

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: PSIQUIATRIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DOSAGEM DA NEUROTROFINA 3 EM PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE  
ESQUIZOFRENIA**

Haroldo Evangelista Vargas

Orientador

Prof. Dr. Paulo Silva Belmonte de Abreu

Porto Alegre, 2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: PSIQUIATRIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DOSAGEM DA NEUROTROFINA 3 EM PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE  
ESQUIZOFRENIA**

Haroldo Evangelista Vargas

Orientador

Prof. Dr. Paulo Silva Belmonte de Abreu

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Ciências Médicas: Psiquiatria, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, 2009

V297d **Vargas, Haroldo Evangelista**

Dosagem da neurotrofina 3 em pacientes com diagnóstico de esquizofrenia / Haroldo Evangelista Vargas; orient. Paulo Silva Belmonte de Abreu. – 2009.

73 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, Porto Alegre, BR-RS, 2009.

1. Neurotrofina 3 2. Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo 3. Esquizofrenia 4. Agentes Antipsicóticos I. Abreu, Paulo Silva Belmonte de II. Título.

NLM: WM 203

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

*“Ainda que o desconhecido se torne conhecido, algo sempre é incognoscível.”*

*Parigyan*

## Agradecimentos

- Paulo Silva Belmonte de Abreu, além de ter sido excelente orientador, seu entusiasmo como estudante dedicado foi contagiante.

- Clarissa Severino Gama, co-orientadora que transmitiu inúmeras e valiosas recomendações e muito ajudou no experimento e no artigo.

- Aos pacientes, funcionários, professores e colegas que apoiaram direta ou indiretamente alguma etapa do experimento e do artigo.

- Especialmente a estes que foram imprescindíveis: Dalton Medeiros, Flavio Kapczinski, Michael Berk, Ana Cristina Andrezza, Laura Stertz, Gabriel Fries, Joana Palha e Keila Maria Cereser.

- Flavio Millman Shansis, pela inspiração na psiquiatria e pelo ânimo para fazer o mestrado.

-Fernando Araujo Vargas pelo seu companheirismo desde a graduação em medicina até hoje.

-Aos dois casais de papais de Porto Alegre nestes dois anos: Heron Cabral Lopes e Maria de Fátima Frota Lopes e Marcus Rosa de Souza e Paula Magnus.

- Mãe Nézia Evangelista Vargas e Pai João de Souza Vargas.

-Amor (Iliana Rocío Avila Lopez de Lara Vargas), filhote (Rodrigo Alberto Baez Avila) e ximbico (Aruan Tonaltepetl Tepan Avila Vargas).

-De uma maneira simples e direta...sou a gratidão.

## Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	9
2.1 Esquizofrenia.....	9
2.2 Neurotrofinas.....	16
2.3 NT3.....	20
2.4 Esquizofrenia e NT3.....	22
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
4 JUSTIFICATIVA.....	36
5 OBJETIVOS.....	37
6 METODOLOGIA.....	38
7 ASPECTOS ÉTICOS.....	41
8 ARTIGO.....	42
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
10 ANEXOS.....	65

## LISTA DE ABREVIATURAS

5HT2= serotonina

5HT2-A= receptor de serotonina A

ATV= área tegmental ventral

BAPTA= um quelante do cálcio

BDNF = Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (do inglês *brain-derived neurotrophic factor*)

BD = do inglês, bipolar disorder

BPRS-A= Escala Breve de Avaliação Psiquiátrica versão Ancorada (do inglês Brief Psychiatry Rating Scale- Anchored)

D1= receptor de dopamina D1

D2= receptor de Dopamina D2

DA = dopamina

ELISA = Um ensaio imuno-absorvente ligado à enzima (do Inglês *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*)

ERK= Quinase reguladora de sinal *extracelular* (do inglês *extracellular signal-regulated kinase*)

JNK kinase= c-Jun N-terminal kinase

K252a = um inibidor não seletivo da tyrosine kinase

KDa= Kilo Dalton

LCR = Líquido céfalo raquidiano

Li<sup>+</sup> = lítio

LSD= Acido Lisérgico

MAPK= quinase ativadora de mitose

MK-801= dizolcipina

NF-kB= fator nuclear kappa B (em inglês *nuclear factor-kappa B*)

NGF= Fator de Crescimento do Nervo (do inglês *Nerve Growth Factor*)

NMDA = receptor glutamatérgico n metil d aspartato

NT3, NT4, NT5, NT6 e NT7 = Neurotrofina 3, Neurotrofina 4, Neurotrofina 5, Neurotrofina 6 e Neurotrofina 7

p75<sup>NTR</sup> = receptores de neurotrofinas de baixa afinidade/ receptor neurotrófico p<sup>75</sup>

PI3K=phosphatidylinositol-3-OH kinase

PCP= droga fenilciclidina ou peniciclidina

PET = tomografia por emissão de pósitrons

PLC- $\gamma$  = phospholipase-C-C- $\gamma$

SNC= Sistema Nervoso Central

SNP sistema nervoso periférico

SPECT= tomografia computadorizada por emissão de fóton único

SPSC= sinal espontâneo pós-sináptico (do inglês *spontaneous postsynaptic currents*)

SZ= do inglês Schizophrenia, Esquizofrenia

Trk= receptores neurotrofinas de alta afinidade (TrkA, TrkB e TrkC)

VPT = valproato



## Resumo

Há evidência que transtornos psiquiátricos como a Esquizofrenia estão associados com a desregulação da neuroplasticidade devido às alterações das neurotrofinas. NT3 é uma importante neurotrofina no sistema nervoso central e tem funções biológicas chaves como a promoção da sobrevivência, diferenciação e plasticidade neuronal. NT3 tem um papel central no desenvolvimento neuronal precoce; aumentando a sobrevivência de neurônios dopaminérgicos, sugerindo assim possível envolvimento na fisiopatologia de transtornos neuropsiquiátricos relacionados à dopamina, como é o caso da Esquizofrenia. Variações no gene NT3 aumentam o risco de Esquizofrenia. Três grupos de pacientes Esquizofrênicos diagnosticados pelo DSM IV, cronicamente medicados em tratamento com clozapina ( $n = 12$ ), haloperidol ( $n = 12$ ), risperidona ( $n = 12$ ) e 10 controles saudáveis, tiveram coletados 5 ml de sangue por venopuntura. Níveis séricos de NT3 foram medidos usando sandwich-ELISA e foram significativamente menores em pacientes Esquizofrênicos ( $p < 0.005$ ) quando comparados com os controles. Este resultado sugere que este sistema sinalizador da NT3 pode ter um papel na fisiopatologia da Esquizofrenia e estar relacionado ao curso da doença ou à variáveis de tratamento.

Estudos longitudinais são necessários para esclarecer se os baixos níveis séricos de NT3 estão presentes desde os pródromos e/ou início da doença, ou se apenas é uma variação decorrente do curso da Esquizofrenia. Com este tipo de estudo no futuro, saberemos se há potencial para a utilização da NT3 como biomarcador na Esquizofrenia.

*Palavra-chave:* Neurotrofina, NT3, BDNF, Esquizofrenia, Antipsicóticos

## 1. 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. Esta patologia tende a interferir no desempenho escolar e profissional destes pacientes, que terão dificuldade de ingressar na universidade e até concluir estudos, além de dificuldade de assumir posições de trabalho que exijam maior responsabilidade. Como resultado, o status sócio-econômico destes pacientes é reduzido (Hashimoto et al., 2004).

Como muitos dados indicam, a esquizofrenia é um transtorno do neurodesenvolvimento, e por isto se torna plausível o enfoque no estudo das neurotrofinas como peças importantes desta doença (Thompson et al., 2001).

Desta forma, algumas das neurotrofinas podem contribuir para a fisiopatologia da esquizofrenia. Muitos mecanismos são possíveis, tanto o aumento como a diminuição dos níveis de neurotrofinas, desequilíbrio entre diferentes neurotrofinas, anormalidades no controle e tempo de produção, secreção e sinalização das vias envolvidas. Deve ser observado que muitos outros fatores de crescimento devem ser levados em consideração no envolvimento dos processos neuropatológicos. Por exemplo, infecção materna viral parece estar associada à esquizofrenia, possivelmente devido à elevação das interleucinas no cérebro do feto, seja de maneira direta ou pela regulação de neurotrofinas que neste caso também perturbarão o desenvolvimento cerebral (Lindholm et al., 1987).

## **2. Fundamentação teórica**

### **2.1 Esquizofrenia**

A esquizofrenia está entre os transtornos psiquiátricos mais graves e devastadores, afetando cerca de 1% da população. Geralmente manifesta-se clinicamente no final da adolescência e início da idade adulta e apresenta igual prevalência entre homens e mulheres. O pico da idade de início da doença em homens é entre 15-25 anos, sendo que em mulheres ocorre um atraso de 3-5 anos (Pearlson, 2000).

Os transtornos esquizofrênicos caracterizam-se por distorções profundas e características no pensamento e na percepção, e por afeto inapropriado ou embotado. Em outras palavras, são caracterizados por uma ampla variedade de sintomas que refletem alterações nos processos cognitivo, psicomotor e emocional. Isto inclui pensamentos desorganizados, delírios, disparidade de pensamento lógico e distúrbios de percepção, tal como alucinações (Lesch, 2001).

Critérios diagnósticos claros baseados em características fenomenológicas são apresentados no DSM IV. A seguir, estes critérios serão apresentados no quadro 1.

### **Quadro 1: Critérios diagnósticos da Esquizofrenia segundo o DSM IV**

**Critério A:** Sintomas característicos: dois (ou mais) dos seguintes, cada qual presente persistentemente durante um mês (ou menos se tratado com sucesso):

1. delírios
2. alucinações
3. desorganização da fala (p.ex.: interrupção freqüente ou incoerência)
4. comportamento grosseiramente desorganizado ou catatônico
5. sintomas negativos i.e. embotamento afetivo, alogia ou avolição.

Nota: Apenas um sintoma do critério A é necessário se os delírios forem bizarros ou se as alucinações consistirem em uma voz mantendo comentários contínuos sobre comportamento ou pensamento das pessoas, ou duas ou mais vozes conversando entre si.

**Critério B:** Disfunção Social/ Ocupacional: Por um período de tempo significativo desde o início do distúrbio uma ou mais áreas de atividade, tais como, o trabalho, relações interpessoais ou cuidados pessoais, estão acentuadamente abaixo do nível alcançado antes do início da doença (ou quando o início for na infância ou adolescência, incapacidade de atingir o nível esperado de alcance interpessoal, acadêmico ou ocupacional).

**Critério C:** Duração: Sinais contínuos de disfunção persistem por pelo menos 6 meses. Esse período de 6 meses deve incluir pelo menos um mês de sintomas característicos (ou menos, se tratado com sucesso) e pode incluir períodos de sintomas prodrômicos e residuais. Durante esses períodos prodrômicos ou residuais os sintomas podem manifestar-se apenas por sintomas negativos ou sintomas do Critério A presentes de forma atenuada (por exemplo: crenças estranhas, experiências perceptivas inusitadas).

**Critérios D:** Exclusão de Transtorno de Humor ou Esquizoafetivo.

**Critério E:** Exclusão de uso de substância/ Condição Médica Geral: O distúrbio não se deve a efeitos fisiológicos diretos de uma substância (por exemplo: drogas ilícitas, medicação), ou uma condição médica geral.

O risco de desenvolvimento da esquizofrenia é maior quando há história familiar da doença, especialmente se há parentesco de primeiro grau. (Kendler, 2000).

O curso da doença é variado. Embora alterações sutis do comportamento, motricidade e cognição tenham sido descritas no período pré-morbido, os sintomas usualmente se apresentam de maneira mais clara após alguns anos de evolução. Os eventos que desencadeiam a doença propriamente dita não são totalmente conhecidos, mas parecem incluir processos maturativos do SNC como proliferação e migração dos neurônios da glia, proliferação axonal e dendrítica, morte celular programada (apoptose), mielinização axonal, conexões sinápticas; e interações ambientais como doenças físicas ou traumas, estresse psicológico e abuso de substâncias (Weinberger, 1995; Lieberman et al., 2001).

Na maioria dos pacientes o início é insidioso e se caracteriza por uma mudança no padrão de interação social e do afeto. O paciente percebe e interage com o ambiente de maneira diferente da habitual, sendo que os sintomas positivos e desorganizados aparecem somente meses mais tarde. No entanto, em alguns casos o início é abrupto e com sintomas psicóticos proeminentes.

Não existe até o momento exames complementares que sejam capazes de auxiliar de forma inequívoca no diagnóstico de pacientes individualmente. Por outro lado, atualmente já existe um maior entendimento da neurobiologia da esquizofrenia.

#### Hipótese de neurodesenvolvimento:

Esta hipótese postula que anormalidades no neurodesenvolvimento cerebral inicial, aumentem o risco de emergência subsequente de sintomas clínicos (Miyamoto et al., 2003). Portanto, a doença seria causada por lesões cerebrais determinadas por uma combinação de fatores genéticos e/ ou ambientais iniciais e que eventualmente interagem com o processo de maturação normal do cérebro para facilitar sintomas como a psicose (Cannon et al., 2002)

Estudos de imagem revelam claras anormalidades estruturais cerebrais (deficiências no lobo temporal, volume cerebral reduzido, aumento ventricular, perda da massa cinzenta do lobo temporal, redução do volume do tálamo) e redução do volume do giro temporal superior (Hirayasu et al., 2000). Estas características podem fornecer a base anatômica para os mecanismos patofisiológicos que dão origem a deficiências de linguagem e processamento do pensamento que ocorrem na esquizofrenia.

A prevalência da esquizofrenia na população traz à tona a questão da natureza genética da doença. Kraepelin observou, em suas primeiras descrições, que um forte

componente herdado para o processo da doença estaria presente (DeLisi, 1996). Jablensky et al. (1992) concluíram que esta doença aparece com incidência similar em diferentes culturas e apresenta características clínicas que são mais marcantes pela sua similaridade através das populações que pelas suas diferenças. Devido a isto, parece que o componente genético para a Esquizofrenia seria mais forte do que o ambiental. De fato, estudos baseados em famílias, irmãos gêmeos e adotivos, são evidência de uma importante contribuição genética para a doença, sendo uma herdabilidade estimada entre 60 e 80 % (Tamminga and Holcomb, 2005; Sanders and Gill, 2007). O modo de transmissão também é complexo, pois envolve o efeito combinado de muitos genes, cada um conferindo efeitos moderados ao fenótipo como um todo, além da interação com fatores de risco ambientais (Gottesman, 1991; McGuffin et al, 1995). Devidos a esta grande complexidade, ainda não há certeza a respeito do número de genes envolvidos nem do grau de interação e da contribuição de cada um para a suscetibilidade total desta doença multifatorial (Prasad et al., 2002).

Dentre os fatores de risco ambientais que interagem com os genes na Esquizofrenia, podemos salientar: nascimento em zonas urbanas, nascimento no final do inverno/ início da primavera, infecções maternas (efeito neurotóxico no desenvolvimento de neurônios), complicações obstétricas (complicações na gravidez, crescimento e desenvolvimento fetal anormal, complicações no parto), seqüências retrovirais (ativação transcricional de certos elementos retrovirais no cérebro), filhos de mulheres que receberam radiação no primeiro trimestre de gravidez e outros (Miyamoto et al., 2003).

#### Hipóteses clássicas :

Postulam que a doença seria resultado de uma alteração na função de um ou mais sistemas neurotransmissores. Tais evidências são bastante diversas, incluindo, além de mecanismos dopaminérgicos, também gabaérgicos, colinérgicos, glutamatérgicos, serotoninérgicos, adenosinérgicos e fosfolipídicos (Lara et al., 1999, Gattaz et al., 2000).

#### a) Hipótese Dopaminérgica

A hipótese dopaminérgica foi desenvolvida a partir da observação de que a anfetamina, um agonista dopaminérgico indireto, podia induzir sintomas psicóticos em pessoas saudáveis e exacerbar alucinações, delírios e distúrbios do pensamento em pacientes esquizofrênicos (Laruelle et al., 1996; Domino et al., 2004; Fredman, 2003; Abi-Dargham and Laruelle, 2005; Buchanan and Carpenter, 2005). Além disto, drogas com a capacidade de bloquear os receptores pós-sinápticos dopaminérgicos reduzem os sintomas psicóticos dos pacientes com esquizofrenia (Sedvall and Farde 1995; Domino et

al., 2003; Fredman, 2003; Abi-Dargham and Laruelle, 2005; Buchana and Carpenter, 2005), sendo que a potência das medicações antipsicóticas tem relação direta com sua capacidade de bloquear receptores dopaminérgicos do tipo D2 (Seeman and Tallerico, 1998).

As principais projeções dopaminérgicas são divididas em nigroestriatal, mesolímbica e mesocortical. A via nigroestriatal projeta-se da substância nigra para o estriado dorsal e está classicamente envolvida na integração cognitiva, habituação, coordenação sensório-motora e iniciação dos movimentos. A via mesolímbica se projeta da área tegmental-ventral (ATV) para estruturas límbicas como estriado ventral (núcleo accumbens e porção ventral do caudado e putâmen) hipocampo e amígdala. A via mesocortical se projeta da ATV para regiões corticais, especialmente orbitofrontal, pré-frontal medial e cingulada, mas também córtex pré-frontal dorso-lateral, temporal e parietal. Os sistemas mesolímbicos e mesocortical estão envolvidos na motivação, atenção, recompensa e agressividade (Kapur, 2004).

Como os receptores D2 estão localizados principalmente em regiões subcorticais como estriado e acumbens, a hipótese clássica implicava essas regiões e sugeria que a hiperatividade dopaminérgica responsável pelos sintomas positivos estivesse localizada em áreas inervadas pelo sistemas mesolímbico, por exemplo, estriado ventral (Abi-Dargham and Laruelle, 2005; Buchanan and Carpenter, 2005).

Estudos de neuroimagem documentaram a desregulação da função dopaminérgica estriatal em pacientes com esquizofrenia. O aumento da estimulação dos receptores D2 está associado com surgimento ou piora dos sintomas positivos. Diversos estudos evidenciaram uma maior taxa de dopadescarboxilase (enzima envolvida na síntese de dopamina) marcada radioativamente no estriado dos pacientes ou acúmulo de l-dopa em pacientes em psicose. Essas observações são compatíveis com uma síntese aumentada de dopamina em pacientes em surto psicótico, porém a relação entre a atividade da dopadescarboxilase e da dopamina sináptica não é clara. Estudos de PET e SPECT relataram um aumento da liberação de dopamina induzida por anfetamina em pacientes quando comparados com controles sadios (Abi-Dargham and Laruelle, 2005; Buchanan e Carpenter, 2005; Remy and Samson, 2003; Soares and Innis, 1999). No entanto, esses estudos não informam a respeito da dopamina basal, mas pós estimulação farmacológica.

A ocupação basal dos receptores da dopamina em estriado foi estudada usando uma estratégia de depleção aguda de dopamina. Os resultados do estudo sugeriram que a dopamina ocupa uma maior proporção de receptores D2 estriatais de pacientes em

primeiro episódio psicótico e em reagudizações subseqüentes, comparados aos controles (Abi-Dargham and Laruelle, 2005). Além disto, um maior nível de dopamina basal foi significativamente associada a uma melhora maior dos sintomas positivos após 6 semanas de tratamento antipsicótico (Abi-Dargham et al, 2000; Fredman, 2003; Abi-Dargham and Laruelle, 2005). Deste modo os estudos de neuroimagem são consistentes com a existência de uma desregulação da função dopaminérgica estriatal levando a uma hiperestimulação dos receptores D2 em esquizofrenia.

A Hipótese vigente de desbalanço dopaminérgico em esquizofrenia propõe que a condição está associada a uma persistente deficiência na função dopaminérgica pré-frontal, envolvendo receptores D1, gerando os sintomas negativos e cognitivos e, um excesso intermitente na função dopaminérgica subcortical, envolvendo receptores D2, que resultariam no estado psicótico. O efeito terapêutico dos antipsicóticos estaria associado ao bloqueio dopaminérgico da via mesolímbica, enquanto os efeitos extrapiramidais estariam relacionados ao bloqueio no estriado (Seeman and Tellerico, 1998). Por outro lado, os sintomas negativos da doença estariam associados a um estado hipodopaminérgico em córtex frontal e não seriam tratados a partir do bloqueio D2 (Egan and Hyde, 2000; Fredman 2003; Abi-Dargham and Laruelle, 2005; Buchanan and Carpenter, 2005; Winterer and Wrinberger, 2004).

#### b) Hipótese Serotonérgica

Um dos primeiros modelos farmacológicos de sintomas psicóticos foi o LSD, uma droga que aumenta a atividade do sistema serotonérgico (Egan e Hyde, 2000; Domino et al., 2004). No entanto, essa substância além de interagir com outros sistemas levava a um quadro psicótico distinto do observado na esquizofrenia. Outro achado foi de que a reserpina, a primeira droga antipsicótica a surgir, levava a uma depleção de serotonina, assim como de dopamina e noradrenalina (Egan e Hyde, 2000).

Outra evidência do envolvimento do sistema serotonérgico em esquizofrenia é o fato de que muitos antipsicóticos são também antagonistas dos receptores 5-HT<sub>2</sub>, sendo que a maioria dos atipsicóticos atípicos tem uma relação de antagonismo de receptores 5HT<sub>2</sub>/D<sub>2</sub> bem mais favorável aos receptores 5HT<sub>2</sub>. (Seeman e Tellerico, 1998; Domino et al., 2004).

Como um dos poucos achados diretos envolvendo o sistema serotonérgico na esquizofrenia foi a diminuição da densidade do transportador de serotonina em córtex frontal, considerado um índice de inervação serotonérgica e redução do número de receptores serotonérgicos do tipo 5HT<sub>2</sub>-A (Abi-Dargham et al., 2000; Laruelle, 1996).

#### c) Hipótese Glutamatérgica



A hipótese glutamatérgica surgiu a partir da evidência de níveis de glutamato diminuídos em esquizofrênicos (Kim et al., 1980), mas este resultado não foi consistentemente replicado em estudos posteriores. A hipótese ganhou novo impulso quando se descobriu que a droga fenilciclidina (PCP) bloqueava o canal iônico do receptor glutamatérgico NMDA (Olney and Farber, 1995; Tamminga, 1998; Krystal et al., 1999; Goff and Coyle, 2001; Heresco-Levy, 2003; Domino et al., 2004; Abi-Dargham e Laruelle, 2005). Mais tarde foi observado que outros antagonistas do receptor do NMDA como a quetamina e dizolcipina (MK-801) também geravam um quadro clínico semelhante à esquizofrenia em sintomas positivos, negativos e cognitivos (Krystal et al., 1999; Heresco-Levy, 2003; Domino et al., 2004; Abi-Dargham and Laruelle, 2005). Além disso, antagonistas glutamatérgicos exacerbam ou reativam a sintomatologia prévia dos pacientes, ao invés de acrescentar novos sintomas psicóticos, como observado com outros psicomiméticos (Tamminga, 1998; Heresco-Levy, 2003; Domino et al., 2004; Abi-Dargham and Laruelle, 2005). No entanto, antagonistas NMDA, como a quetamina, raramente induzem alucinações auditivas e com relativa frequência geram bradicinesia e um estado dissociativo qualitativamente diferente da esquizofrenia (Krystal et al., 1999).

A presença do glutamato é fundamental para a migração e crescimento neural, sinaptogênese, maturação das sinapses e a poda de sinapses supranumerárias por apoptose no cérebro em desenvolvimento ocorrem na falta do glutamato (Heresco-Levy, 2003; Goff and Coyle, 2001). Além de seu papel na cito arquitetura e conectividade neuronal, o glutamato também é mediador da excitotoxicidade neuronal que leva ao dano do sistema nervoso (Heresco-Levy, 2003; Tamminga, 1998; Goff and Coyle, 2001). Achados como migração neuronal aberrante, redução de conexões sinápticas e mesmo perda neuronal sem gliose em pacientes esquizofrênicos, são compatíveis com disfunções em sistema glutamato (Goff and Coyle, 2001).

A hipótese glutamatérgica na versão Olney and Farber (1995) ressalta o papel do Glutamato como ativador dos receptores NMDA em neurônios Gabaérgicos, que por sua vez mantém um tônus inibitório sobre vias excitatórias glutamatérgicas que inervam outras áreas corticais e subcorticais, principalmente do sistema límbico. O bloqueio dos receptores NMDA deste circuito diminui a inibição Gabaérgica sobre essas vias excitatórias, o que leva a uma hiperestimulação corticolímbica errática por perda do tono inibitório GABA. Deste modo, alterações primárias nos neurônios Gabaérgicos, por exemplo, por um processo de autoexcitotoxicidade, seriam equivalentes ao estado de

hipofunção NMDA. Um achado relevante neste espaço é a diminuição de neurônios Gabaérgicos no córtex cerebral de esquizofrênicos (Benes et al., 1991).

Também considera-se que através de vários mecanismos, as neurotrofinas estejam envolvidas na Esquizofrenia (Muglia et al., 2003; Thomé et al., 1998)

## **2.2. Neurotrofinas**

As Neurotrofinas são um grupo de proteínas diméricas de baixo peso molecular (aproximadamente 13 KDa), que afetam profundamente o desenvolvimento do sistema nervoso em todos os vertebrados. São ligantes extracelulares que afetam a diferenciação, manutenção e sobrevivência de células neuronais.

Na década de 50 (1953), foi identificado a primeira neurotrofina. Trata-se do Fator de Crescimento do Nervo (Nerve Growth Factor – NGF). Tal descoberta abriu, sem dúvida, um horizonte extremamente vasto na neurobiologia para a identificação e elucidação das funções celulares.

Quase trinta anos após a identificação do NGF, como o protótipo das neurotrofinas para neurônios do sistema nervoso autônomo, foi isolado em 1982, em neurônios de porcos, um homólogo do NGF, que foi chamado de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (Brain-Derived Neurotrophic Factor – BDNF). A partir de então, quatro membros adicionais da família das neurotrofinas foram identificados: Neurotrofina 3 (Neurotrophin 3 – NT3) em 1990, Neurotrofina 4/5 (Neurotrophin 4/5 – NT4/5) em 1991, Neurotrofina 6 (Neurotrophin 6 – NT6) em 1994 e Neurotrofina 7 (Neurotrophin 7 – NT7) em 1998 (Lessmann, Gottmann and Malsangio, 2003).

A descoberta dos receptores das neurotrofinas ocorreu várias décadas após a identificação do NGF, a primeira neurotrofina a ser identificada, e, sem dúvida, foi um avanço gigantesco na neurobiologia, especialmente porque forneceu ferramentas para a busca das rotas controladas pelas neurotrofinas. Estas vias de sinalização intracelular moduladas pelas neurotrofinas estão envolvidas não apenas em mecanismos patológicos relacionados a eventos da doença, como também na modulação de plasticidade fisiológica (Walz et al., 2000).

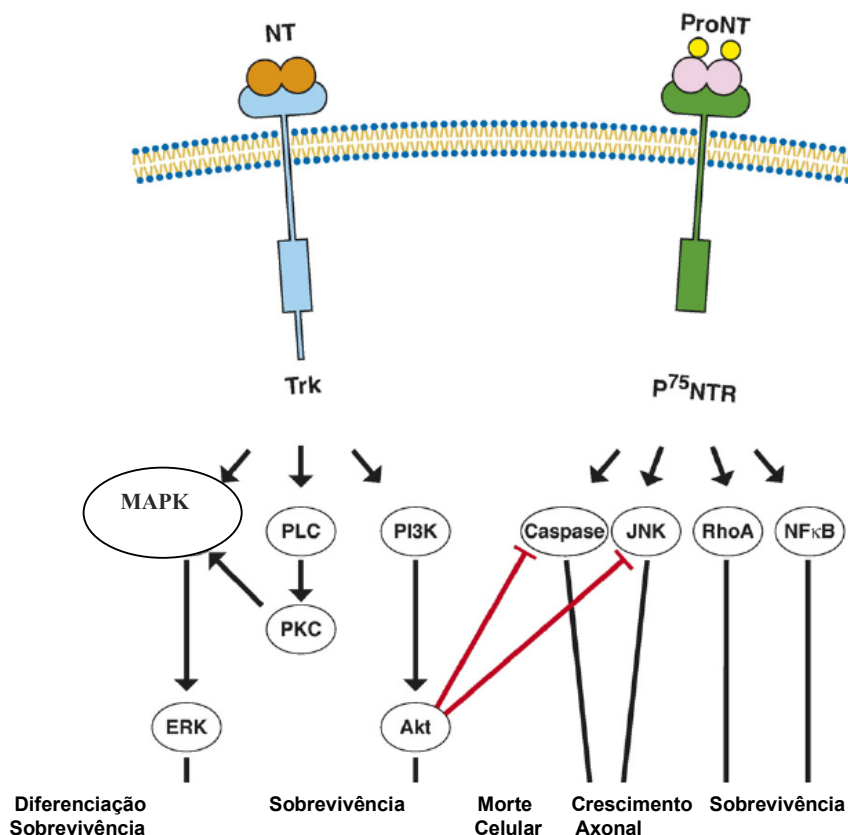
### **2.2.1. Receptores das Neurotrofinas**

Surpreendentemente ainda pouco se sabe sobre a produção de neurotrofinas pelos neurônios e sua secreção na matriz extra celular. Blochl and Thoenen (1995) mostraram que neurônios hipocampais secretam NGF em cultura. Também tem sido demonstrado que as neurotrofinas podem penetrar no SNC (sistema nervoso central) pelo transporte axonal retrógrado (Mufson et al., 1999). Os receptores de neurotrofina estão por todo o SNC e SNP (sistema nervoso periférico), desde o desenvolvimento fetal (Lewin and Barde, 1996). Existem dois tipos de receptores neurotrofinas, os de alta afinidade (TrK) e os de baixa afinidade (p75<sup>NTR</sup>).

#### 2.2.1.A - Receptores de neurotrofina, Tyrosine Kinase – (TrK - alta afinidade)

Os receptores de Trk são proteínas transmembrana que possuem intrinsecamente uma tropomiosina relacionada á uma atividade kinase. No sítio de ligação do receptor, a kinase é ativada, fosforilando o próprio receptor, bem como as proteínas essenciais para a tradução dos sinais, guiando as mudanças na transcrição genética, e conseqüente produção de proteínas. Três diferentes tipos de TrKs tem sido identificadas, nomeadas de TrkA, TrkB e TrkC (Chao et al., 1998). TrkA tem alta afinidade por NGF, TrkB tem alta afinidade pelo BDNF e NT4/5, enquanto TrkC tem alta afinidade pela NT3. Nos últimos anos, várias vias intracelulares foram demonstradas serem sinalizadas pela ativação dos receptores TrK: Ras, Rap-1, Rhoa, a família de proteína Cdc42qRac/RhoG, kinase ativadora de mitose (MAPK), ERK, NF-kB, phosphatidylinositol-3-OH kinase (PI3K) e phospholipase-C-C- $\gamma$  {PLC- $\gamma$ }, JNK kinase e caspase (Burckley BF, 2007; Patapoutian and Reichardt, 2001 ).

A figura A a seguir apresenta os receptores e suas vias.



**Figura A.** Neurotrofinas e suas vias : Trk e  $p^{75}$  NTR mediando vias sinalização.

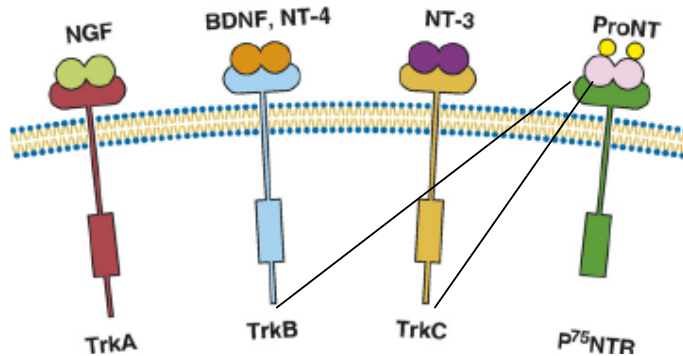
Pro-neurotrophin/NT imatura, no  $p^{75}$  NTR envia sinais de apoptose neuronal e NT maduras agem em Trk e  $p^{75}$  NTR promovendo sobrevivência, crescimento e diferenciação (Adaptada de Burcley , P.F. et al., 2007).

#### 1.1.1.B – Receptores de neurotrofina, pan-neurotrofina - $p^{75}$ NTR (baixa-afinidade)

As Neurotrofinas também se ligam com baixa afinidade ao receptor  $p^{75}$ NTR (Barbacid, 1995; Cheng and Mattson, 1994). Seu papel exato não é claro, mais acha-se que está envolvido na mediação da migração das células de Schwann, onde sabidamente sabe-se que os receptores Trk não estão ativados (Bibel et al., 1999; Khursigara et al., 2001; Roux and Barker, 2002). Adicionalmente, o  $p^{75}$ NTR parece atuar como um co-receptor que modula a sinalização dos receptores Trk. Esta relação cruzada entre os receptores Trk e  $p^{75}$ NTR, parece ser chave nos processos do SNC em que as neurotrofinas estão envolvidas (Kaplan and Miller, 2000).

Na presença de  $p^{75}$ NTR, a NT3 é muito menos efetivo em ativar a TrkA, e a NT3 e a NT-4/5 são muito menos efetivos em ativar a TrkB. Em outras palavras, a presença de  $p^{75}$ NTR aumenta a especificidade do TrkA e do TrkB aos seus ligantes primários, NGF e BDNF, respectivamente (Huang, Reichardt, 2003).

A figura B a seguir apresenta as neurotrofinas e seus receptores.



**Figura B.** Neurotrofinas e seus receptores.

O  $p^{75ntr}$  é um pan-receptor das neurotrofinas. NT4 e BDNF têm uma afinidade especial para TrkB, NGF para TrkA e NT3 para TrkC; contudo estudos mostram que esta neurotrofina pode ser ativada por TrkB e A em algumas situações. Legenda NT3: neurotrofina-3; NT4: neurotrofina 4; BDNF: Brain Derived Neurotrophic Factor; NGF: Nerve Growth Factor; TrkC, B ou A- Tyrosine-kinase C, B ou A e  $p^{75ntr}$  – receptor neurotrófico  $p^{75}$  (Adaptada de Schramm et al., 2005).

Estudos sobre as relações entre as neurotrofinas, seus receptores e os seus efeitos ainda estão em andamento e muito precisa ser compreendido, justamente devido a grande complexidade destas relações, além das cascatas específicas que ativam. Ou seja, as diferentes ativações dos Trks têm diferentes consequências nas diferentes pilhas neuronais. (Lewis et al., 2006; Huang and Reichardt, 2003). Em oncologia, por exemplo, já se sabe que quando o TrkC e/ou TrkA está significativamente expresso, o neuroblastoma é de melhor prognóstico, correlacionando-se com a sobrevivência do paciente.

Nestas breves observações, podemos ver que as neurotrofinas promovem um jogo excepcionalmente variado de respostas que requerem, por sua vez, um mecanismo altamente regulado de transdução de sinal (Schramm et al., 2005), onde o antagonismo

pode jogar um papel importante na biologia das neurotrofinas (Brodski, Schürch and Dechan, 2000).

O que se sabe, e parece ser consenso entre os autores, é que o aumento das neurotrofinas tem a função prioritária de proteger os neurônios da excitotoxicidade (Lessmann, Gottmann and Malcangio, 2003). Mesma função protetora descrita para os estabilizadores de humor Li e VPT (Shao, Young and Wang, 2005). Ou seja, as neurotrofinas têm sido descritas como promotoras da plasticidade neuronal, desempenhando papéis na neuroproteção e reorganização, funcionando como um mecanismo de compensação endógeno para promover regeneração e reparação no Sistema Nervoso Central (Felderhoff-Mueser et al., 2002). Existem várias evidências indicando que as neurotrofinas modulam a transmissão sináptica por mecanismos pré-sinápticos ou pós-sinápticos (Schuman, 1999).

Além deste efeito de regeneração, Kalb (2005) descreve que as neurotrofinas podem ser responsáveis pela sobrevivência ou morte neuronal. Este efeito paradoxal estaria associado a dois fatores, não necessariamente dependentes:

- a) Um relacionado à concentração das neurotrofinas;
- b) Outro, ao modo de ativação dos receptores.

Embora a maior parte dos autores descreva que o  $p75^{NTR}$  e Trk estão ligados à sobrevivência celular, há relatos na literatura que os receptores Trk possam, em algumas situações, causar a morte neuronal (Kalb, 2005).

### **2.3 Neurotrofina 3 (NT3)**

O gene NT3 está localizado no Cromossomo 12, segmento p13, e acha-se que é o gene ancestral das neurotrofinas. (Lewin and Barde, 1996; Maisonpierre et al., 1991). A estrutura da NT3 está relacionada com o NGF e BDNF (Ernfors et al., 1990; Hohn et al., 1990; Rosenthal et al., 1990), sendo a NT3 um membro da família dos fatores de crescimento nervosos. Apresenta níveis muito mais elevados de expressão durante o desenvolvimento pré-natal, especialmente no Hipocampo, neo-córtex e cerebelo, diferentemente do BDNF e NGF, seus níveis de incidência no SNC durante o desenvolvimento fetal são altos e reduzidos no cérebro adulto (Ernfors et al., 1990; Maisonpierre et al., 1990b). Logo após o nascimento, as outras neurotrofinas, especialmente o BDNF, aumentam seus níveis de expressão, chegando aos níveis do NT3 (Lessmann, Gottmann and Malcangio, 2003).

A NT3 induz a diferenciação neuronal dos precursores das células corticais (Ghosh and Greenberg, 1995) e aumenta a neurogênese do trato córtico-espinal (Schnell et al., 1994). Os neurônios hipotalâmicos expressam o TrKC, o receptor primário do NT3, o qual tem alta afinidade por este receptor, sugerindo que o NT3 possa influenciar os neurônios hipotalâmicos (Urfer et al., 1994).

Da mesma forma que o NGF e BDNF, a NT3 prolonga a sobrevivência dos neurônios sensoriais primários da crista e placa neural (Hohn et al., 1990). Isto pode ser essencial na sobrevivência dos neurônios adrenérgicos do lócus cerúleos, neurônios motores, neurônios simpáticos e sensoriais que mais tarde dependerão do BDNF e NGF (Farinas et al., 1994; Friedman et al., 1993).

A NT3 também é a primeira neurotrofina a ser expressa no Sistema Nervoso Periférico, promovendo a sobrevivência e a diferenciação de neurônios da medula, células de Purkinje, que também serão dependentes do NGF nos primeiros estágios pós-natais (Lessmann, Gottmann and Malcangio, 2003; Lindholm et al 1993; Ávila et al 1993).

Estudos imunobioquímicos em macacos demonstraram que o NT3 tem uma distribuição similar às demais neurotrofinas na substância cinzenta, sendo pouco distribuído no cerebelo, hipotálamo e tálamo. Por outro lado, nos gânglios basais o NT3 encontra-se distribuído, porém em concentrações inferiores ao BDNF e NGF. Na glia há uma expressão fraca de BDNF, NGF, NT3 e NT4. No Hipocampo, serão encontradas concentrações significativas de NT3 nas regiões CA2 e CA3 e no giro dentado (Zhang et al., 2006).

Shimazu e colaboradores (2006) demonstraram que o NT3 é amplamente distribuído no giro dentado hipocampal de ratos adultos, uma área que exhibe neurogênese significativa, e pode estar envolvida na memória espacial (Shimazu et al., 2006).

Gao e Pol (1999) sugeriram que o NT3 aumenta a liberação de GABA durante o período de desenvolvimento, quando o GABA é um potente despolarizador, mas não quando o GABA age como inibidor, sugerindo que o mecanismo pelo qual o NT3 pode influenciar o desenvolvimento neuronal ocorre via potenciação pré-sináptica do GABA. Além dos achados a cerca do seu importante papel nos primórdios do desenvolvimento neuronal, o NT3 também pode influenciar sinapses de neurônios maduros, em especial de neurônios gabaérgicos.

É importante lembrarmos que a transmissão sináptica GABAérgica é anterior à transmissão glutamatérgica no desenvolvimento do SNC (Reynolds and Brien, 1992; Chen, Trombley and Van den Pol, 1995, 1996; Ben-Ari et al. 1997). Devido ao relativo

potencial positivo de  $Cl^-$ , o GABA é excitatório, agindo como um despolarizante de potencial de membrana, potencial de ação evocado e liberação de cálcio citosólico (Obrietan and Van den Pol, 1995; Chen, Trombley and Van den Pol, 1996; Gao, Chen and Van den Pol, 1998). A transmissão sináptica excitatória mediada por receptores gabaérgicos pode compreender a maior força excitatória no desenvolvimento do hipotálamo e outras regiões do SNC (Ben-Ari et al. 1989; LoTurco et al. 1995; Obrietan and Van den Pol, 1995; Chen, Trombley and Van den Pol, 1996; Owens et al. 1996; Leinekugel et al. 1997; Gao, Chen and Van den Pol 1998).

Gao e Pol (1999) aplicaram intracelularmente K252a, um inibidor não seletivo da tyrosine kinase, que não foi capaz de bloquear o efeito da NT3. Em contraste, a aplicação de K252a aumentou o sinal espontâneo pós-sináptico (SPSC - spontaneous postsynaptic currents) através do NT3, o que é consistente, pois o NT3 produz indução pré-sináptica da tyrosine kinase. A diminuição de cálcio extracelular, através de BAPTA (um quelante do cálcio) ou por inibidor de canal de cálcio  $Cd^{+2}$  aumentam a frequência de SPSC mediante a presença do NT3, sugerindo que a entrada de cálcio na célula é facilitada por NT3.

## 2.4 NT3 e Esquizofrenia

No caso específico do possível papel da NT3 na patogênese da esquizofrenia, parece ser que neste caso, a origem de seu envolvimento está nos seus efeitos no desenvolvimento neuronal precoce, especialmente no hipocampo. Uma possível associação foi encontrada entre o polimorfismo genético Gly63Glu no gene NT3 e a esquizofrenia (Hattori and Nanko, 1995).

Virgos et al. (2001) não acharam uma maior frequência do alelo A3 (141 bp) de um polimorfismo dinucleotídeo no gene NT3, entre pacientes esquizofrênicos em relação aos controles. Porém, diferença significativa foi encontrada na distribuição entre os pacientes e o grupo controle feminino. Estes achados contradizem a diferença encontrada anteriormente na associação entre este alelo A3 deste polimorfismo na esquizofrenia em homens (Dawson et al., 1995).

Durany et al. (2001) observaram uma diminuição das concentrações de NT3 nas áreas do córtex frontal e parietal de cérebros de esquizofrênicos em análise pós-mortem, ainda que outro estudo cérebro pós-mortem de pacientes esquizofrênicos não mostrou nenhuma diferença de NT3 em nenhuma região do cérebro (Takahashi et al., 2000). Um estudo (Gilmore et al., 1997) comparativo entre esquizofrênicos e controles (pacientes com



patologias neurológicas), pelos níveis de NT3 no LCR (líquido céfalo raquidiano), mostrou que os pacientes esquizofrênicos têm níveis indetectáveis de NT3 no líquido. Já o grupo controle teve níveis mensuráveis de NT3. Isto pode sugerir que as doenças neurológicas podem ser causadas por uma elevação da NT3 devido a um possível mecanismo (por exemplo, uma infecção viral) em que a NT3 aumenta precocemente (intra-útero), alterando o desenvolvimento cerebral e/ou o contrário no caso da esquizofrenia (Gilmore et al., 1997).

A NT3 tem um papel central no desenvolvimento neuronal precoce e pode ser um candidato importante na fisiopatologia dos transtornos do neurodesenvolvimento como a esquizofrenia. Em relação a isto, encontrou-se no hipocampo de animais recém nascidos que os níveis de NT3 estavam maiores que outras neurotrofinas em várias outras regiões cerebrais (Maisonpierre et al., 1990a), sugerindo possível envolvimento da NT3 em disfunções do neurodesenvolvimento hipocampal. Além disto, a NT3 aumenta a sobrevivência de neurônios dopaminérgicos, indicando um possível papel na fisiopatologia de transtornos neuropsiquiátricos relacionados à dopamina como o Parkinson, Esquizofrenia e Síndrome de Tourette (Gall et al., 1992).

Há relatos que antidepressivos, porém não antipsicóticos, podem afetar os níveis de NT3 (Smith et al., 1995). Ainda sabe-se pouco para poder excluir a possibilidade dos efeitos de agentes psicotrópicos sobre os níveis de NT3 (Linden et al., 2000).

Ainda que medir os níveis de NT3 no soro possa ser uma limitação para os estudos, tem sido demonstrado que a NT3 cruza a barreira hematoencefálica e existe uma correlação positiva ( $r = 0.80$ ) entre o soro e níveis cerebrais de NT3, sugerindo que mudanças periféricas devem corresponder, pelo menos em parte, às mudanças de NT3 no SNC (Pan et al., 1998).

Com base no exposto acima, acredita-se que exista um envolvimento da NT3 na fisiopatologia da esquizofrenia e no mecanismo de ação de alguns fármacos usados no seu tratamento.

### 3. Referências Bibliográficas:

Abi-Dargham A, Laruelle M. Mechanisms of action of second generation antipsychotic drugs in schizophrenia: insights from brain imaging studies. *European Psychiatry* 2005; 20: 15-27.

Abi-Dargham A, Rodenheiser J, Zea-Ponce Y, Gil R, Kegeles LS, Weiss R, Cooper TB. Increased baseline occupancy of D2 receptors by dopamine in schizophrenia. *PNAS* 2000; 97: 8104-8109.

Avila MA, Varela-Nieto I, Romero G, Mato JM, Giraldez F, Van de Water TR, Represa J. Brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 support the survival and neuritogenesis response of developing cochleovestibular ganglion neurons. *Developmental Biology* 1993; 159: 266-275.

Barbacid M. Neurotrophic factors and their receptors. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7: 148–155.

Ben-Ari Y, Cherubini E, Corradetti R & Gaiarsa JL. Giant synaptic potentials in immature rat CA3 hippocampal neurons. *Journal of Physiology* 1989; 416: 303-325.

Ben-Ari Y, Khazipov R, Leinekugel X, Caillard O & Gaiarsa JL. GABA A, NMDA and AMPA receptors: a developmentally regulated 'menage a trois'. *Trends in Neurosciences* 1997, 20: 523-529.

Benes FM, McSparren J, San-Giovanni JP, Vincent SL. Deficits in small interneurons in cingulate cortex of schizophrenic and schizoaffective patients. *Arch Gen Psychiatry* 1991; 48: 996-1001.

Bibel M, Hoppe E, Barde YA. Biochemical and functional interactions between the neurotrophin receptors trk and p75NTR. *EMBO J.* 1999; 18: 616– 622.

Bloch A., Thoenen H. Characterization of nerve growth factor (NGF) release from hippocampal neurons: evidence for a constitutive and an unconventional sodium-dependent regulated pathway. *Eur. J. Neurosci* 1995; 7: 1220– 1228.

Brodski C, Schürch H, Dechan G. Neurotrophin-3 promotes the cholinergic differentiation of sympathetic neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 2000; 97: 9683-9688.

Buchanan RW, Carpenter WT. Concept of Schizophrenia. In: Sadock BJ, Sadock VA, editors. *Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry* 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005 : 1329-1345.

Buckley PF, Mahalik A, Pillai A, Terry Jr. Neurotrophins and schizophrenia. *Schizophr. Res.* 2007; 94 (1-3): 1-11.

Cannon M, Jones PB, Murray RM. Obstetric complications and Schizophrenia: Historical and metaanalytic review. *Am. J Psychiatry* 2002; 159: 1080-1092.

Chao M, Casaccia-Bonnel P, Carter B, Chittka A, Kong H, Yoon SO. Neurotrophin receptors: mediators of life and death. *Brain Res. Rev.* 1998; 26: 295– 301.

Cheng B, Mattson MP. NT-3 and BDNF protect CNS neurons against metabolic/excitotoxic insults. *Brain Res*, 1994; 640: 56– 67.

Chen G, Trombley PQ & van den Pol AN. GABA receptors precede glutamate receptors in hypothalamic development; differential regulation by astrocytes. *Journal of Neurophysiology* 1995; 74: 1473-1484.

Chen G, Trombley PQ & van den Pol AN. Excitatory actions of GABA in developing rat hypothalamic neurones. *Journal of Physiology* 1996, 494: 451-464.

Dawson E, Powell JF, Sham PC, Nothen M, Crocq MA, Propping P, Korner J, Rietschel M, van Os J, Wright P. An association study of a neurotrophin-3 (NT-3) gene polymorphism with schizophrenia. *Acta Psychiatr. Scand* 1995; 92: 425–428.

DeLisi LE. The genetics of schizophrenia: An update. In: *International Symposium: 100 years of Dementia Praecox*. Brazilian Association of Biological Psychiatry 1996.

Domino EF, Mirzoyan D, Tsukada H. N-methyl-D-aspartate antagonists as drug model of schizophrenia: a surprising link to tobacco smoking. *Progress Neuropsychopharmacol Biological Psychiatry* 2004; 28: 801-11

DSM-IV – Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais. 1995, 4ª edição. Porto Alegre. Editora Artes Médicas

Durany N, Michel T, Zochling R, Boissl KW, Cruz-Sanchez FF, Riederer P, Thome J. Brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin 3 in schizophrenic psychoses. *Schizophr Res* 2001; 52: 79–86.

Egan MF, Hyde TM. Schizophrenia: neurobiology. In: Sadock BJ, Sadock VA, editors. *Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2000; 1129-1147.

Ernfors P, Ibanez CF, Ebendal T, Olson L, Persson H. Molecular cloning and neurotrophic activities of a protein with structural similarities to nerve growth factor: developmental and topographical expression in the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1990; 87: 5454– 5458.

Farinas I, Jones KR, Backus C, Wang XY, Reichardt LF. Severe sensory and sympathetic deficits in mice lacking neurotrophin-3. *Nature* 1994; 369: 658– 661.

Felderhoff-Mueser U, Sifringer M, Pesditschek S, Kuckuck H, Moysich A, Bittigau P, Ikonomidou C. Pathways Leading to Apoptotic Neurodegeneration Following Trauma to the Developing Rat Brain. *Neurobiology of Disease* 2002; 11: 231-245.

Fredman R. Schizophrenia. *New England Journal of Medicine* 2003; 349: 1738-49.

Friedman WJ, Ibanez CF, Hallbook F, Persson H, Cain LD, Dreyfus CF, Black IB. Differential actions of neurotrophins in the locus coeruleus and basal forebrain. *Exp. Neurol.* 1993; 119: 72– 78.

Gall, CM, Gold SJ, Isackson PJ, Seroogy KB. Brain derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNAs are expressed in ventral midbrain regions containing dopaminergic neurons. *Mol. Cell. Neurosci.* 1992; 3: 56– 63.

Gama CS, Andreazza AC, Kunz M, Berk M, Abreu PA, Kapczinski F. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Neuroscience letters* 2007; 420 (1): 45-48.

Gao XB, Chen G & van den Pol AN. GABA-dependent firing of glutamate-evoked action potentials at AMPA/kainate receptors in developing hypothalamic neurons. *Journal of Neurophysiology* 1998; 79: 716-726.

Gao XB, van den Pol AN. Neurotrophin-3 potentiates excitatory GABAergic synaptic transmission in cultured developing hypothalamic neurons of the rat. *Journal of Physiology* 1999; 518: 81-95.

Gattaz WF, Lara DR, Elkis H, Portela LV, Gonçalves CA, Tort AB, Henna J, Souza DO. Decreased S-100 beta protein in schizophrenia: preliminary evidence. *Schiz Res* 2000; 43: 91-95.

Ghosh A, Greenberg ME. Distinct roles for bFGF and NT-3 in the regulation of cortical neurogenesis. *Neuron* 1995; 15: 89-103.

Gilmore JH, Jarskog LF, Lindgren JC, McEvoy JP, Xiao H. Neurotrophin-3 levels in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia or medical illness. *Psychiatry Res.* 1997; 73: 109– 113.

Goff DC, Coyle JT. The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2001; 158: 1367-1377.

Gottesman I. *Schizophrenia Genesis: The origins of Madness.* New York: WH Freeman 1991.

Hashimoto K, Shimizu E, Iyo M. Critical role of brain-derived neurotrophic factor in mood

disorders. *Brain Res. Rev.* 2004; 45: 104-114.

Hattori M, Nanko S. Association of neurotrophin-3 gene variant with severe forms of schizophrenia. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995; 209: 513– 518.

Heresco-Levy U. Glutamatergic neurotransmission modulation and the mechanism of antipsychotic atypicality. *Progress in neuropsychopharmacology & biological psychiatry* 2003; 27: 1113-23.

Hirayasu Y, McCarley RW, Salisbury DF, Tanaka S, Know JS, Frumin M, Snyderman D, Yurgelun-Todd D, Kikinis R, Jolesz FA. Planum temporale and Heschl gyrus volume reduction in schizophrenia: a magnetic resonance imaging study of first-episode patients. *Arch Gen Psychiatry* 2000; 57: 692-699.

Hohn A, Leibrock J, Bailey K, Barde YA. Identification and characterization of a novel member of the nerve growth factor/brainderived neurotrophic factor family. *Nature* 1990; 344: 339– 341.

Huang EJ and Reichardt LF. TRK receptors : Roles in Neuronal Signal Transduction. *Annual Review of Biochemistry* 2003; 72: 609-642.

Jablenski A, Sartorius N, Emberg G. Schizophrenia: Manifestations, incidence and course in different cultures. Cambridge University Press, Cambridge 1992.

Kalb R. The protean actions of neurotrophins and their receptors on the life and death of neurons. *Trends in Neuroscience* 2005; 28: 5-11.

Kaplan DR, Miller FD. Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2000; 10: 381– 391.

Kapur S. How antipsychotics become anti-“psychotic”- from dopamine to salience to psychosis. *Trends Pharmacol Sci.* 2004; 25: 402-406

Kendler KS. Schizophrenia: Genetics. In: Sadock BJ, Sadock VA, editors. Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2000; 1147-1158.

Kim JS, Kornhuber HH, Schmid-Burgk W, Hollzmuller B. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenia patients and a new hypothesis on schizophrenia. *Neuroscience Letters* 1980; 20: 379-382.

Khursigara G, Bertin J, Yano H, Moffett H, DiStefano PS, Chao MV. A prosurvival function for the p75 receptor death domain mediated via the caspase recruitment domain receptor-interacting protein 2. *J. Neurosci.* 2001; 21: 5854– 5863.

Krystal J, Belger A, D'Souza C, Anand A, Charney DS, Aghajanian GK. Therapeutic implications of the hyperglutamatergic effects of NMDA antagonism. *Neuropsychopharmacology* 1999; 21: S143-S157.

Lara DR, Wolf AL, Lobato MI, Baroni G, Kapczinski F. Clozapine-induced neuroleptic-malignant syndrome: an interaction between dopaminergic and purinergic systems? *J Psychopharmacology* 1999; 13:318-319.

Laruelle M, Abi-Dargham A, Van Dyck CH, Gil R, D'Souza CD, Erdos J, McCance E, Rosenblatt W, Fingado C, Zoghbi SS, Baldwin RM, Seibyl JP, Krystal JH, Charney DS & Innis RB. Single-photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *PNAS* 1996; 93: 9235-9240.

Leinekugel X, Medina I, Khalilov I, Ben-Ari Y & Khazipov R. Ca<sup>2+</sup> oscillations mediated by the synergistic excitatory actions of GABA-A and NMDA receptors in the neonatal hippocampus. *Neuron* 1997; 18: 243-255.

Lesch KP. Schizophrenia. Weird world inside the brain. *Lancet* 2001; 358: s59.

Lessmann V, Gottmann K, Malcangio M. Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Progress in Neurobiology* 2003; 69: 341-374.

Lewin GR, Barde YA. Physiology of the neurotrophins. *Annu. Rev. Neurosci.* 1996; 19: 289–317.

Lewis MA, Huniha L, Franco D, Robertson B, Palmer J, Laurent DR, Balasubramania BN, Li Y, Westphal R. Identification and Characterization of Compounds That Potentiate NT-3 Mediated Trk Receptor Activity. *Molecular Pharmacology* 2006; 69:1396-1404.

Lieberman J, Chakos M, Wu H, Alvir J, Hoffman E, Robinson D, Bilder R. Longitudinal Study of Brain Morphology in First Episode Schizophrenia. *Biol Psy* 2001; 49: 487- 499

Linden AM, Vaisanen J, Lakso M, Nawa H, Wong G, Castren E, Expression of neurotrophins in rat brain after administration of antipsychotic and psychotropic agents *J. Mol. Neurosci.* 2000; 14: 27–37.

Lindholm D, Castren E, Tsoulfas P, Kolbeck R, Berzaghi MP, Leingartner A, Heisenberg CP, Tessarollo L, Parada LF, Thoenen H. Neurotrophin-3 induced by tri-iodothyronine in cerebellar granule cells promotes Purkinje cell differentiation. *The Journal of cellof biology* 1993; 122: 443-450.

Lindholm D, Heumann R, Meyer M, Thoenen H. Interleukin-1 regulates synthesis of nerve growth factor in non-neuronal cells of rat sciatic nerve. *Nature* 1987; 330: 658– 659.

LoTurco JJ, Owens DF, Heath MJS, Davis MBE & Kriegstein AR. GABA and glutamate depolarize cortical progenitor cells and inhibit DNA synthesis. *Neuron* 1995; 15:1287-1298.

Maisonpierre PC, Belluscio L, Friedman B, Alderson RF, Wiegand SJ, Furth ME, Lindsay RM, Yancopoulos GD. NT-3, BDNF, and NGF in the developing rat nervous system: parallel as well as reciprocal patterns of expression. *Neuron* 1990a; 5: 501–509.



Maisonpierre PC, Belluscio L, Squinto S, Ip NY, Furth ME, Lindsay RM, Yancopoulos GD. Neurotrophin-3: a neurotrophic factor related to NGF and BDNF. *Science* 1990b; 247: 1446–1451.

Maisonpierre PC, Le Beau MM, Espinosa III R, Ip NY, Belluscio L, de la Monte SM, Squinto S, Furth ME, Yancopoulos GD. Human and rat brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3: gene structures, distributions, and chromosomal localizations. *Genomics* 1991; 10: 558–568.

McGuffin P, Farmer A, Harvey I. A polydiagnostic application of operational criteria in studies of psychotic illness. Development and reliability of the OPCRIT system. *Arch Gen Psychiatry* 1991; 48(8): 764-70.

McGuffin P, Owen MJ, Farmer AE. Genetic basis of Schizophrenia. *Lancet* 1995; 346: 678-682.

Mufson EJ, Kroin JS, Sendera TJ, Sobreviela T. Distribution and retrograde transport of trophic factors in the central nervous system: functional implications for the treatment of neurodegenerative diseases. *Prog. Neurobiol.* 1999; 57: 451– 484.

Muglia P, Vicente A, Verga M, King N, Macciardi F, Kennedy JL. Association between the BDNF gene and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2003; 8: 146-7.

Miyamoto S, LaMantia AS, Duncan GE, Sullivan P, Gilmore JH, Lieberman JA. Recent advances in the neurobiology of Schizophrenia. *Mol Interv* 2003; 3: 27-39.

Obrietan K & van den Pol AN. GABA neurotransmission in the hypothalamus: developmental reversal from Ca<sup>2+</sup> elevating to depressing. *Journal of Neuroscience* 1995; 15: 5065-5077.

Olney JW, Farber NB. Glutamate Receptor Dysfunction and Schizophrenia. *Arch Gen Psy* 1995; 52: 998-1007.

Owens DF, Boyce LH, Davis ME & Kriegstein AR. Excitatory GABA responses in embryonic and neonatal cortical slices demonstrated by gramicidin perforated-patch recordings and calcium imaging. *Journal of Neuroscience* 1996; 16: 6414-6423.

Pan W, Banks WA, Kastin AJ. Permeability of the blood–brain barrier to neurotrophins. *Brain Res.* 1998; 788: 87–94.

Patapoutian A, Reichardt LF. Trk receptors: mediators of neurotrophin action. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2001; 11: 272– 280.

Pearlson GD. Neurobiology of Schizophrenia. *Ann Neurol* 2000; 48: 556-556.

Prasad S, Semwal P, Deshpande S, Bhatia T, Nimgaonkar VL, Thelma BK. Molecular genetics of schizophrenia: past, present and future. *J Biosci* 2002; 27: 35-52.

Remy P, Samsom Y. The role of dopamine in cognition: evidence from functional imaging studies. *Current Opinion in Neurology* 2003; 16: S37-41.

Reynolds JD & Brien JF. Ontogeny of glutamate and  $\gamma$ -aminobutyric acid in the hippocampus of the guinea pig. *Journal of Developmental Physiology* 1992; 18: 243:252.

Rosenthal A, Goeddel DV, Nguyen T, Lewis M, Shih A, Laramée GR, Nikolics K, Winslow JW. Primary structure and biological activity of a novel human neurotrophic factor. *Neuron* 1990; 4: 767– 773.

Roux PP, Barker PA. Neurotrophin signaling through the p75 neurotrophin receptor. *Prog. Neurobiol.* 2002; 67: 203– 233.

Sanders J, Gill M. Unravelling the genome: a review of molecular genetic research in schizophrenia. *Ir J Med Sci* 2007; 176: 5-9.

Schnell L, Schneider R, Kolbeck R, Barde YA, Schwab ME. Neurotrophin-3 enhances sprouting of corticospinal tract during development and after adult spinal cord lesion. *Nature* 1994; 367: 171-173.

Schramm A, Schulte JH, Astrahantseff K, Apostolov O, Limpt V van, Sieverts H, Kuhfittig-Kulle S, Pfeiffer P, Versteeg R, Eggert A. Biological Effects of TrKA and TrKB receptor signaling in neuroblastoma. *Cancer Letters* 2005; 228:143-153.

Schuman EM. Neurotrophin regulation of synaptic transmission. *Current Opinion in Neurobiology* 1999; 9: 105-109.

Sedvall G, Farde L. Chemical brain anatomy in schizophrenia. *Lancet* 1995; 346: 743-49.

Seeman P, Tallerico T. Atypical antipsychotics which elicit little or no Parkinson bind more loosely to D2 receptors, yet occupy high levels of these receptors. *Molecular Psychiatry* 1998; 3: 123-134.

Shao L, Young LT, Wang JF. Chronic treatment with mood stabilizers lithium and valproate prevents excitotoxicity by inhibiting oxidative stress in rat cerebral cortical cells. *Biological Psychiatry* 2005; 58: 879-884.

Shimazu K, Zhao M, Sakata K, Akbarian S, Bates B, Jaenisch R, Lu B. NT-3 facilitates hippocampal plasticity and learning and memory by regulating neurogenesis. *Learning and Memory* 2006; 3(3): 307-315.

Soares JC, Innis RB. Neurochemical brain imaging investigations of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 1999; 46: 600-615.

Takahashi M, Shirakawa O, Toyooka K, Kitamura N, Hashimoto T, Maeda K, Koizumi S, Wakabayashi K, Takahashi H, Someya T, Nawa H. Abnormal expression of brain-derived neurotrophic factor and its receptor in the corticolimbic system of schizophrenic patients. *Mol. Psychiatry* 2000; 5: 293– 300.

Tamminga CA, Holcomb HH. Phenotype of Schizophrenia: a review and formulation. *Mol Psychiatry* 2005; 10: 27-39.

Tamminga CA. Schizophrenia and glutamatergic transmission. *Critical Reviews in Neurobiology* 1998; 12: 21-36.

Thome J, Foley P, Riederer P. Neurotrophic factors and the maldevelopment hypothesis of schizophrenic psychosis. *J Neural Transm* 1998; 105: 85-100.

Thompson PM, Vidal C, Giedd JN, Gochman P, Blumenthal J, Nicolson R, Toga AW, Rapoport JL. Mapping adolescent brain change reveals dynamic wave of accelerated gray matter loss in very early-onset schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001; 98: 11650–11655.

Urfer R, Tsoulfas P, Soppet D, Escandon E, Parada LF, Presta LG. The binding epitopes of neurotrophin-3 to its receptors trkC and gp75 and the design of a multifunctional human neurotrophin. *Embo Journal* 1994; 13: 5896-5909.

Virgos C, Martorell L, Valero J, Figuera L, Civeira F, Joven J, Labad A, Vilella E. Association study of schizophrenia with polymorphisms at six candidate genes. *Schizophr. Res.* 2001; 49: 65–71.

Walz R, Lenz G, Roesler R, Vianna MMR, Marins V, Brentani R, Rodnight R, Izquierdo I. Time-dependent enhancement of inhibitory avoidance retention and MAPK activation by post-training infusion of nerve growth factor into CA1 region of hippocampus of adult rats. *European Journal of Neuroscience* 2000; 12: 2185-2189.

Weinberger DR. From Neuropathology to neurodevelopment. *Lancet* 1995; 346: 552-57.

Winterer G, Weinberger DR. Genes, dopamine and cortical signal-to-noise ratio in schizophrenia *TRENDS in neuroscience* 2004; 27: 683-90.

Zhang HT, Li LY, Zou XL, Song XB, Hu YL, Feng ZT, Wang TTH. The immunohistochemical distribution of NGF, BDNF, NT-3, NT-4 in the brains of adult Rhesus monkeys. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 2006; 9: 1-66.

#### **4. Justificativa**

Devido a todas as múltiplas funções da NT3 nas células neuronais e na glia, sua interação com outras neurotrofinas, bem como seu papel na patogênese de doenças neuropsiquiátricas incluindo a Esquizofrenia, justifica-se mais estudos com esta neurotrofina (Gal Shoval, Abraham Weizman, 2004).

Ainda não foram realizados estudos sobre os níveis séricos de NT3 em pacientes esquizofrênicos, bem como a avaliação da relação dos níveis de NT3 e algumas variáveis clínicas.

## **5. Objetivos**

### **5.1. Objetivo Geral**

Determinar se há associação entre os níveis séricos de NT3 com a Esquizofrenia e algumas variáveis clínicas.

### **5.2. Objetivos Específicos**

5.2.1. Comparar níveis séricos de NT3 entre pacientes esquizofrênicos homens e controles saudáveis também do sexo masculino.

5.2.2. Determinar se existe correlação entre níveis séricos de NT3 e variáveis clínicas de pacientes esquizofrênicos (idade do paciente, idade do diagnóstico de esquizofrenia, tempo de doença, tipo e dose equivalente de antipsicótico em mg de clorpromazina e curso da doença pela pontuação na escala BPRS-A).

## 6. Materiais e Métodos

### 6.1 Delineamento

Este é um estudo transversal observacional de caso-controle com casos prevalentes, onde a montagem foi feita pelo desfecho, sendo este desfecho estático.

### 6.2 Amostras

O cálculo do tamanho mínimo da amostra foi feito com o software power and precision versão 2. O número mínimo calculado para haver uma diferença estatisticamente significativa foi de 24.

#### 6.2.1. Critérios de inclusão:

Foram avaliados 46 indivíduos do sexo masculino entre 18 e 35 anos (para reduzir as chances de haver doenças neurológicas não relacionadas com o estudo e cuja prevalência aumenta com a idade).

36 foram Pacientes - Indivíduos portadores do Diagnóstico de Esquizofrenia segundo critérios do DSM IV, provenientes do Ambulatório de Esquizofrenia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e 10 indivíduos controles saudáveis sem história de esquizofrenia em parentes de primeiro grau que trabalham no mesmo hospital.

Os Pacientes portadores de esquizofrenia deveriam estar utilizando apenas um dos três tipos de antipsicóticos de escolha para o estudo (haloperidol, risperidona e clozapina).

#### 6.2.2. Critérios de exclusão:

- (a) História de doença neurológica;
- (b) História de tumor cerebral;
- (c) História de doenças tireóide, bem com doença grave hepática ou cardíaca;
- (d) História de dependência psicoativa bem como psicose alcoólica ou tóxica;
- (e) Outros diagnósticos psiquiátricos.



### 6.3 Avaliação diagnóstica

Foram aferidos a idade do paciente, a idade do diagnóstico de esquizofrenia, tempo de doença, o tipo de neurolépticos usado, dose em mg de clorpromazina (haloperidol ou risperidona ou clozapina) e todos os outros itens incluídos na escala aplicada – “Brief Psychiatry Rating Scale- Anchored” (BPRS-A) (Romano e Elkis, 1996).

A escala BPRS-A foi aplicada por psiquiatras com experiência clínica que tiveram treinamento prévio na mesma.

### 6.4 Local de execução

- Os pacientes foram avaliados no Ambulatório de Esquizofrenia do PRODESQ (Programa de Esquizofrenia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA).
- As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Psiquiatria Molecular do HCPA.

### 6.5 Dosagem de NT3

Foram coletados cinco mililitros de sangue por punção venosa de cada sujeito e colocados em um tubo a vácuo sem anticoagulante. O sangue foi imediatamente centrifugado a 3000 x g por 5 minutos, e o soro congelado a -70°C, podendo ter ficado até 6 meses para ser analisado.

Níveis séricos de NT3 são dosados por ELISA de captura, usando kits comerciais segundo instruções do fabricante (Chemicon, USA). Placas contendo 96 poços revestidas durante 24h com a amostra diluída (1:2) em diluente específico para amostras. Então, os poços lavados 4 vezes com diluentes específicos e incubados com anticorpos monoclonais de rato anti-NT3 diluídos 1:1000 por 1h e incubados a temperatura ambiente por 2h. Após a lavagem, é feita uma segunda incubação anticorpo anti-coelho conjugado com peroxidase diluído 1:1000 por 1h em temperatura ambiente. Depois da adição de estreptavidina, substrato e solução de parada, a quantidade de NT3 é determinada (absorbância em 450 nm). A curva padrão demonstra uma relação direta entre densidade óptica (OD) e concentração de NT3. Proteínas totais são dosadas pelo método de Lowry usando soro fetal bovino como padrão.

## 6.6 Análise estatística

Para o tratamento estatísticos utilizamos o programa estatístico SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*) 15.0 para Windows para compilação e análise dos dados. A comparação entre os níveis de NT3 entre casos e controles, foi feita pelo teste de Mann-Whitney U e teste t de Student, para dados não-paramétricos e paramétricos respectivamente. ANOVA foi usada para a análise de variância entre os grupos de diferentes tratamentos para dados paramétricos e Kruskal-Wallis para dados não paramétricos.

Para avaliar a relação da idade, idade do primeiro episódio, duração da doença e BPRS com os níveis de NT3 foi utilizada a correlação de Spearman.

Como os pacientes do grupo controle apresentaram idade inferior a praticamente todos os pacientes no grupo em estudo, isto gerou alta colinearidade entre as variáveis, não sendo possível separar o efeito da idade do grupo.

Os dados foram apresentados pela média  $\pm$  DP, e o valor de  $p < 0.05$  foi considerado como estatisticamente significativo.

## **7. Aspectos éticos**

Todos os pacientes assinaram o termo de consentimento informado previamente ao estudo. Foi assegurada a ausência de vinculação da concordância em participar do estudo com a continuidade do atendimento no ambulatório de esquizofrenia do PRODESQ – programa de atendimento do ambulatório de esquizofrenia e demências.

Este estudo esteve de acordo com as Declaração de Helsinki e abrangeu os princípios bioéticos de autonomia, beneficência, não-maleficência, veracidade e confidencialidade, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS, Brasil.

**8. Artigo - Published in Neuroscience Letters 440 (2008) 197–201**

Received 23 November 2007

Received in revised form 10 April 2008

Accepted 10 April 2008

**Decreased serum neurotrophin-3 in chronically medicated schizophrenic males**

Haroldo Evangelista Vargas <sup>a,\*</sup>, Clarissa Severino Gama <sup>a,b,c,d</sup>, Ana Cristina Andreazza <sup>a,b,e</sup>, Dalton Medeiros <sup>d</sup>, Laura Stertz <sup>b</sup>, Gabriel Fries <sup>b</sup>, Joana Palha <sup>f</sup>, Keila Maria Cereser <sup>a,b,e</sup>, Michael Berk <sup>c,g,h</sup>, Flavio Kapczinski <sup>a,b,e</sup>, Paulo Silva Belmonte-de-Abreu <sup>a,b,d</sup>.

*a Programa de Pós-Graduação em Medicina: Psiquiatria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Ramiro Barcelos, 2400 – 2o andar, 90035 003 Porto Alegre, RS, Brazil*

*b Laboratório de Psiquiatria Molecular, Centro de Pesquisas, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350, 90035-003 Porto Alegre, RS, Brazil*

*c Department of Clinical and Biomedical Sciences, Barwon Health, University of Melbourne, Geelong, VIC, Australia*

*d Schizophrenia Program, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350, 90035 003 Porto Alegre, RS, Brazil*

*e Bipolar Disorders Program, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350, 90035 003 Porto Alegre, RS, Brazil*

*f Life and Health Sciences Research Institute (ICVS), School of Health Sciences University of Minho, 4710-057 Braga, Portugal*

*g Orygen Research Centre, Parkville, Australia*

*h Mental Health Research Institute, Parkville, Australia*

\* Corresponding author. Tel.: +55 48 32048538; fax: +55 48 32470090.

*E-mail address:* haroldovargas@terra.com.br (H.E. Vargas).

## Abstract

There is evidence that major psychiatric disorders such as schizophrenia (SZ) are associated with deregulation of synaptic plasticity with downstream alterations of neurotrophins. NT3 is an important neurotrophin in the central nervous system, and performs key biological functions, such as promoting the survival, differentiation, and plasticity of neurons. NT3 has a central role in the early neuronal development; enhancing the survival of dopaminergic neurons, suggesting possible involvement in the pathophysiology of dopamine related neuropsychiatric disorders such as SZ. Variations in the NT3 gene increase the risk of SZ. Three groups of chronically medicated DSM-IV patients with SZ, on treatment with clozapine ( $n = 12$ ), haloperidol ( $n = 12$ ), risperidone ( $n = 12$ ) and 10 healthy controls had 5ml blood samples collected by venipuncture. NT3 serum levels were assessed using sandwich-ELISA and were significantly lower in SZ patients ( $p < 0.005$ ) when compared to either controls. These findings suggest that the NT3 signaling system may play a role in the pathophysiology of SZ and might be related to the course of illness or to treatment variables. Longitudinal studies are warranted.

© 2008 Published by Elsevier Ireland Ltd.

*Keywords:* Neurotrophins, NT-3; BDNF, Schizophrenia; Antipsychotics.

## Introduction

There is an increasing recognition that schizophrenia (SZ) could be associated with deregulation of synaptic plasticity with downstream alterations of neurotrophins [2,23]. The neurotrophins have been described as neuronal plasticity promoters, with a neuroprotection and reorganization role, working with an endogenous compensation mechanism to promote regeneration and repair the Central Nervous System (CNS) [9]. Nerve growth factor (NGF), brain derived neurotrophic factor (BDNF) and neurotrophin 3 (NT3) are the most widely distributed neurotrophins in the CNS, and impact many biological functions such as neuronal survival, differentiation, and plasticity [37]. NT3 prolongs the survival of primary sensory neurons in the neural plate and crest [19]. This might be essential for the survival of adrenergic neurons in the locus ceruleus, as well as motor, sympathetic and sensory neurons that might additionally depend on BDNF and NGF [8,10].

The NT3 gene is located on chromosome 12, segment p13, and it is believed to be the neurotrophin ancestral gene [24,29]. In contrast to BDNF and NGF, NT3 displays higher levels of expression during pre-natal development, especially in the hippocampus, neo-cortex and cerebellum. Lower levels are seen in the adult brain [7,28].

Higher levels of NT3 have been detected in the hippocampus of newborn animals compared to other neurotrophins, and in other brain areas [27], suggesting a possible involvement of NT3 in hippocampus neurodevelopment, and developmental dysfunction. NT3 seems to have a central role in the early neuronal development; enhancing the survival of dopaminergic neurons, suggesting possible NT3 involvement in the physiopathology of dopamine related neuropsychiatric disorders such as SZ [11]. This is concordant with the neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia [22].

An association was found between polymorphisms of the NT3 gene and SZ [5,18]. NT3 concentrations were undetectable in cerebrospinal fluid of SZ patients, while control patients with neurological disorders had detectable NT3 levels [16]. In post-mortem brain tissue from SZ patients, NT3 concentrations in the frontal and parietal cortical areas were significantly lower in patients than in controls [6]. A significantly diminished expression of the tyrosine kinase linked growth factor receptors, TrkB mRNA and TrkC mRNA in patients with SZ has been described. Those two receptors are influenced by BDNF and NT3, respectively, in the dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC). Since neurons in the DLPFC

integrate signals to various cortical and subcortical regions, these reductions in TrkB and TrkC may compromise the function in schizophrenia [50]. However, in other post-mortem studies, NT3 and TrkC mRNA (encoding the receptor tyrosine kinase for NT3) levels were unchanged [17,45].

Previous studies have reported a significant effect of antidepressant exposure, but not antipsychotic exposure on NT3 [26,43]. Despite that finding, it is not possible to definitively rule out the effects of different antipsychotics agents on this neurotrophin in individuals with SZ. The aim of this study was to measure serum NT3 levels in males with SZ compared to healthy males controls, and to assess its possible association with clinical variants of SZ.

## Methods

This study protocol was approved by the Ethical Committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS, Brazil (HCPA). In accordance with the Declaration of Helsinki, all subjects were advised about the procedure and signed informed consent.

Thirty-six male SZ outpatients from the HCPA Schizophrenia Program, and 10 healthy controls were enrolled in this study. All SZ patients were on chronic medication, with 12 subjects taking clozapine, 12 on risperidone and 12 on haloperidol, all as monotherapy. None of the patients and controls had any neurological disease, brain tumor, thyroid disease, severe hepatic disease, severe cardiac disease or any other psychiatric diagnosis. This group of patients had to fulfill Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders; fourth Edition (DSM-IV) [3] criteria for SZ and their psychopathological state were measured with Brief Psychiatry Rating Scale (BPRS) [38]. The control group consisted of 10 male medication free healthy volunteers without a personal or first-degree family history of SZ.

Each subject had 5ml blood samples collected by venipuncture without anticoagulants, and serum was obtained by centrifugation at 3000×g for 5 min and kept frozen at -70 °C for up to 6 months, until the assay. NT3 serum levels were assessed using sandwich-ELISA.

Samples were processed for NT3 measurement according to the manufacturer's instructions (Chemicon, USA). Microtiter plates (96-well flat-bottom) were coated for 24 h with the samples diluted 1:2 in sample diluent and the standard curve ranged from 7.8 to 500 pg of NT3. Then, plates were washed four times with sample diluents, and monoclonal anti-NT3 rabbit antibody diluted 1:1000 in sample diluent was incubated for 2 h at room temperature. After washing, a second incubation with anti-rabbit antibody peroxidase conjugated diluted 1:1000 for 1 h at room temperature was carried out. After addition of streptavidin-enzyme, substrate and stop solution, the amount of NT3 was determined. Absorbance was set at 450 nm. The standard curve demonstrates a direct relationship between optical density (OD) and NT3 concentration. We accepted intra- and inter-assay variation of ±4.0 and ±9.4%, respectively. Total protein was measured by Lowry's method using bovine serum albumin as a standard.

Analysis was performed using Statistical Product and Service Solutions Version 15.0 (SPSS). Between-group comparisons were made by Mann–Whitney *U*-test and Student's *t*-



test, for non-parametric and parametric data, respectively. To analyze the variance between groups ANOVA was performed for parametric data and Kruskal–Wallis for non-parametric data. Relationships between variables were assessed with Spearman’s product-moment correlation coefficient. Data were presented as mean±S.D. and  $p$ -values  $< 0.05$  were considered significant.

## Results

The subjects' demographic and clinical characteristics are summarized in Tables 1 and 2. Serum NT3 levels were significantly lower in patients with SZ, both when pooled together or separated by medication class, when compared to controls (Fig. 1 and Table 1). Among SZ patients, there were no differences in NT3 levels between patients taking clozapine, haloperidol or risperidone (Table 2). Serum NT3 levels failed to show any correlation with age ( $r = -0.168$ ,  $p = 0.376$ ), age at the first episode ( $r = 0.096$ ,  $p = 0.615$ ), illness duration ( $r = -0.218$ ,  $p = 0.246$ ), antipsychotic daily dose ( $r = 0.026$ ,  $p = 0.891$ ), inmgof chlorpromazine equivalents, and BPRS scores ( $r = 0.127$ ,  $p = 0.502$ ).

## Discussion

As far as we aware, this is the first report of decreased serum NT3 levels in chronically medicated patients with SZ. We found decreased NT3 serum levels in patients with SZ, treated with clozapine, risperidone or haloperidol, compared to normal controls. Previous evidence from animal models, suggests a possible compensatory mechanism of NT3 expression some neuronal populations, secondary to decreases in BDNF [1]. These compensatory effects between NT3 and BDNF occur specifically in the case of blunted signaling of both neurotrophins [30]. Further NT3 infusion increased BDNF mRNA expression in the cerebral cortex [40], and induced BDNF-like effects inducing cortical TrkB phosphorylation [15].

There is speculation that the NT3 elevation observed in BD by our group [49], occurs in parallel with the BDNF decrease in depressive and manic episodes of BD [4]. This NT3 increase could work as a compensatory physiological response to the allostatic load [21] or oxidative stress [31] that is described in mood episodes. This is in line with previous findings of increased NT3 mRNA expression in the dentate gyrus and locus coeruleus after immobilization stress [43] and of attenuation of disordered mood previously induced by the learned helplessness and forced swim test paradigms following NT3 infusion [42]. Such experimental paradigms reduce levels of BDNF, and support reciprocal interactions of neurotrophins. It would have been useful in this study to have a simultaneous measure of BDNF to assess reciprocal interactions of neurotrophins.

A possible explanation for the differential pattern of damage in SZ and BD, is that in BD decreased BDNF levels reflect the acute neurotoxic effect of depression and mania, and NT3 might activate a different incompletely elucidated compensatory mechanism, working to promote neuronal reorganization, plasticity and regeneration [1,15,30,40]. However, SZ studies of serum BDNF levels have showed inconsistent results. Some studies have found significantly lower BDNF levels in SZ patients compared to healthy controls [52,46,35,47], while other studies have found essentially similar BDNF levels in SZ and controls [51,20,41]. One study has showed decreased BDNF levels at the first episode of SZ [33] and in our previous study, we have found increased levels of BDNF in SZ, possibly secondary to the course of illness or to treatment variables [12]. Following acute brain decompensation during the first episode of SZ, NT3 expression could remain decreased after early neuronal damage preceding illness onset, and would fail to revert the

decreased plasticity secondary to low BDNF levels. Continued exposure to therapy such as antipsychotics, avoidance of stressors, or the course of illness by itself could decrease the allostatic load and oxidative stress during psychotic remission symptoms [14] and activate additional mechanisms of neuronal plasticity (although with lower efficacy than NT3), such as the anti-oxidative repair systems like superoxide dismutase [13]. Under these conditions, NT3 could remain low during the course of SZ.

Additional longitudinal studies beginning at illness onset could clarify the impact of stage on illness on the differential patterns of neurotrophin expression. This could reflect a preserved or NT3 compensatory mechanism (increased NT3) [49] secondary to acute reduction of BDNF [4] in acute episodes of BD, contrasting with the finding of reduced BDNF in the period before illness onset in SZ [33], with a loss of the NT3 compensatory mechanism (decreased NT3) in chronically medicated schizophrenic males.

Concordant with a hypothesis of these differential patterns, the “ancestor neurotrophin” (NT3) could compensate for the decrease of “phylogenetically newer neurotrophins” (like BDNF) in cases of acute damage, in BD, while failing to rescue neuronal integrity and plasticity in older lesions occurring in SZ. One possible explanation may be related to the known neurodevelopmental processes in SZ, because NT3 seems to have a central role in the early neuronal development [11].

We found no correlation between NT3 levels and BPRS scores. This might be a result of this being a stable and chronic cohort. Different patterns may be seen in prodromal, first episode or acutely relapsed individuals. Comparing acutely with chronically ill patients with SZ, it would be possible to know if decreased serum NT3 levels represent a marker of neuronal damage in SZ occurring during prodromal and/or early phase of illness. In rodents it has been demonstrated that NT3 crosses the brain–blood barrier [36], and there is a strong positive correlation ( $r = 0.80$ ) between serum and brain NT3 levels, suggesting that peripheral changes might correspond, at least in part, to central NT3 changes [34]. Nevertheless, caution should be taken in interpreting these findings, as previous studies have demonstrated the production, storage and release of NT3, BDNF and NGF by human peripheral monocytes and eosinophils [39,32]. However, comparing allergic versus healthy persons, there were no significant differences in NT3 or BDNF levels [39]. To support the speculation that serum NT3 as a marker in SZ, studies that include other neuropsychiatric disorders and clinical diseases are warranted.

The major limitation of this study is the small sample size and its consequent risk of a type-I error. Other limitations include the enrollment of a male only sample, and that

control group was younger than the SZ group. Some other considerations about limitations are the fact that the impact of antipsychotics on NT3 levels is incompletely understood, and that individuals in different stages of the disorder (i.e. acute and first episode) were not studied, as all individuals were in the chronic phase of the disorder. It would have been useful to have levels of other neurotrophins such as BDNF.

The finding of this study, together with the previous finding of high BDNF levels in SZ [12] seem to give additional support for the hypothesis of differential patterns of damage among SZ and BD, with an early degenerative component in SZ preceding illness onset and an episode-dependent pattern of deterioration in BD [25]. Moreover, neuroimaging studies provide compelling evidence to support this hypothesis. Strakowski et al. [44] described ventricular enlargement that was not evident at the first episode, but was progressive with further mood episodes in BD, whereas a pattern of ventricular enlargement was already evident at the first episode of SZ and was similar to that seen in chronic SZ [48].

In conclusion, our findings of decreased NT3 levels in SZ male patients support the current hypothesis that neurotrophins are involved in the pathophysiology of SZ. Longitudinal studies assessing neurotrophins along the course of SZ are warranted to further clarify the role of NT3 and BDNF changes over the stages of illness in SZ and BD, particularly the prodrome and the first episode. It would also be valuable to examine the effects of treatment on NT3, as well as to disentangle the role of the different neurotrophins in the prevention of neurotoxicity in the course of SZ, and to establish if neuronal damage amelioration corresponds with functional and quality of life changes in SZ.

## References

[1] K. Agerman, P. Ernfors, Differential influence of BDNF and NT3 on the expression of calcium binding proteins and neuropeptide Y in vivo, *Neuroreport* 14 (2003) 2183–2187.

[2] G. Bersani, A. Iannitelli, M. Fiore, F. Angelucci, L. Aloe: Data and hypotheses on the role of nerve growth factor and other neurotrophins in psychiatric disorders, *Med Hypotheses* 55 (2000):199 –207.

[3] M. Craddock, P. Asherson, M.J. Owen, J. Williams, P. McGuffin, A.E. Farmer, Concurrent validity of the OPCRIT diagnostic system – comparison of OPCRIT diagnoses with consensus best-estimate lifetime diagnoses, *Br. J. Psychiatry* 169 (1) (1996) 58–63.

[4] A.B. Cunha, B.N. Frey, A.C. Andreazza, J.D. Goi, A.R. Rosa, C.A. Goncalves, A. Santin, F. Kapczinski, Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes, *Neurosci. Lett.* 398 (3) (2006) 215–219.

[5] E. Dawson, J.F. Powell, P.C. Sham, M. Nothen, M.A. Crocq, P. Propping, J. Korner, M. Rietschel, J. v. Os, P. Wright, An association study of a neurotrophin-3 (NT-3) gene polymorphism with schizophrenia, *Acta Psychiatr. Scand.* 92 (1995) 425–428.

[6] N. Durany, T. Michel, R. Zochling, K.W. Boissl, F.F Cruz-Sanchez, P. Riederer, J. Thome, Brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin 3 in schizophrenic psychoses. *Schizophr. Res.* 52 (2001) 79–86.

[7] P. Ernfors, C.F. Ibanez, T. Ebendal, L. Olson, H. Persson, Molecular cloning and neurotrophic activities of a protein with structural similarities to nerve growth factor: developmental and topographical expression in the brain, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87 (1990) 5454– 5458.

[8] I. Farinas, K.R. Jones, C. Backus, X.Y. Wang, L.F. Reichardt, Severe sensory and sympathetic deficits in mice lacking neurotrophin-3, *Nature* 369 (1994) 658– 661.

[9] U. Felderhoff-Mueser, M. Sifringer, S. Pesditschek, H. Kuckuck, A. Moysich, P. Bittigau, C. Ikonomidou, Pathways Leading to Apoptotic Neurodegeneration Following Trauma to the Developing Rat Brain, *Neurobiology of Disease* 11 (2002) 231-245.

[10] W.J. Friedman, C.F. Ibanez, F. Hallbook, H. Persson, L.D. Cain, C.F. Dreyfus, I.B. Black, Differential actions of neurotrophins in the locus coeruleus and basal forebrain, *Exp. Neurol.* 119 (1993) 72– 78.

[11] C.M. Gall, S.J. Gold, P.J. Isackson, K.B. Seroogy, Brain derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNAs are expressed in ventral midbrain regions containing dopaminergic neurons, *Mol. Cell. Neurosci.* 3 (1992) 56– 63.

[12] C.S. Gama, M. Salvador, A.C. Andreazza, F. Kapczinski, P. Silva Belmonte-de-Abreu, Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in schizophrenia: a study of patients treated with haloperidol or clozapine, *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 30(3) (2006) 512-515.

- [13] C.S. Gama, A. C. Andreazza, M. K., M. B., P, S. Belmonte-de-Abreu, F. Kapczinski, Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with schizophrenia and bipolar disorder, *Neurosci Lett.* 420(1) (2007) 45-48.
- [14] C.S. Gama, M. Salvador, A.C. Andreazza, M.I. Lobato, M. Berk, F. Kapczinski, P.S. Belmonte-de-Abreu, Elevated serum thiobarbituric acid reactive substances in clinically symptomatic schizophrenic males, *Neurosci Lett.* (2008) Jan 16; [Epub ahead of print].
- [15] K.M. Giehl, S. Röhrig, H. Bonatz, M. Gutjahr, B. Leiner, I. Bartke, Q. Yan, L.F. Reichardt, C. Backus, A.A. Welcher, K. Dethleffsen, P. Mestres, M.Meyer, Endogenous brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 antagonistically regulate survival of axotomized corticospinal neurons in vivo, *J. Neurosci.* 21 (2001) 3492–3502.
- [16] J.H. Gilmore, L.F. Jarskog, J.C. Lindgren, J.P. McEvoy, H. Xiao, Neurotrophin-3 levels in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia or medical illness, *Psychiatry Res.* 73 (1997) 109– 113.
- [17] T. Hashimoto, S.E. Bergen, Q.L. Nguyen, B. Xu, L.M. Monteggia, J.N. Pierri, Z. Sun, A.R. Sampson, D.A. Lewis, Relationship of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Its Receptor TrkB to Altered Inhibitory Prefrontal Circuitry in Schizophrenia, *The Journal of Neuroscience* • 25 (2) (2005) 372–383.
- [18] M. Hattori, S. Nanko, Association of neurotrophin-3 gene variant with severe forms of schizophrenia, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 209 (1995) 513– 518.



- [19] A. Hohn, J. Leibrock, K. Bailey, Y.A. Barde, Identification and characterization of a novel member of the nerve growth factor/brain-derived neurotrophic factor family, *Nature* 344 (1990), 339– 341.
- [20] T.L. Huang, C.T. Lee, Associations between serum brain-derived neurotrophic factor levels and clinical phenotypes in schizophrenia patients, *Journal of Psychiatric Research* 40 (2006) 664–668.
- [21] F. Kapczinski, E. Vieta, A.C. Andreazza, B. Frey, M. Kauer-Sant'Anna, F. Gomes, R. Grassi, J. Tramontina, R. Post, Allostatic load and bipolar disorder, *NERE*, Submitted, 2007.
- [22] T. Kato, Bridging pharmacology and neurodevelopment in schizophrenia, *Int J Neuropsychopharmacol.* 10 (6) (2007) 713-6.
- [23] U.E. Lang, M.C. Jockers-Scherubl, R. Hellweg, State of the art of the neurotrophin hypothesis in psychiatric disorders: Implications and limitations, *J Neural Transm* 111 (2004) 387– 411.
- [24] G.R. Lewin, Y.A. Barde, Physiology of the neurotrophins, *Annu. Rev, Neurosci.* 19 (1996) 289–317.
- [25] J.A. Lieberman, Pathophysiologic mechanisms in the pathogenesis and clinical course of schizophrenia, *J. Clin. Psychiatry* 60 (Suppl. 12) (1999) 9–12.

[26] A.M. Linden, J. Vaisanen, M. Lakso, H. Nawa, G. Wong, E. Castren, Expression of Neurotrophins in rat brain after administration of antipsychotic and psychotropic agents, *J. Mol. Neurosci.* 14 (2000) 27–37.

[27] P.C. Maisonpierre, L. Belluscio, B. Friedman, R.F. Alderson, S.J. Wiegand, M.E. Furth, R.M. Lindsay, G.D. Yancopoulos, NT-3, BDNF, and NGF in the developing rat nervous system: parallel as well as reciprocal patterns of expression, *Neuron* 5 (1990a) 501–509.

[28] P.C. Maisonpierre, L. Belluscio, S. Squinto, N.Y. Ip, M.E. Furth, R.M. Lindsay, G.D. Yancopoulos, Neurotrophin-3: a neurotrophic factor related to NGF and BDNF, *Science* 247 (1990b) 1446–1451.

[29] P.C. Maisonpierre, M.M. Le Beau, R. Espinosa III, N.Y. Ip, L. Belluscio, S.M de la Monte, S. Squinto, M.E. Furth, G.D. Yancopoulos, Human and rat brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3: gene structures, distributions, and chromosomal localizations, *Genomics* 10(1991) 558–568.

[30] L. Minichiello, R. Klein, TrkB and TrkC neurotrophin receptors cooperate in promoting survival of hippocampal and cerebellar granule neurons, *Genes Dev.* 10 (1996) 2849–2858.

[31] F. Ng, M. Berk, O. Dean, Al Bush, Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2008 Jan 21;:1-26 [Epub ahead of print]

[32] O. Noga, C. Englmann, G. Hanf, A. Grützkau, J. Seybold, G. Kunkel, The production, storage and release of neurotrophins nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 by human peripheral eosinophils in allergics and non-allergics, *Clin Exp Allergy* 33 (2003) 649-654.

[33] A. Palomino, A. Vallejo-Illarramendi, A. Gonzalez-Pinto, A. Aldama, C. Gonzalez-Gomez, F. Mosquera, G Gonzalez-Garcia, C. Matute, Decreased levels of plasma BDNF in first-episode schizophrenia and bipolar disorder patients, *Schizophr Res.* 86(1-3) (2006) 321-322.

[34] W. Pan, W.A. Banks, A.J. Kastin, Permeability of the blood–brain barrier to neurotrophins, *Brain Research* 788 (1998).87–94.

[35] S. Pırıldara, A.S. Gonul, F. Tanelib, F. Akdeniza, Low serum levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with schizophrenia do not elevate after antipsychotic treatment, *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 28 (2004) 709–713.

[36] J.F. Poduslo, G.L. Curran, Permeability at the blood-brain and blood-nerve barriers of the neurotrophic factors: NGF, CNTF, NT-3, BDNF, *Molecular Brain Research* 36 (1996) 280-286.

[37] L. Qian, J. Zhao, Y. Shi, X. Zhao, G. Feng, F. Xu, S. Zhu, L. He, Brain-derived neurotrophic factor and risk of schizophrenia: an association study and meta-analysis, *Biochem Biophys Res Commun.* 353(3) (2007) 738-743.

[38] F. Romano, H. Elkis, Tradução e Adaptação de um Instrumento de Avaliação Psicopatológica das Psicoses: a Escala Breve de Avaliação Psiquiátrica. Versão Ancorada (BPRS-A), *Jornal Brasileiro de Psiquiatria* 45 (1996) 43-49.

[39] B. Rost, G. Hanf, U. Ohnemus, R. O-Knapp, D.A. Groneberg, G. Kunkel, O. Noga, Monocytes of allergics and non-allergics produce, store and release the neurotrophins NGF, BDNF and NT-3., *Regulatory Peptides* 124 (2005) 19– 25.

[40] A. Schutte, Q. Yan, P. Mestres, K.M. Giehl, The endogenous survival promotion of axotomized rat corticospinal neurons by brain-derived neurotrophic factor is mediated via paracrine, rather than autocrine mechanisms, *Neurosci. Lett.* 290 (2000) 185–188.

[41] E. Shimizu, K. Hashimoto, H. Watanabe, N. Komatsu, N. Okamura, K. Koike, N. Shinoda, M. Nakazato, C. Kumakiri, S. Okada, M. Iyo, Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in schizophrenia are indistinguishable from controls, *Neuroscience Letters* 351 (2003) 111–114.

[42] Y. Shirayama, A.C. Chen, S. Nakagawa, D.S. Russel, R.S. Duman, Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression, *J. Neurosci.* 22 (2002) 3251–3261.

[43] M.A. Smith, S. Makino, M. Altemus, D. Michelson, S.K. Hong, R. Kvetnansky, R.M. Post, Stress and antidepressants differentially regulate neurotrophin 3 mRNA expression in the locus coeruleus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92 (1995) 8788–8792.

[44] S.M. Strakowski, M.P. DelBello, M.E. Zimmerman, G.E. Getz, N.P. Mills, J. Ret, P. Shear, C.M. Adler. Ventricular and periventricular structural volumes in first- versus multiple-episode bipolar disorder, *Am J Psychiatry* 159 (11) (2002) 1841-7.

[45] M. Takahashi, O. Shirakawa, K. Toyooka, N. Kitamura, T. Hashimoto, K Maeda, S. Koizumi, K. Wakabayashi, H. Takahashi, T. Someya, H. Nawa, Abnormal expression of brain-derived neurotrophic factor and its receptor in the corticolimbic system of schizophrenic patients, *Mol Psychiatry* 5 (3): (2000) 293-300.

[46] Y.L.Tan, D.F. Zhoua, L.Y. Caob, Y.Z. Zoub, X.Y. Zhang, Decreased BDNF in serum of patients with chronic schizophrenia on long-term treatment with antipsychotics, *Neuroscience Letters* 382 (2005) 27–32.

[47] K. Toyookaa, K. Asamac, Y. Watanabea, T. Muratakeb, M. Takahashib, T. Someyab, H. Nawa, Decreased levels of brain-derived neurotrophic factor in serum of chronic schizophrenic patients, *Psychiatry Research* 110 (2002) 249–257.

[48] D. Velakoulis, S.J. Wood, M.T. Wong, P.D. McGorry, A. Yung, L. Phillips, D. Smith, W. Brewer, T. Proffitt, P. Desmond, C. Pantelis, Hippocampal and amygdala volumes according to psychosis stage and diagnosis: a magnetic resonance imaging study of

chronic schizophrenia, first-episode psychosis, and ultra-high-risk individuals, *Arch Gen Psychiatry* 63 (2) (2006) 139-49.

[49] J.C. Walz, A.C. Andreazza , B.N. Frey , A.A. Cacilhas , K.M.M. Cereser, A.B.M. Cunha, F. Weyne, L. Stertz, A. Santin, C.A. Gonçalves, F. Kapczinski, Serum neurotrophin-3 is increased during manic and depressive episodes in bipolar disorder, *Neuroscience Letters* 415 (2007) 87–89.

[50] C.S.Weickert, D.L. Ligans, T. Romanczyk, G. Ungaro, T.M. Hyde, M.M. Herman, D.R. Weinberger, J.E. Kleinman, Reductions in neurotrophin receptor mRNAs in the prefrontal cortex of patients with schizophrenia, *Mol Psychiatry*. ;10 (7) (2005) 637-650.

[51] X.Y. Zhang, Y.L.Tan, D.F. Zhou, L.Y.Cao, G.Y. Wu, Q. Xu, Y. Shen, C.N. Haile, T. A. Kosten, T. R. Kosten, Serum BDNF levels and weight gain in schizophrenic patients on long-term treatment with antipsychotics, *Journal of Psychiatric Research* 41 (2007) 997–1004.

[52] X.Y. Zhang, D.F. Zhou, G.Y. Wu, L.Y. Cao, Y.L. Tan, C.N. Haile, J. Li, L. Lu, T.A. Kosten, T.R. Kosten, BDNF Levels and Genotype are Associated with Antipsychotic-Induced Weight Gain in Patients with Chronic Schizophrenia, *Neuropsychopharmacology* Nov 7 (2007) doi:10.1038/sj.npp.1301619.

**Table 1**  
**Characteristics of healthy male controls and male schizophrenic (SZ) patients.**

	Control group (n=10)	SZ (n=36)	p-value
Mean age (SD), years	25.3 (1.4)	33.4 (8.4)	0.005*
Mean age of first episode (SD), years	-	18.9 (4.1)	-
Mean years of illness (SD)	-	18,8 (4,1)	-
Mean BPRS score (SD)	-	20.6 (10.1)	-
Mean serum NT3 (SD)	174.5 (52.9)	116.1 (51.6)	0.004**

BPRS, Brief Psychiatry Rating Scale.

\*Student's t-test

\*\*Mann-Whitney test

**Table 2**  
**Characteristics male schizophrenic (SZ) patients grouped by antipsychotic use (haloperidol, clozapine, risperidone)**

	Haloperidol (n=12)	Clozapine (n=12)	Risperidone (n=12)	p-value
Mean age (SD), years	34.2(11.7)	34.9(6.5)	31.0(6.2)	0.557*
Mean age of first episode (SD), years	18.5(3.3)	18.2(5.2)	19.9(3.6)	0.624*
Mean years of illness (SD)	15.5(11.2)	16.7(6.9)	11.1(6.3)	0.221**
Mean antipsychotic daily dose <sup>a</sup>	707.4(686.4) <sup>a</sup>	570.0(211.1) <sup>a</sup>	275.0(92.0) <sup>a</sup>	0.005***
Mean BPRS score (SD)	29.9(12.1)	16.6(4.2)	18.2(9.7)	0.049****
Mean serum NT3 (SD)	119.6(64.1)	113.9(42.2)	114.7(51.5)	0.993**

BPRS, Brief Psychiatry Rating Scale.

\*One-way ANOVA

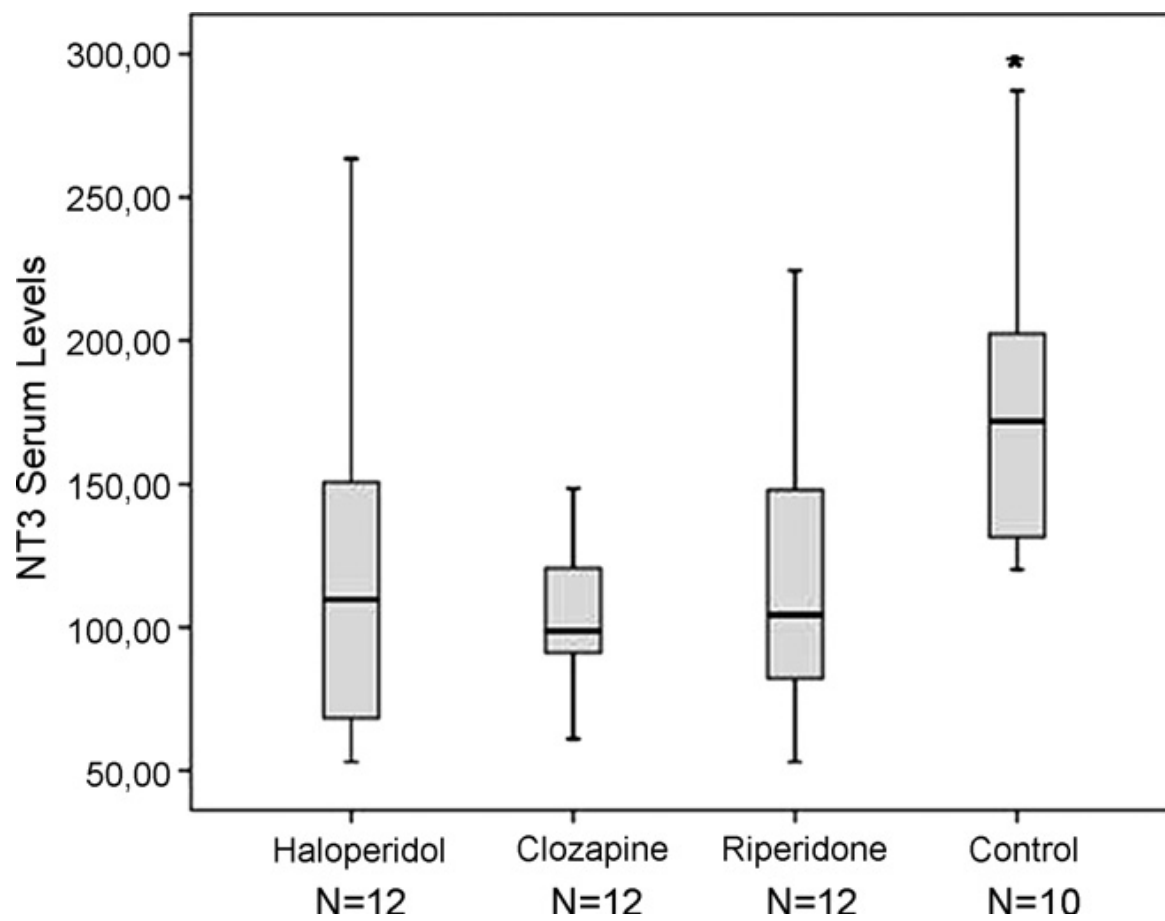
\*\*Kruskal-Wallis test

\*\*\*Kruskal-Wallis test, Haloperidol group vs. Risperidone group

\*\*\*\*Kruskal-Wallis test, Haloperidol group vs. Clozapine group

<sup>a</sup> In mg of chlorpromazine equivalents

Fig. 1. Box-plot of serum NT3 levels in controls and SZ patients taking clozapine, risperidone or haloperidol (\*Kruskal–Wallis test, control vs. haloperidol/ clozapine/risperidone groups;  $p = 0.005$ ).





## 9. Considerações finais

Como já mencionado anteriormente, é o primeiro estudo realizado sobre níveis séricos de NT3 em esquizofrênicos masculinos cronicamente medicados.

Como resultado, encontramos baixos níveis em comparação com os controles normais. Estando consideradas as limitações do presente estudo, este ainda poderia apoiar a hipótese de um envolvimento das neurotrofinas, e em especial da NT3 na fisiopatologia da Esquizofrenia.

Para maior esclarecimento acerca dos padrões de lesão neuronal e a associação destas lesões com os mecanismos de expressão das neurotrofinas (NT3 e BDNF), comparamos a Esquizofrenia com o Transtorno Bipolar, que até os “tempos de Kraepelin”, eram considerados como um só transtorno devido suas semelhanças.

Evidência em estudo animais sugere que há um mecanismo compensatório entre a expressão da NT3, secundária a diminuição de BDNF em algumas populações neuronais.

Há especulação que a elevação da NT3 observada em episódios maníacos e depressivos no transtorno bipolar, ocorra em paralelo com a diminuição do BDNF. Já no caso da Esquizofrenia, os estudos que medem os níveis de BDNF sérico mostram resultados inconsistentes, porém no início da doença estes níveis de BDNF parecem estar diminuídos. Resumidamente, o diferente padrão de lesão entre Esquizofrenia e o Transtorno Bipolar, é que no Transtorno Bipolar a diminuição do BDNF reflete um efeito neurotóxico da depressão e mania, e a NT3 deve ativar um diferente mecanismo compensatório ainda não completamente elucidado que promove plasticidade neuronal. Já na Esquizofrenia, seguindo uma descompensação aguda durante o primeiro episódio, mesmo com a diminuição do BDNF, a expressão de NT3 pode manter-se diminuída depois da precoce lesão neuronal que precede o início da doença e então falharia em reverter a diminuição da plasticidade secundária aos baixos níveis de BDNF. Com a exposição a terapias como a antipsicóticos, evitação de estressores ou pelo próprio curso da doença, ativaria outros mecanismos de plasticidade neuronal de menor eficácia que NT3.

Estudos longitudinais na Esquizofrenia, começando nos pródromos da doença, podem clarificar o impacto do estágio da doença nos diferentes padrões de expressão das neurotrofinas. Comparando doentes esquizofrênicos crônicos com agudos, nos confirmaria se os baixos níveis de NT3 já estão presentes desde os pródromos e/ou durante início da

doença, ou se estes baixos níveis se manifestam apenas em fase crônica. Com isto saberíamos se a NT3 pode representar um potencial biomarcador neuronal.

Quanto aos estudos longitudinais acessando os níveis das neurotrofinas ao longo do curso da Esquizofrenia, não apenas veríamos se há possibilidade de esclarecimento acerca das mudanças de seus níveis nos vários estágios da doença, mas também para examinar os efeitos do tratamento e seu papel na prevenção da neurotoxicidade. Com isto saberíamos se além das neurotrofinas serem biomarcadores na Esquizofrenia, se o diagnóstico e tratamento precoce possibilitariam um melhor prognóstico e qualidade de vida destes pacientes.

## 10. Anexos

**BPRS**  
**Escala de Avaliação Psiquiátrica Breve**  
**Versão Ancorada (BPRS-A (Woerner, 1998, tradução de Romano e Elkis, 1996)**  
**associada a Entrevista Clínica Estruturada (SIG-BPRS) de Rhoades e Overall (1988)**

<b>Paciente</b>	
<b>Entrevistador:</b>	
<b>Instrução:</b> A escala é composta de 18 itens e serão avaliadas. Os itens avaliados com <b>OBSERVAÇÃO</b> (3, 4, 7, 13, 14, 16, 17, 18) devem ser avaliados tomando por base <b>OBSERVAÇÕES</b> feitas durante a entrevista. Os itens avaliados com <b>RELATO DO PACIENTE</b> devem ser avaliados a partir de informações <b>RELATADA</b> (ou seja, <b>SUBJETIVA</b> ), referente ao período escolhido (em geral 1 semana). As perguntas em negrito devem ser formuladas diretamente nos itens em que se avalia a reação do paciente.	
<b>Início da entrevista:</b> Comece com estas perguntas e ajuste as mesmas base complexa o item 18 (Orientação).	
<b>Qual o seu nome completo? E sua idade? Onde você mora? Está trabalhando atualmente? (já trabalhou anteriormente? Em qual?)</b>	
<b>Quando tempo faz que você está aqui? Conte-me por que motivo você foi internado. Quando isso começou? Que sintomas teve? Você pode me dizer que dia é hoje? (semana-mês-ano)?</b>	
<b>1</b>	<b>Preocupação Somática:</b> Grau de preocupação com a saúde física. Avaliar o grau no qual a saúde física é percebida como um problema pelo paciente, quer as queixas sejam baseadas na realidade ou não. Não pontuar o sintoma relatado de sintomas físicos. Avaliar apenas o relato (ou preocupação) sobre problemas físicos (mas não imaginários). Como costuma ser sua saúde física (seu corpo)? Como estava sua saúde no último ano? Você está preocupado com algum problema de saúde agora? Você sente que tem alguma coisa diferente sobre seu corpo ou saúde?
	<p>0 Não relatado</p> <p>1 Muito leve: Ocasionalmente fica levemente preocupado com o corpo, sintomas ou doenças físicas.</p> <p>2 Leve: Ocasionalmente fica preocupado com o corpo de forma moderada, ou frequentemente fica levemente preocupado.</p> <p>3 Moderado: Ocasionalmente muito preocupado ou moderadamente preocupado com frequência.</p> <p>4 Moderadamente Grave: Frequentemente muito preocupado.</p> <p>5 Grave: Fica muito preocupado a maior parte do tempo.</p> <p>6 Muito Grave: Fica muito preocupado praticamente o tempo todo.</p>
<b>2</b>	<b>ANSIEDADE:</b> Preocupação, medo ou preocupação excessiva acerca do passado futuro. Pontuar somente a partir de relatos das experiências subjetivas do paciente. Não inferir ansiedade a partir de sintomas físicos ou sintomas de defesa neuróticos. Não pontuar se relato a preocupação somática.
	<b>RELATO DO PACIENTE</b> <b>Qual o seu estado de espírito? Você tem se sentido feliz ou ansioso a maior parte do tempo? (Quando se sente assim, você consegue sair o suficiente? De que forma as suas ansiedades ou preocupações afetam a sua vida? Existe algo que abuse a melhorar esse sentimento?)</b>
	<p>0 Não relatado</p> <p>1 Muito leve: Ocasionalmente se sente levemente ansioso</p> <p>2 Leve: Ocasionalmente se sente moderadamente ansioso ou frequentemente se sente moderadamente ansioso.</p> <p>3 Moderado: Ocasionalmente se sente muito ansioso ou frequentemente se sente moderadamente ansioso.</p> <p>4 Moderadamente Grave: Frequentemente se sente muito ansioso</p> <p>5 Grave: Sente-se muito ansioso a maior parte do tempo.</p>
<b>3</b>	<b>OBSERVAÇÃO RETRAIMENTO AFETIVO:</b> Detachado no relacionamento com o entrevistador e na situação da entrevista. Manifestações evidentes de falta de contato visual (falta de olhar), o paciente não se relaciona com o entrevistador, apresenta uma falta de envolvimento e desconforto com a entrevista. Diferenciar de AFETO EMBOTADO, no qual são portadas deficiências na expressão facial, gestos, olhar, e tom de voz. Pontuar a partir de observações feitas durante a entrevista.
	<p>0 Não observado</p> <p>1 Muito leve: Excepcionalmente falta de contato com o entrevistador</p> <p>2 Leve: Ex: como acima, porém mais frequente</p> <p>3 Moderado: Ex: demonstra dificuldade em encantar o entrevistador, mas ainda parece engajado na entrevista e responde apropriadamente a todas as questões.</p> <p>4 Moderadamente Grave: Ex: o há frequentemente no olhar e afeta-se o entrevistador, mas ainda parece moderadamente engajado na entrevista.</p> <p>5 Grave: Ex: comunicação pobre, não persistente e desinteressado</p> <p>6 Muito Grave: Ex: parece estar "aberto", mas nenhum ou "vazando" (total ausência de vínculo emocional) e desproporcionalmente não envolvido e não comprometido com situação da entrevista. (Não pontuar se explicado pela desorientação).</p>

4	<p><b>OBSERVAÇÃO DO PACIENTE</b></p> <p><b>DESORGANIZAÇÃO CONCEITUAL:</b> Grau de incompreensibilidade de fase, incluir qualquer tipo de desordem formal de pensamento (p.ex., associações lúgidas, ideias, neologismos); N: O incluir mais circunstancialidade ou total maníaca, mesmo que acurataza; N: O pontuar a partir de impressões subjetivas (Meus pensamentos estão voando); IN: O corrigir manter o pensamento); (Mais pensamentos se misturam todos); <b>Pontuar SOMENTE a partir de o durante a entrevista.</b></p> <p>0 Não observado.</p> <p>1 Muito leve: Ex: levemente vago, todavia de significação, o direito duvidoso.</p> <p>2 Leve: Ex: freq, entretanto vago, mas é possível acompanhar a entrevista.</p> <p>3 Moderado: Ex: ocasionalmente faz afirmações irrelevantes; uso infreq, ente de neologismos; ou associações moderadamente lúgidas.</p> <p>4 Moderadamente Grave: Como acima, porém mais freq, ente.</p> <p>5 Grave: Desordem formal do pensamento presente a maior parte da entrevista, tornando-a muito difícil.</p> <p>6 Muito Grave: Muito pouca informação coerente pode ser obtida.</p>
5	<p><b>RELATO DO PACIENTE</b></p> <p><b>SENTIMENTOS DE CULPA:</b> Preocupação, ou o remorso desproporcionais pelo passado; Pontuar a partir das experiências subjetivas de culpa evidentes verbais; N: O incluir sentimentos de culpa a partir de depressão, o, ansiedade ou defesas neuróticas.</p> <p>Pergunta-Guia: Nos últimos anos você tem se sentido um peso para sua família ou colegas? Você tem se sentido culpado por alguma coisa fato no passado? Você acha passando agora é um tipo de castigo? (Por que você está aqui?)</p> <p>0 Não relatado</p> <p>1 Muito leve: Ocasionalmente se sente levemente culpado.</p> <p>2 Leve: Ocasionalmente se sente moderadamente culpado; ou freq, entretanto se sente levemente culpado.</p> <p>3 Moderado: Ocasionalmente se sente muito culpado; ou freq, entretanto se sente moderadamente culpado.</p> <p>4 Moderadamente Grave: freq, entretanto se sente muito culpado.</p> <p>5 Grave: Sente-se muito culpado a maior parte o tempo ou, geralmente delírio de culpa anormalmente.</p> <p>6 Muito Grave: Sentimento de culpa angustiante e constante; ou delírios de culpa disseminadas.</p>
6	<p><b>OBSERVAÇÃO DO PACIENTE</b></p> <p><b>TENSÃO:</b> Avaliar inquietação motora (agitação) observada durante a entrevista; N: O pontuar a partir de expressões subjetivas relacionadas pelo psicólogo nesse prescrição (p.ex., dischinesia, tãrdia).</p> <p>0 Não observado.</p> <p>1 Muito leve: Ex: ocasionalmente agitado</p> <p>2 Leve: Ex: freq, entretanto agitado.</p> <p>3 Moderado: Ex: agitado constantemente ou freq, entretanto; Tãrdia as m, os e puxa o roupa.</p> <p>4 Moderadamente Grave: Ex: agitado constantemente; Tãrdia as m, os e puxa o roupa.</p> <p>5 Grave: Ex: n, o consegue ficar sentado, isto é, precisa andar.</p> <p>6 Muito Grave: crises de manias hiperbica.</p>
7	<p><b>OBSERVAÇÃO DO PACIENTE</b></p> <p><b>MANEIRISMOS E POSTURA:</b> comportamento motor incoerente ou n, o natural; Pontuar apenas anormalidade de movimento; n, o pontuar aqui simpli motor; Considere: freq, l, nda, curvã, o e grau do car, tar bizarro; Desconsidere: patolg, nese prescrita.</p> <p>0 Não observado</p> <p>1 Muito leve: Comportamento estranho, mas de significação, o clinica duvidosa, por exemplo, um ato involuntário ocasional, movimentos de l, bio infreq, ente anormal intermitentemente.</p> <p>2 Leve: Comportamento estranho, mas n, o claramente bizarro, por exemplo, 2x vezes balanço a cabeça, ritmicamente de um lado para outro, movement anormal intermitentemente.</p> <p>3 Moderado: Ex: acrobacia, o da toga por um breve período, 3x vezes p, e e língua para fora, balanço o corpo.</p> <p>4 Moderadamente Grave: Como acima, porém mais freq, ente, intenso ou disseminado.</p> <p>5 Grave: Como acima, porém mais freq, ente, intenso ou disseminado.</p> <p>6 Muito Grave: Ex: postura bizarra durante a maior parte da entrevista; movimentos anormais constantes em v, rias, rias do corpo.</p>

8	<b>IDÍAS DE GRANDEZA</b> . Auto-Estima subconsciente esmagada ou esmagada (semelhante às piores de idosos, pobres, negros, com deficiência, importância ou dignidade). Não mostrar mais nenhuma grandeza ou algo que seja "tudo o que posso ter no mundo", "tudo o que eu gostaria de ter", "a maior que eu poderia ter".
Pergunta-Guia	Vocês têm alguma ideia de como se sente quando se sente inferiorizado? Como se sente quando se sente inferiorizado? Como se sente quando se sente inferiorizado? Como se sente quando se sente inferiorizado? Como se sente quando se sente inferiorizado?
9	<b>RELATO DO PACIENTE</b> Depressão leve a partir de irritação geral e queixas somáticas. Pontuar a partir de informação relatada, ou seja, subjetiva.
Pergunta-Guia	Como tem estado o seu humor (alegre, triste, irritado)? Você sente alguma coisa diferente? (como esse sentimento tem afetado o seu dia-a-dia?)
10	<b>RELATO DO PACIENTE</b> Não tem ideia de como se sente quando se sente inferiorizado. Como se sente quando se sente inferiorizado? Como se sente quando se sente inferiorizado? Como se sente quando se sente inferiorizado? Como se sente quando se sente inferiorizado?
Pergunta-Guia	Como tem estado o seu humor (alegre, triste, irritado)? Você sente alguma coisa diferente? (como esse sentimento tem afetado o seu dia-a-dia?)
11	<b>RELATO DO PACIENTE</b> Depressão leve a partir de irritação geral e queixas somáticas. Pontuar a partir de informação relatada, ou seja, subjetiva.
Pergunta-Guia	Como tem estado o seu humor (alegre, triste, irritado)? Você sente alguma coisa diferente? (como esse sentimento tem afetado o seu dia-a-dia?)
12	<b>RELATO DO PACIENTE</b> Depressão leve a partir de irritação geral e queixas somáticas. Pontuar a partir de informação relatada, ou seja, subjetiva.
Pergunta-Guia	Como tem estado o seu humor (alegre, triste, irritado)? Você sente alguma coisa diferente? (como esse sentimento tem afetado o seu dia-a-dia?)

<p>0 Não relatado</p> <p>1 Muito leve: Apoiar-se suspiros ou suspiros na elocução</p> <p>2 Leve: 2. Lançamentos estranhos, porém insignificantes, infrequentes, ou transitórios.</p> <p>3 Moderado: Como acima, porém mais frequentes (p. ex. frequentamento vê a cara do diabo); duas vezes travem uma longa conversa)</p> <p>4 Moderadamente Grave: As situações são experiências inesperadas ou inesperadas (p. ex. fontes de informação estranha).</p> <p>5 Grave: Como acima e agravado marcado no comportamento do paciente (p. ex. dificuldades de concentração que levam a um comprometimento no trabalho).</p> <p>6 Muito Grave: como acima, com grave impacto (p. ex. tentativas de suicídio como resposta a certas situações).</p>	<p><b>13 OBSERVAÇÃO DO PACIENTE</b></p> <p><b>RETRARDAMENTO MOTOR:</b> Redução do nível de energia evidenciada por movimentos mais lentos. Pontuar apenas a partir de comportamento observado no paciente. Não pontuar a partir das impressões e opiniões do paciente sobre seu próprio nível de energia</p> <p>0 Não observado</p> <p>1 Muito leve: Significação de inibições dúbias.</p> <p>2 Leve: Ex: conversa em pouco mais lentamente, movimentos levemente mais lentos</p> <p>3 Moderado: Ex: conversa notavelmente mais lenta, mas não arrastada</p> <p>4 Moderadamente Grave: Ex: conversa é inibida, movimento-se muito lentamente.</p> <p>5 Grave: Ex: a fala é inibida e a conversa quase não se movimenta</p> <p>6 Muito Grave: Ex: conversa é praticamente impossível não se move durante toda a entrevista.</p>
<p><b>14 OBSERVAÇÃO DO PACIENTE</b></p> <p><b>FALTA DE COOPERAÇÃO COM A ENTREVISTA:</b> Evidência de resistência, não calado, ressentimento e falta de prontidão para dialogar com o entrevistador. Pontuar exclusivamente a partir das atitudes do paciente e das reações do entrevistador e a situação de entrevista. Não pontuar a partir de relatos de ressentimento e reações à cooperação da situação do entrevista.</p> <p>0 Não observado</p> <p>1 Muito leve: Ex: não parece motivado.</p> <p>2 Leve: Ex: parece evasivo em certos assuntos.</p> <p>3 Moderado: Ex: incansável, fúrias em cooperar espontaneamente.</p> <p>4 Moderadamente Grave: Ex: respostas tendem a ser evasivas e incoerentes.</p> <p>5 Grave: Ex: recusa-se a responder a algumas questões</p> <p>6 Muito Grave: Ex: recusa-se a responder a todas as questões</p>	<p><b>15 RELATO DO PACIENTE</b></p> <p><b>ALTERAÇÃO DE CONTEÚDO DO PENSAMENTO DELÍRIDO:</b> Gravidade de qualquer tipo de delírio – considerar conexão e seu efeito em ações. Pressupor conexão total se o paciente aglutinado em suas crenças. Pontuar a partir da informação relatada, ou seja, subjetiva.</p> <p>0 Não relatado</p> <p>1 Muito leve: suspiros ou na probabilidade de delírio.</p> <p>2 Leve: 2. vezes o paciente elucida suas crenças (falras parciais).</p> <p>3 Moderado: Plena conexão delírio, porém delírios têm pouca ou nenhuma influência sobre o comportamento.</p> <p>4 Moderadamente Grave: Plena conexão delírio, porém os delírios têm impacto apenas ocasional sobre o comportamento.</p> <p>5 Grave: Delírios têm efeito significativo; por exemplo, negligência responsável por causa de preocupações com a crença de que é Deus.</p> <p>6 Muito Grave: Delírios têm impacto marcante, por exemplo, para a comer porque acredita que a comida está envenenada.</p>
<p><b>16 OBSERVAÇÃO DO PACIENTE</b></p> <p><b>AFETO EMBOTADO:</b> Responsividade afetiva diminuída, caracterizada por déficit na expressão facial, gestos e voz. Diferenciar de RETRAIMENTO AFETIVO no qual o foco está no comprometimento intencional, mas não do que no afetivo. Considere/ grave consistência no comprometimento. Pontuar a partir de observações feitas durante a entrevista.</p> <p>0 Não observado</p> <p>1 Muito leve: Ex: ocasionalmente parece indiferente a assuntos que são normalmente associados por demonstração de emoção</p> <p>2 Leve: Ex: expressão facial levemente diminuída ou voz levemente monótona ou gestos/falhas levemente inibidas</p> <p>3 Moderado: Ex: como acima, porém mais intenso, prolongado ou frequente.</p> <p>4 Moderadamente Grave: Ex: isolamento de afeto incluindo pelo menos duas ou três características (falta espontânea de expressão facial, voz monótona ou gestualidade inibida)</p> <p>5 Grave: Ex: arduo isolamento de afeto</p> <p>6 Muito Grave: Ex: voz totalmente monótona e total falta de gestualidade expressiva durante toda a avaliação.</p>	<p>0 Não relatado</p> <p>1 Muito leve: suspiros ou na probabilidade de delírio.</p> <p>2 Leve: 2. vezes o paciente elucida suas crenças (falras parciais).</p> <p>3 Moderado: Plena conexão delírio, porém delírios têm pouca ou nenhuma influência sobre o comportamento.</p> <p>4 Moderadamente Grave: Plena conexão delírio, porém os delírios têm impacto apenas ocasional sobre o comportamento.</p> <p>5 Grave: Delírios têm efeito significativo; por exemplo, negligência responsável por causa de preocupações com a crença de que é Deus.</p> <p>6 Muito Grave: Delírios têm impacto marcante, por exemplo, para a comer porque acredita que a comida está envenenada.</p>

17	OBSERVAÇÃO DO PACIENTE	<p><b>EXCITAÇÃO:</b> Tom emocional aumentado, incluindo irritabilidade e expansividade (afeto hipomaníaco). N, o inferir afeto de afimaa es a partir de dellno partir de observações feitas durante a entrevista.</p> <p>0 Não observado</p> <p>1 Muito leve: Significa, o clinica duvidosa.</p> <p>2 Leve: Ex: 3s vezes irritadiAo ou expansivo.</p> <p>3 Moderado: Freq, entemente irritadiAo ou expansivo.</p> <p>4 Moderadamente Grave Ex: constantemente irritadiAo ou expansivo; 3s vezes enfurecido ou eufÚrico.</p> <p>5 Grave: Ex: enfurecido ou eufÚrico na maior parte da entrevista.</p> <p>6 Muito Grave Ex: como acima, porEm de tal modo que a entrevista precisa ser interrompida prematuramente.</p> <p><b>DESORIENTAÇÃO:</b> confus, o ou falta de orientaÁ, o adequada em relaÁ o 3s pessoas, lugares e tempo. <b>Pontuar a partir de observações feitas durai</b></p>
18	OBSERVAÇÃO DO PACIENTE	<p>Pergunta-Guia</p> <p><i>Qual o seu nome completo? E sua idade? Onde você mora? Está trabalhando atualmente? (Já trabalhou anteriormente? Em quê?) Quanto tempo faz que você está aqui? Conte-me por que motivo você foi internado. Quando isso começou? O que aconteceu depois? Você pode me di: (semana- mês- ano)?</i></p> <p><i>Re-entrevista: Você pode me dizer que dia é hoje? (semana- mês- ano)? Você pode me dizer o que tinha ontem no jantar?</i></p>
		<p>0 Não observado</p> <p>1 Muito leve: Ex: parece um pouco confuso.</p> <p>2 Leve: Ex: indica 2003 quando É na verdade 2004.</p> <p>3 Moderado: Ex: indica 1992.</p> <p>4 Moderadamente Grave: Ex: n, o sabe ao certo onde est .</p> <p>5 Grave: Ex: n, o faz idEla onde est .</p> <p>6 Muito Grave: Ex: n, o sabe quem É .</p>

## **TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO PARA PACIENTES**

**Número do estudo:**

**Nome do sujeito:**

**Data de nascimento:**

**Cód. de identidade do sujeito:**

**Médico supervisor:**

### **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 (051) 21018294.

#### **Qual é o objetivo da pesquisa?**

Com este estudo buscamos identificar se há relação entre a quantidade de uma proteína neuronal chamada BDNF e a esquizofrenia. Caso haja esta relação, esta proteína 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 5 ml de sangue, 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. Não será feita nenhuma alteração na medicação em uso pelo paciente.

#### **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: \_\_\_\_\_  
Responsável:

Data:

Assinatura do Pesquisador

Ass: \_\_\_\_\_

Data:

Assinatura do Familiar Responsável pelo Paciente

Ass: \_\_\_\_\_

Data:

## **TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO PARA VOLUNTÁRIOS SAUDÁVEIS**

**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 (051) 21018294.

#### **Qual é o objetivo da pesquisa?**

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

#### **Quais são os riscos em participar?**

Neste momento você está isento de riscos para sua saúde, gostaríamos de poder utilizar o material coletado para o projeto 05-376.

#### **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, já autorizados pelo sr/sra. No estudo 05-376 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. Informei 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: