res* 1990; 86: 169-181.
20. Raedler TJ, Knable MB, Weinberger DR. Schizophrenia as a developmental disorder of the cerebral cortex. *Current Opinion in Neurobiology* 1998; 8: 157-161.
21. Vesce S, Bezzi P, Volterra A. The highly integrated dialogue between neurons and astrocytes in brain function. *Science Progress* 1999; 82:251-270.
22. Whitaker-Azmitia PM, Murphy R, Azmitia EC. Stimulation of astroglial 5-HT_{1A} receptors releases the serotonergic growth factor, protein S-100, and alters astroglial morphology *Brain Research* 1990; 528:155-158
23. Wiesmann M, Wandinger KP, Missler U, Eckhoff D, Rothermundt M, Arolt V, Kirchner H. Elevated plasma levels of S-100b protein in schizophrenic patients. *Biological Psychiatry* 1999; 45: 1508-1511.

Legends

Figure 1. Serum S100B levels of 20 schizophrenic patients and 20 age and gender matched healthy controls. Box-whisker plots show the median level for each group (horizontal line in the box), 25th and 75th percentiles (upper and lower edges in the box), and 10th and 90th percentiles (lines extending above and below the box), with one patient outlying the 90th percentile (♦), S100B levels were significantly different from patients and controls ($p = 0.014$, Wilcoxon test).

Figure 2. Correlation between illness duration and serum S100B levels. S100B values from the respective age-gender matched control were subtracted from the values of schizophrenic patients and plotted over years since onset of the disease. Inset shows S100B levels of schizophrenic patients related to illness duration, without subtracting values from controls ($r = 0.496$; $p = 0.031$ – Spearman-rank correlation coefficient). 2 = overlap of 2 values.

Table 1. Sample Characteristics, Serum S100B Levels and Difference Between S100B Levels of Patients and Age-Gender Matched Healthy Controls

No.	Gen der	Age (years)	Illness duration	Medication-free period	PANSS	Serum S100B ($\mu\text{g/L}$)	S100B of matched control ($\mu\text{g/L}$)	Difference between S100B of patients and matched controls
1	M	26	10 years	1 week	104	0.065	0.021	0.044
2	M	18	6 years	1 week	66	0.070	0.043	0.027
3	M	27	2 years	2 months	145	0.088	0.059	0.029
4	F	25	8 months	2 months	139	0.073	0.028	0.045
5	M	23	4 years	9 months	148	0.098	0.015	0.083
6	M	26	6 years	2 weeks	65	0.253	0.140	0.113
7	M	21	1 year	8 months	133	0.077	0.121	- 0.044
8	M	24	6 months	naïve	78	0.603	0.149	0.454
9	F	27	2 years	6 months	109	0.278	0.015	0.263
10	M	39	16 years	1 year	92	0.253	0.196	0.057
11	F	45	25 years	1 month	134	0.056	0.030	0.026
12	F	43	25 years	6 months	99	0.035	0.013	0.022
13	M	32	7 years	2 weeks	68	0.015	0.003	0.012
14	M	30	13 years	2 weeks	90	0.034	0.007	0.027
15	F	24	8 years	2 weeks	114	0.053	0.204	- 0.151
16	M	31	15 years	3 weeks	81	0.036	0.015	0.021
17	M	43	7 years	2 months	111	0.185	0.121	0.064
18	M	44	20 years	4 months	141	0.088	0.093	- 0.005
19	F	40	12 years	3 months	88	0.006	0.035	- 0.029
20	F	40	10 years	2 weeks	98	0.042	0.004	0.038

Figure 1.

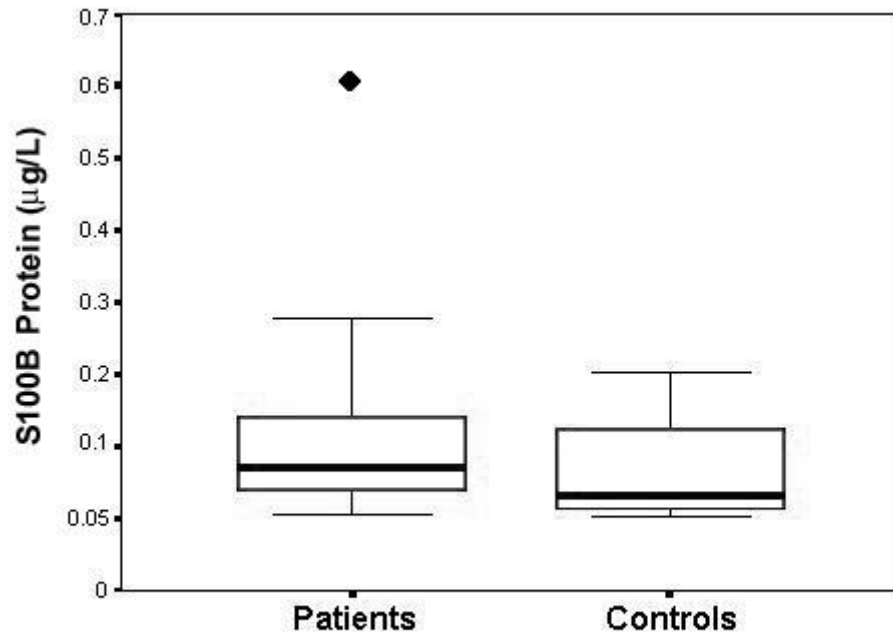
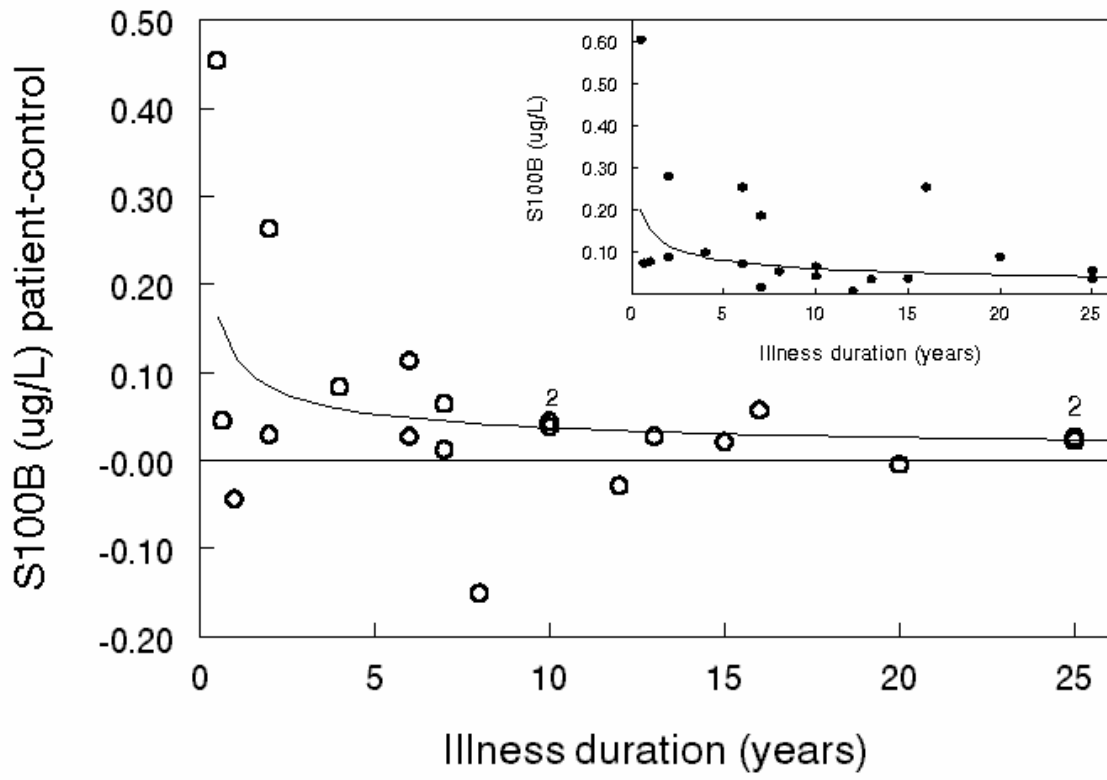


Figure 2.



ARTIGO CIENTÍFICO EM PORTUGUÊS

Estudo da proteína S100B em pacientes com esquizofrenia sem uso de medicação

Gama CS ¹, Lara DR ^{1,2}, Souza DO ^{2 *}, Portela LVC ^{2,3}, Gonçalves CA ²,
Fonseca M ¹, Hauck S ¹, Belmonte-de-Abreu P ¹

1. Serviço de Psiquiatria do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA),
Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rua Ramiro Barcelos, 2350, Porto
Alegre, RS, 90035-003, Brasil.

2. Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde
(ICBS), Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rua Ramiro Barcelos,
2600 (Anexo), Porto Alegre, RS, 90035-003, Brasil.

3. Laboratório Público de Novo Hamburgo, RS, Brasil.

Autor correspondente:

Diogo O. de Souza
DEPARTAMENTO BIOQUÍMICA - ICBS, UFRGS
Rua Ramiro Barcelos, 2600 - Anexo
Porto Alegre - RS - Brasil
90035-003
E-mail: diogo@vortex.ufrgs.br

Resumo

A proteína S100B é uma proteína ligadora de cálcio produzida por células da glia. Tem sido usada como um marcador sensível de lesão cerebral. Estudos prévios acharam alterações em níveis de S100B periféricos em pacientes esquizofrênicos usando medicamento. Nós comparamos os níveis séricos de S100B de 20 pacientes com diagnóstico de esquizofrenia pelo DSM-IV sem uso de medicação com 20 controles saudáveis pareados para idade e gênero. Foi achado um aumento dos níveis séricos desta proteína nos pacientes com esquizofrenia (0.120 mg/L Média \pm 0.140) quando comparados aos controles (0.066 mg/L Média \pm 0.067; $p = 0.014$) e uma correlação negativa dos níveis séricos de S100B com o tempo de duração da doença ($r = -0.496$, $p = 0.031$). Este estudo indica que o nível sérico de S100B pode ser um marcador de estado da doença, especialmente no início da esquizofrenia, refletindo possivelmente um processo neurodegenerativo limitado.

PALAVRAS CHAVE

Esquizofrenia - S100B - Marcador Biológico - Neurodegeneração - Glia

Introdução

A esquizofrenia tem sido crescentemente considerada como uma doença de origem neurodesenvolvimental, não só por causa de achados anatomopatológicos que apoiam esta hipótese, mas também pela falta de sinais de neurodegeneração, como astrogliose, em estudos de neuropatologia (Raedler et al., 1998). Porém, uma vez que a esquizofrenia provavelmente envolve uma etiologia multifatorial, a dicotomia neurodesenvolvimento/neurodegeneração pode não ser apropriada. Além disso, como assinalado por Lieberman (1999), vários achados de neuroimagem e de necrópsia, junto com a deterioração comportamental e cognitiva observada em pacientes esquizofrênicos, poderiam refletir um processo neurodegenerativo limitado, mas significativo, provavelmente mais ativo na fase inicial (5-10 anos) da doença.

A S100B é uma proteína ligadora de cálcio, com 21kDa, produzida e liberada pelos astrócitos, sendo o membro da família das proteínas S100 mais presente no cérebro (Donato, 1999). Devido a sua ação trófica em neurônios e astrócitos, a S100B tem um papel no desenvolvimento e manutenção do sistema nervoso (Marshak et al., 1990; Gonçalves et al., 2000). Entretanto, um nível aumentado de S100B no líquido céfalo-raquidiano ou no soro tem sido usado como um marcador sensível de lesão cerebral (Ingebrigtsen et al., 1999) e seus níveis elevados poderiam indicar ativação ou morte de astrócitos ou uma disfunção na barreira hemato-encefálica.

Recentemente, dois trabalhos independentes mostraram mudanças nos níveis séricos de S100B em pacientes esquizofrênicos sob uso de medicação. Enquanto Wiesmann et al. (1999) achou níveis elevados, Gattaz et al. (2000) achou uma diminuição na média dos níveis séricos de S100B em pacientes esquizofrênicos. Com base nestes dois resultados contraditórios, ambos derivados de pacientes tratados, nós medimos os níveis séricos de S100B em pacientes sem uso de medicamento e em controles pareados para sexo e idade.

Material e Métodos

Vinte pacientes com esquizofrenia, sem uso de medicamento durante pelo menos uma semana (13 Homens e 7 Mulheres, com idade média de 31 ± 8 anos) e 20 controles saudáveis, pareados para sexo e idade (± 3 anos), com idade média de 31 ± 9 anos foram incluídos neste protocolo de estudo que foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. O intervalo sem uso de medicação foi obtido pelo relatório de pacientes e familiares. Para entrar no estudo os pacientes tiveram que preencher critérios da DSM-IV para esquizofrenia, o estado psicopatológico foi medido através de uma escala de sintomas para esquizofrenia (PANSS)¹⁴ por um psiquiatra treinado. Foram excluídos pacientes com outros problemas psiquiátricos e com problemas clínicos, também foram excluídos controles com problemas clínicos e psiquiátricos. A exclusão foi baseada na história clínica, revisão de prontuários, exame físico e temperatura corporal, proteína C-reativa, hemograma e plaquetas. Os pacientes foram recrutados do Programa de Esquizofrenia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e os controles foram recrutados, principalmente, da equipe de trabalho do hospital. Quatorze pacientes foram recrutados logo após a admissão na Unidade Psiquiátrica e seis pacientes foram recrutados do ambulatório. Todos os pacientes e familiares foram informados sobre o procedimento e assinaram um consentimento de participação no estudo. Nenhum paciente estava usando medicamento *depot* previamente. Foram retirados 10 ml de sangue de cada sujeito, coletados por punção venosa em frasco sem anticoagulantes. O soro

foi obtido através de centrifugação a 3,000xg durante 5 minutos e mantido congelado a -70°C por menos de 3 meses, até o ensaio.

Concentrações da proteína S100B foram medidas em 100 µl de soro usando um método altamente específico e sensível (limite de detecção de 0.02 µg/l) por ensaio imunoluminométrico (LIA-mat® Sangtec®100 - Sangtec Medical, Bromma, Sweden). A luminescência foi medida por luminômetro Lumat LB 9507 (EG&G Berthold) depois de injeção automática de 300 µl de solução de peróxido alcalino e 300 µl de solução de catalisador nos tubos de teste. A curva standard de S100B foi linear dentro de concentrações entre 0.02-20 µg/l e a variação dos valores duplicados foi dentro do intervalo de 5%.

Análise Estatística

A análise estatística foi executada pelo programa estatístico *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versão 8.0. Foi usado o teste de Wilcoxon para comparações não paramétricas e o coeficiente de correlação de Spearman para estudo de correlação da duração da doença, tempo sem medicação, e escores na PANSS com os níveis de S100B.

Resultados

Os dados incluídos na análise estatística são mostrados na Tabela 1. A média dos escores na PANSS foi de 107 (± 29) no total, 24 (± 9) para sintomas positivos e de 29 (± 7) para sintomas negativos. A concentração sérica média de S100B foi significativamente mais alta (Média \pm SD, $p = 0.014$) em pacientes esquizofrênicos (0.120 ± 0.140 mg/L) do que em controles (0.066 mg/L ± 0.067). Estes dados são mostrados na Figura 1.

Os níveis séricos de S100B não mostraram correlação com os escores na BPRS ($r = -0.151$, $p = 0.562$) e PANSS total ($r = 0.047$, $p = 0.859$), para sintomas positivos ($r = 0.127$, $p = 0.628$) e negativos ($r = 0.014$, $p = 0.959$). Houve uma tendência de associação entre os níveis séricos de S100B e o tempo sem medicação ($r = 0.427$, $p = 0.068$) e uma correlação negativa com o tempo de duração da doença ($r = -0.496$, $p = 0.031$). Esta correlação negativa é mostrada na Figura 2, onde os valores de S100B dos controles pareados para idade e gênero foram subtraídos dos valores dos pacientes esquizofrênicos, mostrando que os pacientes em uma fase mais precoce da doença principalmente respondiam pela diferença observada. Duas análises adicionais foram feitas, a primeira excluindo um paciente *outlier* (\blacklozenge , ver Figura 1), e a segunda excluindo dois pacientes sem medicamento por menos de duas semanas. A primeira análise evidencia uma tendência de correlação negativa fraca entre os níveis de S100B e o tempo de duração da doença ($r = -0.407$, $p = 0.094$) e nenhuma correlação entre os níveis de S100B e o período sem medicação ($r = 0.374$, $p = 0.127$). A segunda análise não mostra correlação

entre os níveis de S100B com tempo de duração da doença ($r = -0.4493$, $p = 0.094$) e com o período sem medicação ($r = 0.4436$, $p = 0.075$). A comparação entre grupos sem o *outlier* e seu controle respectivo e sem os dois pacientes sem medicação por menos de duas semanas e seus respectivos controles permaneceram estatisticamente significante ($p=0.024$ e $p = 0.026$ respectivamente).

Discussão

Os achados deste estudo em pacientes sem medicação estão de acordo com os resultados de níveis de S100B aumentados em pacientes esquizofrênicos tratados achados por Wiesmann et al. (1999). Porém estão discordantes dos resultados de Gattaz et al. (2000). Wiesmann et al. analisaram predominantemente pacientes internados e tratados com drogas não especificadas, a amostra de Gattaz et al. consistiu de pacientes ambulatoriais, principalmente em uso de clozapina (16/23 pacientes), provavelmente contribuindo com pacientes refratários. Nossa amostra consistiu principalmente de pacientes recém admitidos em uma unidade psiquiátrica, com intervalos variados sem tratamento farmacológico, estando, predominantemente, durante exacerbação dos sintomas, como comprovado pelos altos escores na PANSS. Porém, nós não achamos nenhuma correlação com a severidade dos sintomas. Deve também ser apontado a duração da enfermidade na amostra de Gattaz et al. Que foi de 17 ± 7 anos e na amostra de Wiesmann et al. foi de 8 ± 5 anos, similar à duração da doença na nossa amostra (9 ± 7 anos). Esta diferença pode ser pertinente, considerando a correlação negativa aparente entre os níveis séricos de S100B e a duração de enfermidade, i.e., quanto mais recente o início dos sintomas, mais alto os níveis de S100B. Sugerindo que esta proteína possa ser um marcador do estado da doença ao invés de um marcador de característica. Porém, esta correlação negativa deve ser cautelosamente interpretada, uma vez que a análise foi não significativa ($p=0.094$) quando excluído o *outlier*. Este foi o único paciente virgem de tratamento e com início recente dos sintomas. Este achado parece confirmar a hipótese de um

componente degenerativo progressivo na fase inicial da doença (Lieberman, 1999) o que derivou das observações que a progressão da enfermidade faz os pacientes menos responsivos ao tratamento e, que aqueles pacientes com resposta mais pobre tenham um aumento, com o passar do tempo, do volume ventricular (Lieberman et al., 1996; Gur et al., 1998).

Estes resultados também têm outras implicações patofisiológicas. Uma vez que as células da glia eram consideradas como tendo um papel unicamente estrutural para neurônios, agora são reconhecidas como tendo um papel funcional crucial. Os astrócitos, células da glia mais abundantes, estão intimamente relacionadas com os neurônios, regulando a síntese e o metabolismo de neurotransmissores e íons, como também a produção de citocinas e fator de crescimento (Vesce et al., 1999). Estas ações conferem um papel chave aos astrócitos no desenvolvimento do Sistema Nervoso Central (SNC) (migração neuronal), na manutenção e reestruturação depois de insulto cerebral de vários tipos. Como recentemente apontado (Lara et al., 2000; Coyle et al., 2000), determinando as funções destas células no SNC, referem que os astrócitos merecem ser mais intensamente estudados em psiquiatria. A determinação de S100B reflete um aspecto funcional, ao invés de estrutural, estando aumentada no líquido céfalo-raquidiano e/ou no soro provavelmente reflita ativação glial. Esta proteína já foi usada como um marcador de dano cerebral crônico (por exemplo demências) (Grifo et al., 1989) e situações clínicas agudas (por exemplo dano de cérebro por golpe) (Ingebrigtsen et al., 1999). Também foi sugerido que os níveis de S100B possam ser um marcador mais sensível que a ressonância magnética (MRI) em certos casos de dano de

cerebral (Ingebrigtsen et al., 1999), refletindo um processo contínuo de lesão cerebral. Então, se esquizofrenia é associada com um processo neurodegenerativo limitado que afeta a função celular e a plasticidade cerebral, seria mais provável achar elevações de S100B em pacientes durante uma fase mais precoce da doença, mas não em fases mais tardias. De maneira interessante, níveis de enolase neurônio-específico (NSE), um marcador periférico de dano cerebral derivado de lesão neuronal, não foi encontrado elevado em esquizofrenia (Egan et al., 1992), sugerindo que a atividade glial é que pode estar afetada, pelo menos em um subgrupo de pacientes. Embora níveis séricos de S100B aumentados são interpretados como um marcador periférico de dano cerebral, a contribuição trófica extracelular (Marshak, 1990) e apoptótica (Hu et al., 1997) não podem ser excluídas, neste momento, da patofisiologia da esquizofrenia.

Os níveis séricos aumentados de S100B também podem estar relacionados ao aumento na permeabilidade da barreira hemato-encefálica associada à esquizofrenia (Axelsson et al., 1982), apesar de níveis normais no cérebro. Porém, níveis aumentados de S100B no líquido foram relatados em um paciente esquizofrênico (Green et al., 1997), sugerindo que os níveis séricos estão refletindo alterações centrais nestes pacientes. Contudo, os níveis séricos de S100B podem refletir alterações periféricas observadas na esquizofrenia (Horrobin, 1996).

Concluindo, os resultados presentes mostram elevação de níveis séricos de S100B em pacientes esquizofrênicos que não estão em uso de medicação.

Além disso, nós não achamos nenhuma correlação com a severidade dos sintomas e os níveis séricos de S100B. O aumento de S100B, particularmente no início da doença (menos de 10 anos), apoia a teoria sobre um processo neurodegenerativo sutil e limitado resultando em prejuízo funcional e de neuroplasticidade, pelo menos em um subgrupo de pacientes esquizofrênicos.

Agradecimentos: Este estudo foi apoiado financeiramente por concessões do CNPq, PRONEX (#41960904), FINEP e FIPE-HCPA (#990025).

Referências Bibliográficas

1. Axelsson R, Martensson E, Alling C. Impairment of the blood-brain barrier as an aetiological factor in paranoid psychosis. *British Journal of Psychiatry* 1982; 141: 273-281.
2. Coyle JT, Schwarcz R. Mind glue: implications of glial cell biology for psychiatry. *Archives of General Psychiatry*. 2000 Jan;57(1):90-3.
3. Donato R. Functional roles of S100 proteins, calcium-binding proteins of the EF-hand type. *Biochimica et Biophysica Acta* 1999; 1450:191-231.
4. Durst R, Teitelbaum A, Katz G, Knobler HY Withdrawal from clozapine: the "rebound phenomenon". *Isr J Psychiatry Relat Sci* 1999; 36:122-128.
5. Egan MF, el-Mallakh RS, Suddath RL, Lohr JB, Bracha HS, Wyatt RJ. Cerebrospinal fluid and serum levels of neuron-specific enolase in patients with schizophrenia. *Journal of Psychiatry Research* 1992; 43: 187-195.
6. Gattaz WF, Lara DR, Elkis H, Portela LV, Gonçalves CA, Tort AB, Henna J, Souza DO. Decreased S100B protein in schizophrenia: preliminary evidence. *Schizophrenia Research* 2000; 43:91-95.
7. Gonçalves DS, Lenz G, Karl JD, Gonçalves CA, Rodnight R. Extracellular S100B Protein Modulates ERK in Astrocyte Cultures. *NeuroReport* 2000; 11: 807-809
8. Green AJE, Keir G, Thompson EJ. A specific and sensitive ELISA for measuring S-100b in cerebrospinal fluid. *Journal of Immunological Methods* 1997; 205:35-41.
9. Griffin WS, Stanley EC, Ling C, White L, MacLeod V, Perrot LJ, White CL , Araoz C. Brain interleukin 1 and S-100 immunoreactivity are elevated in

- Down syndrome and Alzheimer disease. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 1989; 86: 7611-7619.
10. Gur RE, Cowell P, Turetsky BI, Gallacher F, Cannon T, Bilker W, Gur RC. A follow-up magnetic resonance imaging study of schizophrenia. Relationship of neuroanatomical changes to clinical and neurobehavioral measures. *Archives in General Psychiatry* 1998; 55: 145-152.
 11. Horrobin DF. Schizophrenia as a membrane lipid disorder which is expressed throughout the body. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 1996; 55:3-7.
 12. Hu J, Ferreira A, Van Eldik L. S100beta induces neuronal cell death through nitric oxide release from astrocytes. *Journal of Neurochemistry* 1997; 69: 2294-2301.
 13. Ingebrigtsen T, Waterloo K, Jacobsen EA, Langbakk B, Romner B. Traumatic brain damage in minor head injury: relation of serum S-100 protein measurements to magnetic resonance imaging and neurobehavioral outcome. *Neurosurgery* 1999; 45: 468-475.
 14. Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 1987; 13: 261-276.
 15. Lara DR and Souza DO. Schizophrenia: a purinergic hypothesis. *Med Hypotheses* 2000; 54: 157-166.
 16. Leenders KL, Antonini A, Schwarzbach R, Smith-Jones P, Reist H, Ben-Shachar D, Youdim M, Henn V. Blood to brain iron uptake in one rhesus monkey using [Fe-52]-citrate and positron emission tomography (PET): influence of haloperidol. *Journal of Neural Transmission Suppl* 1994; 43:123-132

17. Lieberman JA. Pathophysiologic mechanisms in the pathogenesis and clinical course of schizophrenia. *Journal of Clinical Psychiatry* 1999; 60: S9-S12.
18. Lieberman JA, Alvir JM, Koreen A, Geisler S, Chakos M, Sheitman B, Woerner M. Psychobiologic correlates of treatment response in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 1996; 14: 13S-21S.
19. Marshak DR. S100 beta as a neurotrophic factor. *Prog Brain Res* 1990; 86: 169-181.
20. Raedler TJ, Knable MB, Weinberger DR. Schizophrenia as a developmental disorder of the cerebral cortex. *Current Opinion in Neurobiology* 1998; 8: 157-161.
21. Vesce S, Bezzi P, Volterra A. The highly integrated dialogue between neurons and astrocytes in brain function. *Science Progress* 1999; 82:251-270.
22. Whitaker-Azmitia PM, Murphy R, Azmitia EC. Stimulation of astroglial 5-HT_{1A} receptors releases the serotonergic growth factor, protein S-100, and alters astroglial morphology *Brain Research* 1990; 528:155-158
23. Wiesmann M, Wandinger KP, Missler U, Eckhoff D, Rothermundt M, Arolt V, Kirchner H. Elevated plasma levels of S-100b protein in schizophrenic patients. *Biological Psychiatry* 1999; 45: 1508-1511.

Legendas

Figura 1. Níveis séricos de S100B de 20 pacientes esquizofrênicos e 20 controles saudáveis pareados por idade e gênero. A linha horizontal na caixa representa a mediana, os percentis 25º e 75º são delimitados pelas extremidades superiores e inferiores da caixa, e os percentis 10º e 90º pelas linhas que se estendem acima e abaixo da caixa, um paciente ultrapassou o percentil 90º (◆), os níveis de S100B foram significativamente diferentes entre os pacientes e controles ($p = 0.014$, teste de Wilcoxon).

Figure 2. Correlação entre a duração da doença e os níveis séricos de S100B. Os valores de S100B dos controles pareados para idade e gênero foram subtraídos dos valores dos pacientes esquizofrênicos e distribuídos nos anos de começo da doença. O *Inset* mostra os níveis de S100B de pacientes esquizofrênicos relacionados a duração da doença, sem subtrair os valores dos controles ($r = 0.496$; $p = 0.031$ - coeficiente de correlação de Spearman). 2 = sobreposição de 2 valores.

Tabela 1. Características da Amostra, Níveis Séricos de S100B e a Diferença entre os níveis de S100B entre pacientes e controles pareados para sexo e idade

No.	Sexo	Idade (anos)	Duração da Doença	Período sem Medicação	PANSS	S100B (µg/L)	S100B nos Controles (µg/L)	Diferença entre S100B de Pacientes e Controles Pareados
1	M	26	10 anos	1 semana	104	0.065	0.021	0.044
2	M	18	6 anos	1 semana	66	0.070	0.043	0.027
3	M	27	2 anos	2 meses	145	0.088	0.059	0.029
4	F	25	8 meses	2 meses	139	0.073	0.028	0.045
5	M	23	4 anos	9 meses	148	0.098	0.015	0.083
6	M	26	6 anos	2semanas	65	0.253	0.140	0.113
7	M	21	1 ano	8 meses	133	0.077	0.121	- 0.044
8	M	24	6 meses	virgem	78	0.603	0.149	0.454
9	F	27	2 anos	6 meses	109	0.278	0.015	0.263
10	M	39	16 anos	1 ano	92	0.253	0.196	0.057
11	F	45	25 anos	1 mês	134	0.056	0.030	0.026
12	F	43	25 anos	6 meses	99	0.035	0.013	0.022
13	M	32	7 anos	2semanas	68	0.015	0.003	0.012
14	M	30	13 anos	2semanas	90	0.034	0.007	0.027
15	F	24	8 anos	2semanas	114	0.053	0.204	- 0.151
16	M	31	15 anos	3semanas	81	0.036	0.015	0.021
17	M	43	7 anos	2 meses	111	0.185	0.121	0.064
18	M	44	20 anos	4 meses	141	0.088	0.093	- 0.005
19	F	40	12 anos	3 meses	88	0.006	0.035	- 0.029
20	F	40	10 anos	2semanas	98	0.042	0.004	0.038

Figura 1.

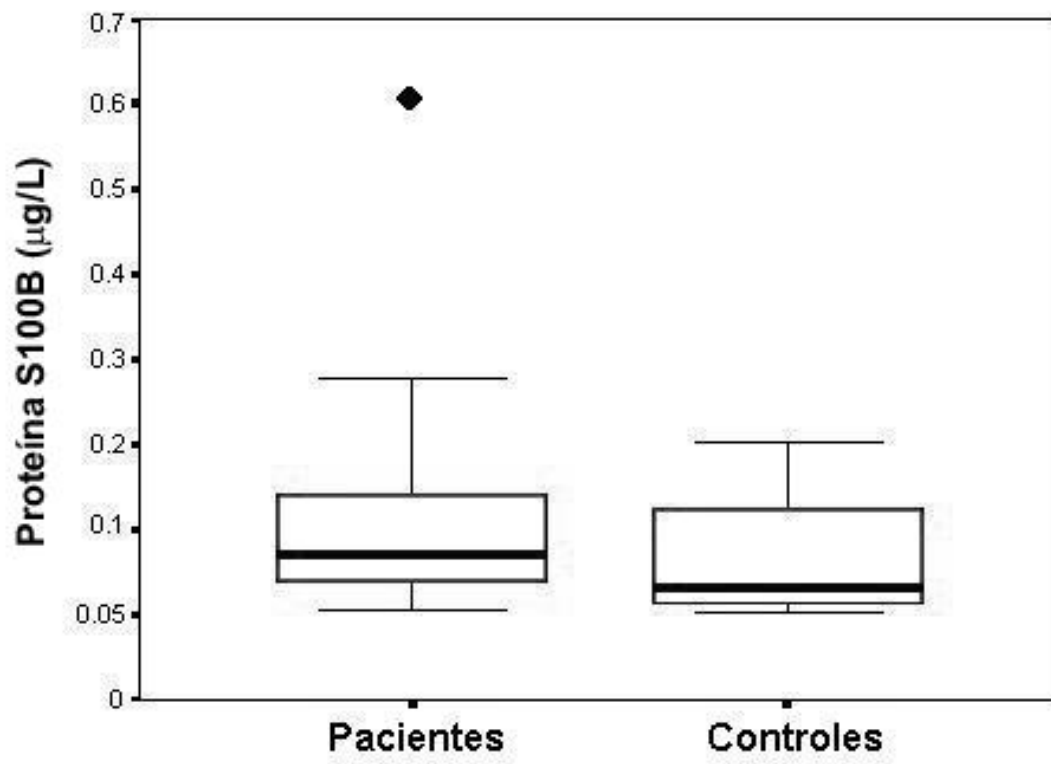
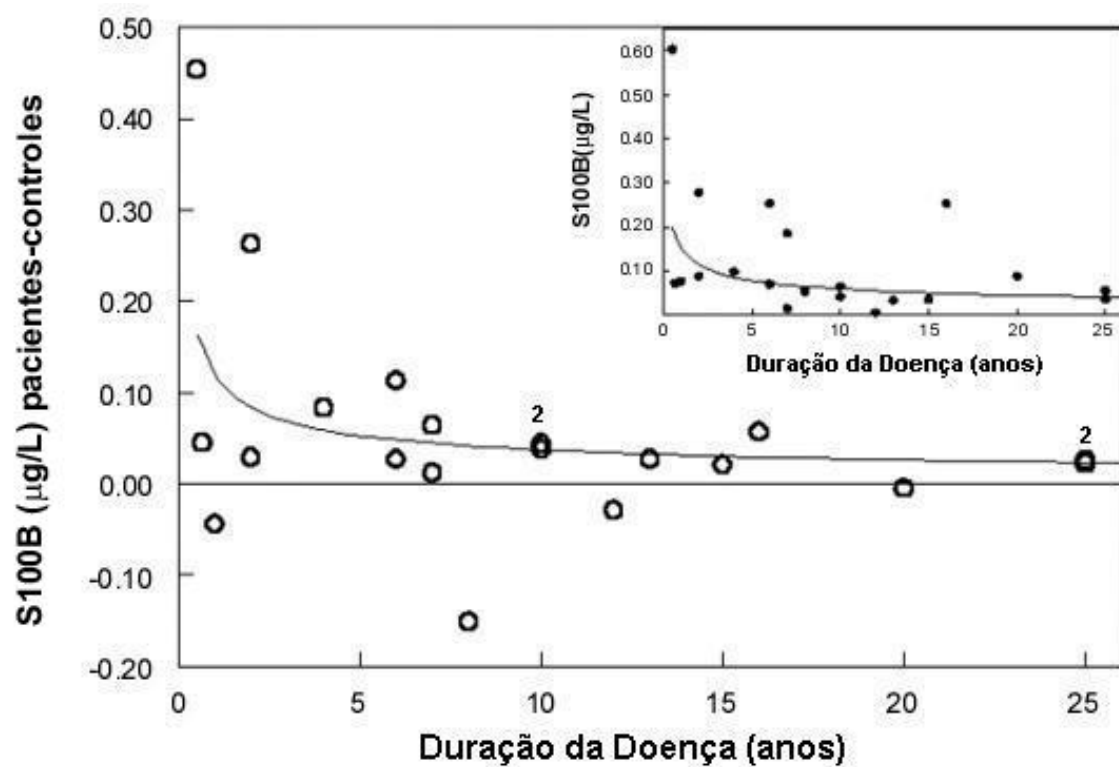


Figura 2.



ANEXOS

Escala BPRS

Código: **1)** ausente **2)** muito discreto **3)** discreto **4)** moderado
5) moderadamente grave **6)** grave **7)** extremamente grave

1. Preocupações somáticas	
2. Ansiedade	
3. Retraimento afetivo	
4. Desorganização conceitual	
5. Sentimento de culpa	
6. Tensão	
7. Maneirismo e Atitude	
8. Megalomania	
9. Humor depressivo	
10. Hostilidade	
11. Desconfiança	
12. Comportamento alucinatório	
13. Retardamento motor	
14. Não cooperação	
15. Pensamentos não habituais	
16. Embotamento afetivo	
17. Excitação	
18. Desorientação	
ESCORE TOTAL	

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO PARA PACIENTES

Número do estudo:
Data de nascimento:
Médico supervisor:

Nome do sujeito:
Cód. de identidade do sujeito:

Informações sobre o estudo ao paciente

Esta folha informativa tem o objetivo de fornecer a informação mínima para quem considerar participar neste estudo. Ela não elimina a necessidade do pesquisador de explicar, e se necessário, ampliar as informações nela contidas.

Antes de participar deste estudo, gostaríamos que você tomasse conhecimento do que ele envolve. Damos abaixo alguns esclarecimentos sobre dúvidas que você possa ter. Em caso de qualquer dúvida quanto ao estudo, o que ele envolve e sobre os seus direitos, você deverá contatar a Dra Clarissa Severino Gama pelo telefone (51) 333 4775.

Qual é o objetivo da pesquisa?

Com este estudo buscamos identificar se há relação entre a quantidade de uma substância no sangue e a esquizofrenia. Caso haja esta relação, esta substância poderá ser útil para ajudar no entendimento e tratamento da doença.

Quais são os riscos em participar?

O único risco a que o paciente será submetido é o da punção venosa, que é um procedimento corriqueiro e de baixíssimo risco. Serão retirados 10 ml de sangue (equivalente a uma colher de sopa), o que não compromete a saúde do paciente. O procedimento será feito com material esterilizado e descartável por profissionais da área de saúde com competência técnica para tal.

Itens importantes

Você tem a liberdade de desistir do estudo a qualquer momento, sem fornecer um motivo, assim como pedir maiores informações sobre o estudo e o procedimento a ser feito.

O que eu ganho com este estudo?

Sua colaboração neste estudo visa aumentar o conhecimento científico sobre a esquizofrenia. Em curto e médio prazos, não há ganho específico pelo paciente ao participar deste estudo.

Quais são os meus direitos?

Os pesquisadores do Serviço de Psiquiatria e os representantes da Comissão de Ética do HCPA podem necessitar examinar os seus registros a fim de verificar as informações para o objetivo deste estudo. No entanto, os seus registros médicos serão sempre tratados confidencialmente.

Os resultados deste estudo poderão ser publicados em um jornal científico ou submetido à autoridade de medicamento competente, mas você não será identificado por nome.

Sua participação neste estudo é voluntária, de forma que caso você decida não participar, isso não afetará o tratamento normal ao qual você tem direito.

DECLARAÇÃO:

Eu,.....declaro
que:

1. Concordo total e voluntariamente em fazer parte deste estudo.
2. Recebi uma explicação completa do objetivo do estudo, dos procedimentos envolvidos e o que se espera de mim. O médico me explicou os possíveis problemas que podem surgir em consequência da minha participação neste estudo.
3. Informei o médico sobre medicamentos que estou tomando.
4. Concordo em cooperar inteiramente com o médico supervisor.
5. Estou ciente de que tenho total liberdade de desistir do estudo a qualquer momento e que esta desistência não irá, de forma alguma, afetar meu tratamento ou administração médica futura.
6. Estou ciente de que a informação nos meus registros médicos é essencial para a avaliação dos resultados do estudo. Concordo em liberar esta informação sob o entendimento de que ela será tratada confidencialmente.
7. Estou ciente de que não serei referido por nome em qualquer relatório relacionado a este estudo. Da minha parte, não devo restringir, de forma alguma, os resultados que possam surgir neste estudo.

Assinatura do Paciente

Ass:_____

Data:

Assinatura do Pesquisador Responsável:

Ass:_____

Data:

Assinatura do Familiar Responsável pelo Paciente

Ass:_____

Data:

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO PARA VOLUNTÁRIOS DO GRUPO CONTROLE

Número do estudo:
Data de nascimento:
Médico supervisor:

Nome do sujeito:
Cód. de identidade do sujeito:

Informações sobre o estudo ao voluntário do grupo controle

Esta folha informativa tem o objetivo de fornecer a informação mínima para o sujeito que considere participar neste estudo. Ela não elimina a necessidade do pesquisador de explicar, e se necessário, ampliar as informações nela contidas. Antes de participar deste estudo, gostaríamos que você tomasse conhecimento do que ele envolve. Damos abaixo alguns esclarecimentos sobre dúvidas que você possa ter. Em caso de qualquer dúvida quanto ao estudo e o que ele envolve e sobre os seus direitos, você deverá contatar a Dra. Clarissa Severino Gama pelo telefone (51) 333 4775.

Qual é o objetivo da pesquisa?

Com este estudo buscamos identificar se há relação entre a quantidade de uma substância no sangue e a esquizofrenia. Caso haja esta relação, esta substância poderá ser útil para ajudar no entendimento da doença.

Quais são os riscos em participar?

O único risco a que o sujeito será submetido é o da punção venosa, que é um procedimento corriqueiro e de baixíssimo risco. Serão retirados 10 ml de sangue (equivalente a uma colher de sopa), o que não compromete a saúde do indivíduo. O procedimento será feito com material esterilizado e descartável por profissionais da área de saúde com competência técnica para tal. O voluntário será submetido a um questionário e uma avaliação cognitiva para avaliar se em algum momento de sua vida já sofreu algum transtorno mental grave, como esquizofrenia, transtornos de humor (como depressão), demência ou dependência de substâncias psicoativas.

Itens importantes

Você tem a liberdade de desistir do estudo a qualquer momento, sem fornecer um motivo, assim como pedir maiores informações sobre o estudo e o procedimento a ser feito.

O que eu ganho com este estudo?

Sua colaboração neste estudo visa aumentar o conhecimento científico sobre a esquizofrenia. Em curto e médio prazos, não há ganho específico pelo voluntário ao participar deste estudo.

Quais são os meus direitos?

O resultado do teste cognitivo e das dosagens serão sempre tratados confidencialmente.

Os resultados deste estudo poderão ser publicados em um jornal científico ou submetido à autoridade de medicamento competente, mas você não será identificado por nome.

Sua participação neste estudo é voluntária, de forma que caso você decida não participar, não lhe acarretará problema algum.

DECLARAÇÃO:

Eu,.....declaro
que:

1. Concordo total e voluntariamente em fazer parte deste estudo.
2. Recebi uma explicação completa do objetivo do estudo, dos procedimentos envolvidos e o que se espera de mim. O médico me explicou os possíveis problemas que podem surgir em consequência da minha participação neste estudo.
3. Informe o médico sobre todos os medicamentos que tomei nas últimas 24 horas e medicamentos que ainda estou tomando.
4. Concordo em cooperar inteiramente com o médico supervisor.
5. Estou ciente de que tenho total liberdade de desistir do estudo a qualquer momento e que esta desistência não irá, de forma alguma, acarretar qualquer tipo de problema para mim.
6. Estou ciente de que a informação colhida no questionário é essencial para a avaliação dos resultados do estudo. Concordo em liberar esta informação sob o entendimento de que ela será tratada confidencialmente.
7. Estou ciente de que não serei referido por nome em qualquer relatório relacionado a este estudo. Da minha parte, não devo restringir, de forma alguma, os resultados que possam surgir neste estudo.

Assinatura do Voluntário

Assinatura do Pesquisador Responsável:

Ass: _____

Ass: _____

Data:

Data: