

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

Sandra Raquel Lermen Polita

Correlação entre volume cortical total e interleucina-6 em esquizofrenia

Porto Alegre

2016

Sandra Raquel Lermen Polita

Correlação entre volume cortical total e interleucina-6 em esquizofrenia

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

Orientadora: Clarissa Severino Gama

Coorientador: Raffael Massuda

Porto Alegre

2016

CIP - Catalogação na Publicação

Lermen Polita , Sandra Raquel
Correlação entre volume cortical total e
interleucina - 6 em esquizofrenia / Sandra Raquel
Lermen Polita . -- 2016.
62 f.

Orientadora: Clarissa Severino Gama .
Coorientadora: Raffael Massuda.

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

1. Esquizofrenia. 2. Volume cortical. 3.
Interleucinas. 4. Biomarcadores. 5. Ressonância
magnética . I. Severino Gama , Clarissa, orient. II.
Massuda, Raffael, coorient. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Á minha orientadora, Profa Clarissa Gama, pelo aprendizado, inspiração, exemplo, carinho e pela confiança.

Ao meu Coorientador Raffael Massuda pela excepcional ajuda, obrigada pela atenção e dedicação.

Á minha colega e amiga Juliana Ávila Duarte, pelo exemplo e por sempre estar comigo compartilhando conhecimento e ideias.

Á minha mãe e meu pai por todo o sacrifício e dedicação, buscando oferecer a mim e a minhas irmãs o que não tiveram.

Á minhas irmãs pelo carinho e apoio nessa caminhada, em especial a minha irmã Isabel Cristina Kolling Lermen pelas incansáveis revisões e questionamentos.

Aos meus cunhados e sobrinhos pelo carinho e apoio, em especial a Tainá Polita e Gabriel Rostirolla pelo auxílio nessa reta final.

Ao meu marido Milton Polita, por seu amor e dedicação e principalmente por sua compreensão.

Á minha filha Gabriela Lermen Polita, que participou comigo dessa jornada.

A todos os colegas do grupo de psiquiatria molecular que acreditaram em mim, obrigada, pela confiança e por compartilhar comigo seus conhecimentos.

A todos meus colegas, amigos e professores que de alguma forma contribuíram e muito neste caminho.

Aos pacientes, os principais responsáveis por esse trabalho.

RESUMO

A esquizofrenia (SZ) é uma doença mental crônica e grave, que compromete o funcionamento psicossocial do indivíduo nos mais variados graus. Atinge 1% da população mundial, considerando todo seu espectro de sintomas (DSM-IV). O pobre funcionamento cognitivo é um dos principais fatores que explicam as elevadas taxas de prejuízos e encargos associados à esquizofrenia. A etiologia da SZ é desconhecida, tendo muitas hipóteses etiológicas como fatores genéticos, epidemias virais durante a gestação, época de nascimento, traumatismos de parto, infecções perinatais, condições neurológicas ou neuropsiquiátricas que geram sintomas tipo esquizofrênicos ou desenvolvimento anormal (avaliados por testes psicológicos, estudos de neuroimagem e neuropatológicos que sugerem alterações no desenvolvimento cerebral). A fisiopatologia da SZ pode ser resultante de uma desregulação na plasticidade sináptica por alterações de neurotofina, radicais livres e processos inflamatórios. Existe uma larga evidência que os radicais livres podem ter um papel importante na fisiopatologia da SZ, podendo induzir danos na membrana celular, em proteínas e DNA. Problemas com estresse oxidativo, como o aumento da peroxidação lipídica foram relatados previamente em pacientes com SZ em primeiro episódio, virgens de tratamento e naqueles cronicamente medicados. As citocinas inflamatórias têm sido estudadas como importantes participantes na etiologia e desenvolvimento das doenças psiquiátricas. Seu papel ainda não é bem estabelecido, porém diversas alterações têm sido vistas nas doenças psiquiátricas. Dentre as citocinas, destacam-se as interleucinas (IL) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), que podem ter ação inflamatória e anti-inflamatória. Dentre as pró-inflamatórias, podemos destacar a IL-6 e o TNF- α . Alteração de IL na SZ tem sido relatada nesses últimos anos, relacionada à etiologia e à atividade da doença. Pacientes em episódio agudo da doença apresentaram aumento dos níveis séricos de IL pró-inflamatórias sugerindo atividade inflamatória sistêmica. Identificar, além dos sintomas clínicos, possíveis alterações bioquímicas e de neuroimagem em pacientes com SZ pode ajudar em futuras intervenções tanto para identificar, como para prevenir ou atenuar o curso da SZ. Estudos que permitam avançar no entendimento da psicopatologia deste grupo de pacientes são de grande importância, na medida em que proporcionarão futuras abordagens terapêuticas.

Está bem estabelecido que a matéria cinzenta cortical e o volume de córtex pré-frontal estão diminuídos em pacientes com SZ. Entretanto, os fatores que levam à perda de tecido não estão claras. Uma hipótese para esse fato é que o estado pró-inflamatório aumentado em SZ está relacionado com a diminuição volumétrica da massa cinzenta. O objetivo deste estudo piloto foi correlacionar os níveis séricos de IL-6 com o volume cortical total de pacientes com SZ e controles. Foram selecionados 36 pacientes com SZ (28 do sexo masculino, com idade média de $37,17 \pm 12,05$; anos de doença $15,56 \pm 11,75$), 35 controles pareados idade (21 do sexo masculino, idade média= $36,97 \pm 13,04$). As imagens foram adquiridas por um equipamento de ressonância magnética *Philips Achieva* 1.5T no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brasil. Todas as imagens foram processadas usando o pipeline automatizado de *FreeSurfer* v5.1. Concluimos que a IL-6 está negativamente correlacionada com o volume cortical total ($p= 0,027$; $\rho= -0,370$) nos pacientes com esquizofrenia, tal correlação não foi vista nos controles ($p= 0,235$, $\rho= -0,206$). Nosso resultado sugere que a ativação inflamatória crônica em pacientes com SZ pode estar relacionada com a diminuição volumétrica total do córtex.

Palavras chave: Esquizofrenia, Volume cortical, Interleucinas, Biomarcadores.

ABSTRACT

Schizophrenia (SZ) is a chronic and severe mental illness, which affects the psychosocial functioning of the individual in many degrees. It reaches 1% of the population, considering all its spectrum of symptoms (DSM-IV). Poor cognitive functioning is one of the main factors responsible for the high rates of disability and costs associated with schizophrenia. The etiology of SZ is unknown, and many etiological assumptions are taken, as genetic factors, viral epidemics during pregnancy, time of birth, birth trauma, perinatal infections, neuropsychiatric or neurological conditions that produce symptoms like schizophrenia or unnatural development (assessed by psychological tests, neuroimaging and neuropathological studies that suggest changes in brain development). The pathophysiology of SZ may be due to a deregulation in synaptic plasticity caused by changes in neurotrophins, free radicals and inflammatory processes. There is a wide evidence that free radicals may have a main role in the pathophysiology of SZ, and can induce damage into the membrane cell, in proteins and DNA. Problems with oxidative stress, such as increased lipid peroxidation have been previously reported in treatment virgem patients with SZ in first episodes and in those chronically treated. And inflammatory cytokines have been studied as important parts in the etiology of psychiatric diseases' development. Its role is not well established, however a number of changes have been noticed in psychiatric illnesses. Among the cytokines, the Interleukins (IL) and the tumor necrosis factor alpha (TNF- α) stand out, these two may have inflammatory and anti-inflammatory action. Among the pro-inflammatory, we can highlight IL-6 and TNF- α . IL change in the SZ has been reported in these last few years, related to the etiology and disease activity. Patients with acute episode of the disease showed increased serum levels of IL proinflammatory suggesting systemic inflammatory activity. Identify not only the clinical symptoms, possible biochemical and neuroimaging abnormalities in patients with SZ can help in future interventions both to identify and prevent or slow down the course of SZ. Studies to enable progress in the understanding of psychopathology this group of patients are of great importance to the extent that provide future therapeutic approaches. It is well established that cortical gray matter and the prefrontal cortex volume are reduced in patients with SZ. However, the factors that lead to tissue loss are unclear. One

possible explanation is that the increased proinflammatory state in SZ is related to the volumetric reduction of the gray matter. The objective of this pilot study was to correlate serum levels of IL-6 in the whole cortex volume of schizophrenic patients and controls. We selected 36 patients with SZ (28 male, average age 37.17 ± 12.05 ; years of illness 15.56 ± 11.75), 35 matched controls (21 male, average age = 36.97 ± 13.04). Images were obtained by an MRI equipment, brand Philips Achieva 1.5T at Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Brazil. All images were processed using automated pipeline FreeSurfer v5.1. We concluded that IL-6 is negatively correlated with the total cortical volume in patients ($p = 0.027$, $\rho = -0.370$), this correlation was not seen in controls ($p = 0.235$; $\rho = -0.206$). Our results suggest that chronic inflammatory activation in patients with SZ can be related to the total volumetric reduction of the cortex.

Key words: Schizophrenia, Cortical volume, Interleukins, Biomarkers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Tamanho de efeito de regiões cerebrais quando comparados pacientes medicados e não medicados.....	18
Figura 2 - <i>FreeSurfer</i>	26

LISTA DE TABELAS

Table (article) 1 - Characteristics of healthy controls and patients with schizophrenia	35
---	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APPs: acute phase proteins
BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro
BPRS: *brief psychiatry rating scale*
CSF: líquido cérebro-espinhal
GM: substância cinzenta
ICBM: *international consortium for brain mapping*
ICV: volume intracraniano
IFN: interferon
IL: interleucina
LCR: líquido cefalorraquidiano
MRI: magnetic resonance imaging
NIH: *national institute of health*
NK: *natural killer*
PFC: córtex pré-frontal
RF: radiofrequência
RM: ressonância magnética
ROI: região de interesse
SB: substância branca
SC: substância cinzenta
SCID: entrevista clínica estruturada para o DSM-IV, do inglês, structured clinical interview for DSM-IV
SPM: mapeamento estatístico paramétrico
SZ: esquizofrenia, do inglês, schizophrenia
TB: transtorno bipolar
TBV: volume cerebral total
TGF- β : fator de transformação do crescimento beta
TNF- α : fator de necrose tumoral
VBM: volumetria voxel-a-voxel
WM: substância branca

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 ESQUIZOFRENIA.....	13
2.1.1 Esquizofrenia e cognição	14
2.1.2 Aspectos neurobiológicos	15
2.1.3 Citocinas.....	16
2.1.4 Neuroimagem	17
2.1.5 Córtex pré-frontal.....	20
2.1.6 Ressonância magnética.....	21
2.1.7 FreeSurfer	24
3 JUSTIFICATIVA	28
4 OBJETIVOS	29
4.1 OBJETIVO PRINCIPAL	29
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
5 METODOLOGIA	30
5.1 ASPECTOS ÉTICOS	31
6 ARTIGO CIENTÍFICO	32
CORTICAL VOLUME IS DECREASED IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA AND INVERSELY CORRELATED WITH INTERLEUKIN-6 SERUM LEVELS	32
CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
REFERÊNCIAS	39
ANEXOS	49
ANEXO A - Protocolo utilizado no estudo	49
ANEXO B - Termo de consentimento livre e esclarecido pacientes SZ.....	59
ANEXO C - Termo de consentimento livre e esclarecido pacientes controles.....	61

1 INTRODUÇÃO

A esquizofrenia (SZ) é um transtorno psiquiátrico grave que acomete cerca de 1% da população mundial, comprometendo o funcionamento psicossocial do indivíduo nos mais variados graus (1-3). A fisiopatologia da SZ não é totalmente esclarecida. Alguns estudos têm sugerido que um dos fatores etiológicos da SZ poderia ser um desequilíbrio na regulação da plasticidade sináptica (4) por alterações de neurotofina, radicais livres e processo inflamatório (5).

A inflamação sistêmica crônica, na SZ, pode explicar o aumento de anormalidades metabólicas que ocorrem nesses pacientes em relação à população geral, como diabetes, hipertensão arterial, obesidade e dislipidemia (6). Segundo Lieberman (1999) (7), a esquizofrenia apresenta um padrão único e grave de deterioração clínica no início da doença. Confirmando essa hipótese, estudos recentes sugerem um padrão similar de ativação imune crônica (8, 9).

O uso de técnicas de neuroimagem cada vez mais sofisticadas permite a investigação de anormalidades neuroanatômicas estruturais e funcionais em associação com esses transtornos, especialmente utilizando estudos de volumetria (10). Estudos que permitam avançar na compreensão do papel dos biomarcadores nestes pacientes são de maior importância a fim de personalizar e otimizar o tratamento da SZ.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ESQUIZOFRENIA

A SZ é caracterizada por uma ampla gama de sintomas, classificados em categorias: positivos, negativos, cognitivos e de humor (2). Os sintomas positivos incluem delírios, alucinações, discurso e comportamentos desorganizados ou catatônicos, enquanto que a alogia (ausência de fala), avolição (reduzida motivação), embotamento emocional, englobam sintomas negativos, bem como distúrbios do humor e isolamento social (2, 11). O funcionamento cognitivo pobre é um dos principais fatores que explicam as elevadas taxas de prejuízo psicossocial e encargos associados com a SZ.

A causa da SZ é desconhecida, tendo muitas hipóteses etiológicas como fatores genéticos, epidemias virais durante a gestação, época de nascimento, traumatismos de parto, infecções perinatais, condições neurológicas ou neuropsiquiátricas que geram sintomas esquizofrênicos ou desenvolvimento anormal (avaliados por testes psicológicos, estudos de neuroimagem e neuropatológicos que sugerem alterações no desenvolvimento cerebral) (2).

Existe uma larga evidência de que os radicais livres podem ter um papel importante na patofisiologia da SZ (12-14), induzindo danos na membrana celular, em proteínas e DNA. Prejuízos com a defesa antioxidante e aumento da lipoperoxidação foram relatados em pacientes com SZ em primeiro episódio, virgens de tratamento e naqueles cronicamente medicados (13-15).

O encurtamento acelerado dos telômeros e a diminuição da atividade da telomerase também têm sido descritos na SZ (16-18). A presença de perda significativa do telômero neste transtorno implica em um componente de envelhecimento anormal e pode ser um marcador de traço da doença causado pelo estresse oxidativo e pela instabilidade do DNA (16, 17).

A proporção entre os sexos varia de acordo com as amostras e populações em estudo (1). Por exemplo, pesquisas com ênfase em sintomas negativos e em longa duração do transtorno (associadas com pior prognóstico) apresentam maior incidência em homens, enquanto definições que permitem a inclusão de mais

sintomas de humor e apresentações breves (associadas com melhor prognóstico) mostram riscos equivalentes para ambos os sexos (1).

Em relação aos homens, as mulheres têm menos sintomas negativos, menos prejuízo cognitivo e melhor resposta ao tratamento; porém, com sintomas afetivos mais graves (19). A idade de início da doença é variável e pode ocorrer entre os 15 e os 45 anos, com um pico no final da adolescência para homens, e cerca de 5 a 7 anos depois para as mulheres (19). Já as mulheres apresentam ainda um segundo pico de incidência da doença após os 40 anos de idade, incomum em homens (19).

Os fatores genéticos têm grande importância no desenvolvimento da SZ. Estudos realizados há mais de 50 anos mostraram que familiares de qualquer grau de pacientes com SZ têm risco maior de desenvolvimento da doença quando comparados com a população em geral (20-22). Estima-se que o coeficiente de herdabilidade da SZ seja cerca de 80%; o que a coloca entre as doenças com maior herdabilidade (21, 23).

Outros fatores de risco para o transtorno são: infecções e desnutrição durante a gestação, nascimento no inverno, complicações obstétricas e perinatais, uso de cannabis e idade paterna avançada (20, 24-30), viver em áreas urbanas e ser imigrante (31, 32).

2.1.1 Esquizofrenia e cognição

Alguns estudos vêm sendo realizados no sentido de caracterizar suas principais alterações neurocognitivas, identificar suas bases neurobiológicas e padronizar instrumentos de pesquisa, fundamentais para o advento de novos alvos para intervenções terapêuticas (33).

No início da doença os pacientes com SZ apresentam disfunção cognitiva que é mais pronunciada no estágio prodrômico do que no pré-mórbido, e nos primeiros anos após diagnóstico, então passa a manter um padrão estável de deterioração (34).

O declínio na função intelectual geral (entre as idades de 4 e 7 anos) e baixos escores, persistentemente, em testes cognitivos durante a infância precoce (idades

entre 3 e 11 anos) mostram alguma especificidade para a SZ e transtornos do seu espectro, enquanto que problemas emocionais e sociais parecem não ser indicadores específicos para uma variedade de desfechos psiquiátricos no adulto (35). Por estas razões, essas medidas mostram-se promissoras como endofenótipos para estudos genéticos na SZ (35).

Pacientes com SZ apresentam *déficits* cognitivos com níveis de funcionamento abaixo da média (36). O perfil neuropsicológico da SZ é tipicamente caracterizado por prejuízos específicos na memória e aprendizado, memória de trabalho, funções executivas, atenção e velocidade de processamento (37).

2.1.2 Aspectos neurobiológicos

Conforme alguns estudos, a SZ é uma doença poligênica, com uma interrelação complexa de diversas variações genéticas, que sozinhas têm efeito pequeno, mas contribuem significativamente para o desenvolvimento da doença (38, 39).

Outras teorias recentes direcionam-se para um conceito global, considerando a SZ um transtorno do neurodesenvolvimento, uma combinação de fatores genéticos e/ou ambientais iniciais que interagem com o processo de amadurecimento do cérebro e levam aos sintomas que caracterizam a doença (40). Existem indícios de que durante o período da adolescência, quando o córtex pré-frontal (PFC) ainda não está completamente desenvolvido, ocorra uma falha na poda das sinapses e na organização de circuitos inibitórios, o que pode levar à hiperfunção dopaminérgica que parece ter relação com o episódio psicótico (41).

As teorias neuroquímicas para a SZ baseiam-se em um modelo fisiopatológico em que as alterações de um sistema neurotransmissor específico seriam responsáveis pelo quadro clínico dos pacientes (40). Porém, as relações entre os sistemas de transmissão têm sido levadas em conta cada vez mais para a formulação de modelos mais complexos da doença (40).

Ainda que várias hipóteses bioquímicas tenham sido desenvolvidas para explicar a gênese da SZ, a hiperfunção dopaminérgica central, atualmente, é a mais bem investigada e mais aceita (40). Entretanto, é preciso considerar que, além do

sistema dopaminérgico, outras alterações cerebrais desempenham algum papel, sendo provável que várias delas estejam envolvidos simultaneamente (42).

2.1.3 Citocinas

Há implicação importante da inflamação nos mecanismos fisiopatológicos e etiológicos da SZ (5, 8, 9, 43-52). Também existem dados da literatura indicando ocorrência de um estado inflamatório hiper-regulado nas fases precoce e tardia da SZ (13-15, 53, 54).

As citocinas são proteínas ou glicoproteínas envolvidas no desenvolvimento, coordenação e supressão das respostas imunológicas e execução de ações neuromodulatórias. Elas têm a função de fazer a emissão de sinais entre as células durante o desencadeamento das respostas imunes (9). Existem mais de 100 citocinas identificadas, formando uma superfamília, que engloba IL (interleucinas), quimiocinas, interferonas, fatores estimuladores de colônia, fatores de crescimento e TNFs (Fator de Necrose Tumoral) (55). As citocinas também coordenam o sistema imunológico inato e adaptativo e são fundamentais na relação entre o sistema nervoso central e o sistema imune (55-57).

Conforme sua atividade, as citocinas podem ser pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias. As citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF-alfa e interferon (IFN) levam à ativação dos macrófagos, células NK (do inglês *Natural Killer Cell*), células T e células B e proliferação de imunoglobulinas (58). As citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-10, IL-13, fator de transformação do crescimento beta - TGF- β) reduzem a resposta inflamatória por meio da diminuição das citocinas pró-inflamatórias e da supressão de monócitos (58, 59).

O nível sérico elevado da IL-6 em pacientes esquizofrênicos considerado em uma meta-análise que incluiu 19 estudos e 1219 pacientes (49, 59) é uma das conclusões mais importantes na pesquisa dos marcadores inflamatórios. Uma análise recente apresentou que os pacientes com primeiro episódio de psicose tinham níveis elevados de IL-6, assim como hiper-expressão do seu gene, quando comparados aos controles, sugerindo um estado pró-inflamatório, associado com

níveis reduzidos de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e com um menor volume do hipocampo (52). Uma meta-análise a respeito das citocinas na SZ, realizada por Miller et al. (2011) (9) também encontrou níveis aumentados de IL-6 em pacientes com esquizofrenia com sintomas agudos quando comparados aos controles.

Kunz et al. (2011) analisaram várias citocinas inflamatórias em 20 pacientes bipolares eutímicos, 53 pacientes com SZ cronicamente estabilizados e 80 controles saudáveis (8). As evidências encontradas apontam para uma ativação imune crônica na SZ: níveis séricos de IL-6 aumentados nos pacientes com esta doença quando comparados aos controles e aos pacientes bipolares eutímicos (8).

Outra meta-análise recente apresentou como resultado níveis de IL-10 significativamente diminuídos em pacientes com SZ com sintomatologia aguda em relação aos controles (9).

Pedrini et al. (2012) (60) estudaram os marcadores biológicos em diferentes estágios da SZ, sugerindo que esta doença está associada a uma ativação pró-inflamatória e a um estado de estresse oxidativo. Os danos ao sistema nervoso central ocorrem precocemente na SZ, levando à presença de um componente degenerativo desde o início deste transtorno. Neste estudo, não encontraram diferença nos níveis séricos tanto dos marcadores de estresse oxidativo quanto das citocinas nos pacientes com início recente da doença e com SZ crônica.

Este estudo identificou um padrão diferente dos níveis séricos da quimiocina CCL-11 nos estágios precoce e tardio da SZ. Não ocorreu diferença nos níveis da CCL-11 em pacientes com início recente de doença; porém, houve aumento nos pacientes com SZ crônica em relação aos seus controles. Esse resultado sugere que a CCL-11 pode vir a ser um marcador periférico para o envelhecimento patológico que ocorre na SZ e que esse padrão clínico poderia ser devido a um tônus pró-inflamatório acentuado na doença (61).

2.1.4 Neuroimagem

A diminuição na espessura cortical tem sido relacionada com *déficits* neuropatológicos em diversos transtornos psiquiátricos (62). A mensuração acurada

da espessura do córtex cerebral tem contribuído de forma relevante para o melhor entendimento das alterações neuroanatômicas específicas de cada patologia.

Diversas alterações em neuroimagem têm sido relacionadas à SZ. Uma recente metanálise publicada por Haijma et al. (2012) (63), em que cerca de 18 mil participantes foram incluídos, mostrou que das 38 regiões cerebrais incluídas 31 estavam diminuídas na SZ, dentre elas: substância cinzenta (SC) total, lobo frontal, hipocampo, amígdala, caudado e tálamo, enquanto líquido cérebro-espinhal, ventrículos e globo pálido apresentavam-se aumentados. Nesse mesmo estudo, quando se dividiam pacientes em medicados e não medicados e os comparavam aos controles, o núcleo caudado e o tálamo estavam mais diminuídos em indivíduos não medicados (Figura 1).

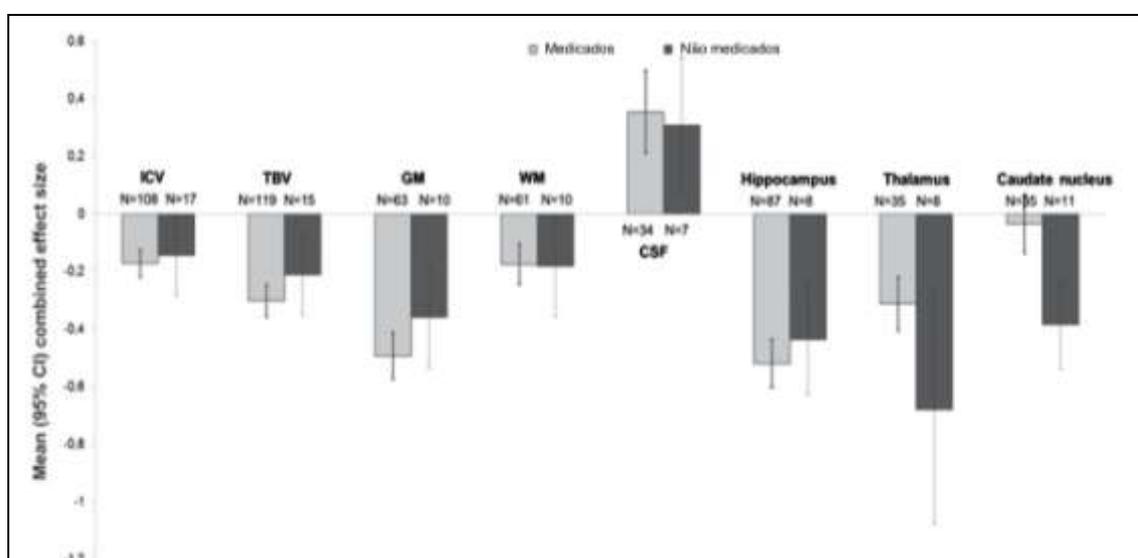


Figura 1 - Tamanho de efeito de regiões cerebrais quando comparados pacientes medicados e não medicados.

Fonte: Adaptado de Haijma, *et al.* (2012) (63). Abreviações: ICV = Volume intracraniano; TBV = Volume cerebral total; GM = Substância cinzenta; WM = Substância Branca; CSF = Líquido cérebro-espinhal

Estudos longitudinais de neuroimagem têm relacionado uma maior perda de volume cerebral e aumento de ventrículos com o curso da doença quando comparados com controles (64, 65). Em diversos estudos longitudinais realizados por DeLisi e colaboradores (2004) (66), e seu grupo, mostraram que as alterações

morfométricas em cérebro de pacientes com SZ ocorrem nos primeiros anos da doença instalada, estimando que ocorram perdas em cerca de 3% do volume cerebral por ano nesses pacientes (66-68).

A associação entre diminuição de volume cerebral e prejuízo cognitivo em pacientes com SZ foi primeiramente publicada há mais de 40 anos (69). Estudos mais recentes que correlacionam volumes subcorticais e funções cognitivas nesses pacientes mostram que a memória de trabalho está associada com o volume de hipocampo e caudato, enquanto função executiva pode ser relacionada com putamen. Não há estudos relacionando associação entre citocinas o estresse oxidativo com alterações em neuroimagem em pacientes com SZ (70, 71).

Para que seja possível fazer a quantificação de volumes de diferentes regiões cerebrais em estudos de ressonância magnética (RM), são necessárias técnicas de processamento de imagem. Os métodos de processamento mais usados são a volumetria manual e o processamento automático voxel-a-voxel.

Na volumetria manual é realizada uma delimitação de regiões de interesse (*regions of interest* - ROIs); já os métodos de processamento automático voxel-a-voxel realizam uma série de transformações nas imagens para que as mesmas sejam analisadas estatisticamente. Essas novas técnicas mantêm viva a expectativa de que a neuroimagem pode ajudar em futuras intervenções tanto para identificar como para prevenir ou atenuar o curso da SZ.

Alguns estudos de neuroimagem funcional indicam alterações da ativação cerebral em tarefas, ocorrendo menor ativação na região frontal e maior ativação em regiões cerebrais mediais nos pacientes com SZ (72). É apontada em estudos longitudinais de neuroimagem estrutural uma redução progressiva do volume de massa cinzenta em várias regiões cerebrais destes pacientes (73). Essas reduções podem caracterizar uma alteração da plasticidade sináptica, resultante do desenvolvimento anormal de circuitos neuronais, incluindo os circuitos do córtex dorsolateral pré-frontal e o hipocampo (73).

Sabe-se que há diminuição da substância cinzenta na SZ, principalmente no lobo frontal esquerdo, detectada por VBM (*Voxel-based-morphometry*) (72, 73). Estudos com VBM também demonstraram redução da substância branca (SB) em pacientes com SZ comparados com controles (73). A distribuição das alterações na substância branca permanece incerta na SZ (74).

2.1.5 Córtex pré-frontal

O córtex pré-frontal (PFC) é a parte anterior do lobo frontal do cérebro, localizado anteriormente ao córtex motor primário e ao córtex pré-motor. Esta região cerebral está relacionada ao planejamento de comportamentos e pensamentos complexos, expressão da personalidade, tomadas de decisões e modulação de comportamento social (75). A atividade básica dessa região é resultado de pensamentos e ações em acordo com metas internas (76). Muitos autores indicam uma ligação entre a personalidade de uma pessoa e o funcionamento do PFC (75-77).

O processo neuropsicológico mais importante relacionado com o PFC é a função executiva. Esta função relaciona-se a habilidades para diferenciar pensamentos conflitantes, consequências futuras de atividades correntes, trabalho em relação a uma meta definida, previsão de fatos, expectativas baseadas em ações e controle social. Portanto, planejamento, tomada de decisão, controle inibitório, atenção e memória de trabalho são consideradas funções que podem ser classificadas como funções executivas, com uma ativação predominante do PFC. Essa estrutura cerebral tem uma grande implicação no comportamento social, prejuízos nas funções relacionadas ao PFC conduzem a uma maior impulsividade, agressividade e inadequação social (78).

O relacionamento concreto entre regiões corticais e as emoções ocorreu em 1939. Nesse ano os pesquisadores Heinrich Klüver e Paul Bucy observaram uma síndrome comportamental dramática em macacos depois de submeterem os animais a uma lobotomia temporal bilateral. Os macacos, apesar de muito selvagens e agressivos, tornaram-se mansos e demonstravam um apagamento das emoções. Esse embotamento de emoções manifestava-se, inclusive, como uma espécie de cegueira emocional; os animais não se mobilizavam com objetos familiares nem com os de sua espécie.

A área pré-frontal não faz parte do sistema límbico, entretanto, as intensas conexões que ela mantém com o tálamo, amígdala e outras estruturas subcorticais límbicas justificam seu importante papel na expressão dos estados emocionais. Ela

mantém conexões com o sistema límbico e com o núcleo dorso medial do tálamo (79).

A mais importante função associativa do lobo pré-frontal parece ser, efetivamente, integrar informações sensitivas externas e internas, pesar as consequências de ações futuras para efetuar o planejamento motor de acordo com as conclusões (80).

2.1.6 Ressonância magnética

Atualmente a RM é a técnica mais sofisticada para obter imagens morfológicas do encéfalo. O campo magnético de 1,5 T é o mais utilizado; no entanto, já existem equipamentos mais potentes fabricados recentemente, como 3 T e 7 T (81).

As propriedades de RM têm origem na interação entre um átomo em um campo magnético externo; de forma mais precisa, é um fenômeno em que partículas contendo momento angular e momento magnético exibem um movimento de precessão quando estão sob ação de um campo magnético (82).

Os principais átomos que compõem o tecido humano são: hidrogênio, oxigênio, carbono, fósforo, cálcio, flúor, sódio, potássio e nitrogênio. Com exceção do hidrogênio, eles possuem no núcleo atômico prótons e nêutrons. Mesmo que outros núcleos possuam propriedades que permitam a utilização em RM, o hidrogênio é o escolhido.

Para alinhar o núcleo de hidrogênio (próton) que existe em cada célula do corpo humano (como nos equipamentos de RM) é preciso um campo magnético intenso. Uma vez alinhados os núcleos de hidrogênio, o aparelho emite uma frequência de 63,8 MHz causando a excitação destes núcleos. A excitação dos núcleos de hidrogênio gera uma onda de energia, conhecida como ressonância. Por meio desta onda de energia o aparelho determina a posição espacial (coordenadas x,y,z) e a intensidade do sinal (brilho) de cada ponto da imagem. Após receber cada pulso de radiofrequência (RF) os *spins* voltam a se realinhar liberando energia. A energia liberada é captada pelas bobinas (*coils*) considerando suas coordenadas espaciais que, após conversão por cálculo matemático, geram as imagens (83, 84).

O *pixel* é o menor ponto da imagem que pode ser obtido. Assim, uma imagem é formada por certa quantidade de *pixels*. O conjunto de *pixels* está distribuído em colunas e linhas que formam a matriz. Quanto mais *pixels* existirem em uma matriz, melhor será sua resolução espacial, proporcionando melhor diferenciação espacial entre as estruturas.

Depois de processos de reconstrução matemática se obtém o Voxel (unidade 3D) capaz de designar a profundidade na imagem radiológica. Pela normalização dos exames de RM em modelos padrão (“*templates*”) de encéfalos, podem ser feitas análises de grupos e comparação com voxels individuais e não com estruturas encefálicas maiores.

Estes métodos possuem várias limitações como amostras pequenas de pacientes normais, o contorno de algumas estruturas encefálicas não terem limites tão bem definidos, distorções de algumas regiões encefálicas importantes incluindo o PFC. Também podem não ser detectadas estruturas relativamente pequenas em áreas maiores por esses *softwares* (81, 85).

Mais modelos (*templates*) de encéfalos normais com amostras mais representativas, como a do *Montreal Neurologic Institute*, têm sido utilizados para diminuir essas distorções introduzidas inevitavelmente por esses processos (86).

Outras técnicas de morfometria baseadas em VBM são aplicadas em estudos de pacientes com transtorno bipolar (TB), como morfometria baseada em deformação (“*deformation-based morphometry*”). A mensuração da espessura cortical de todo o encéfalo e todas essas técnicas em conjunto têm possibilitado uma análise mais detalhada das diferenças neuroanatômicas encefálicas dos pacientes com TB e dos controles normais (87, 88).

A medida é individualizada por ROIs para se ter certeza de que não estão sendo misturados os voxels da SB e do líquido cefalorraquidiano (LCR) na mesma região. Alguns estudos têm utilizado a análise voxel-a-voxel (VBM). As distorções anatômicas são inevitáveis quando se utiliza normalização de encéfalos individuais com modelos padronizados (*templates*) (89).

Os métodos de processamento mais usados para a avaliação dos volumes das estruturas cerebrais são a volumetria manual e o processamento automático voxel-a-voxel. Na volumetria manual é realizada uma delimitação de regiões de interesse, já os métodos de processamento automático voxel-a-voxel realizam uma

série de transformações nas imagens para que as mesmas sejam analisadas estatisticamente.

Houve avanços nas técnicas de avaliação dos volumes das estruturas encefálicas na última década (86, 88). A maioria dos estudos eram realizados com métodos de delineamento manual para quantificação da SC; porém, esses métodos de delineamento manual são observador dependente, conseqüentemente mais sujeitos a imprecisões e vieses, apresentando baixa reprodutibilidade quando a imagem é avaliada por pesquisadores diferentes, ou pelo mesmo observador em tempos diferentes.

Ainda que sejam amplamente difundidos e validados, os métodos de ROI (*Region of interest*) apresentam limitações importantes (81). Nos últimos anos, novos métodos de análise de imagens têm sido desenvolvidos com o objetivo de superar as dificuldades das técnicas baseadas na delimitação de ROIs. Entre estes, um dos mais promissores é o da morfometria baseada no voxel (VBM) (90). Um dos programas que vem sendo amplamente difundido para este fim é o mapeamento estatístico paramétrico (SPM – do inglês *Statistical Parametric Mapping*).

Este programa foi desenvolvido por membros do *Wellcome Department of Cognitive Neurology*, UK (91-95), e funciona sobre a plataforma do programa MATLAB (Mathworks Inc, Sherborn, MA, USA). Nesses estudos, as imagens de cada sujeito são transformadas de forma a se conformar a um espaço anatômico padronizado e em seguida são feitas comparações estatísticas entre grupos para cada voxel do volume cerebral.

A adaptação da metodologia descrita acima para estudos de RM estrutural (VBM) segue os padrões de adaptação para RM estrutural definidos inicialmente por Wright et al. (1995) (96). Esta adaptação permite a comparação da concentração local de SC entre dois grupos de sujeitos para cada um dos milhares de voxels de todo o volume cerebral. Tal volume de busca é composto de aproximadamente 250.000 voxels (medindo 2 mm³ cada um) somente para o compartimento de SC.

Os métodos de VBM representam um avanço importante por serem menos laboriosos, não dependerem do observador e não serem tendenciosos para uma estrutura cerebral em particular, podendo fornecer uma avaliação das diferenças anatômicas entre grupos através de todo o cérebro ao contrário da técnica por ROIs (90).

Para que seja possível aplicar este tipo de análise estatística voxel-a-voxel, etapas de pré-processamento de imagens precisam ser cumpridas, incluindo: conversão das imagens para o formato *Analyze*; redefinição do ponto central da imagem, reorientação da imagem; normalização espacial; segmentação e suavização das imagens. A etapa final consiste na aplicação de um teste estatístico para cada *voxel* do volume cerebral, que permite a produção de mapas estatísticos paramétricos, os quais evidenciam os *voxels* com intensidade de sinal (concentração) de substância cinzenta significativamente diferente entre os grupos estudados, num determinado limiar de significância estatística definido pelo pesquisador.

O processo da normalização espacial permite realizar o alinhamento de imagens de RM dentro do espaço padrão definido pelo modelo ideal ou imagem-modelo (*template*). A imagem-modelo aplicada com o SPM é conformada para o espaço definido pelo *International Consortium for Brain Mapping* (ICBM) e o projeto P-20 do *National Institute of Health* (NIH P-20), aproximando-se do espaço descrito no Atlas Estereotáxico do Cérebro Humano (97). A normalização espacial do SPM consiste em realinhar a imagem cerebral adquirida tendo outra imagem cerebral padrão como guia, sendo esta adequada ao modelo neuroanatômico do atlas.

A segmentação em imagens cerebrais de RM tem por finalidade separar os compartimentos de SC, SB e LCR, fazendo com que as imagens correspondentes a cada um destes compartimentos tornem-se um arquivo separado. Os filtros de suavização são utilizados para borramento e redução de ruído.

2.1.7 FreeSurfer

O avanço das técnicas de RM para o diagnóstico de patologias em neurologia e psiquiatria requer a avaliação de um número cada vez maior de imagens. Nesse sentido, o *software Freesurfer* (*Athinoula A. Martinos Center for Biomedical Imaging, Massachusetts General Hospital, Boston*) tem sido extensivamente empregado, permitindo obter informações não visíveis inicialmente.

FreeSurfer é um conjunto de ferramentas para a análise de dados de neuroimagem que fornecem um conjunto de algoritmos para quantificar as

propriedades funcionais, estruturais e de conexão do cérebro humano. Ela tem evoluído a partir de um pacote destinado principalmente à geração de representações superficiais do córtex cerebral em um *software* que automaticamente cria modelos de estruturas mais visíveis macroscopicamente do cérebro humano, dada qualquer imagem de entrada ponderada em T1 (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>) (98).

A segmentação de campos sub-hipocampal (99), o alinhamento inter-tema com base em padrões de dobramento corticais (100), a segmentação dos fascículos utilizando difusão MRI (do inglês *magnetic resonance imaging*) (101), divisão em parcelas de padrões de dobramento corticais (102-104), a estimativa de limites arquitectônicos a partir de dados *in vivo* (105, 106), mapeamento da espessura da matéria cinzenta cortical (107) e a construção de modelos de superfície do córtex cerebral humano (108, 109). É esta última funcionalidade da construção de modelos da superfície cortical que foi a motivação para o desenvolvimento do *software* que acabaria por se tornar *FreeSurfer*.

Esse *software* segue os seguintes procedimentos: correção de movimento; remoção de tecido não cerebral (Figura 2A) (108); transformação automatizada para espaço *Tailarach*; segmentação de massa branca subcortical e estruturas volumétricas profundas de massa cinzenta; normalização da intensidade; tesselação dos limites das bordas entre massa cinzenta e branca (Figura 2B) (108); correção automatizada de defeitos topológicos; deformação da superfície para formar a fronteira entre massa branca e massa cinzenta e a fronteira entre massa cinzenta e LCR; inflação da superfície (Figura 2C); registro da imagem para o atlas esférico que utiliza o padrão individual de circunvoluções do córtex para parear a geometria cortical entre os diferentes sujeitos a serem comparados (Figura 2D); parcelamento do córtex cerebral em unidades baseadas na estrutura dos giros e sulcos corticais (Figura 2E) (102); e geração de uma variedade de dados baseados nessas superfícies analisadas, incluindo mapas corticais sobre a curvatura cerebral, profundidade de sulcos, volume de diversas áreas cerebrais e cálculo da espessura do córtex de todas as regiões do mesmo (109, 110).

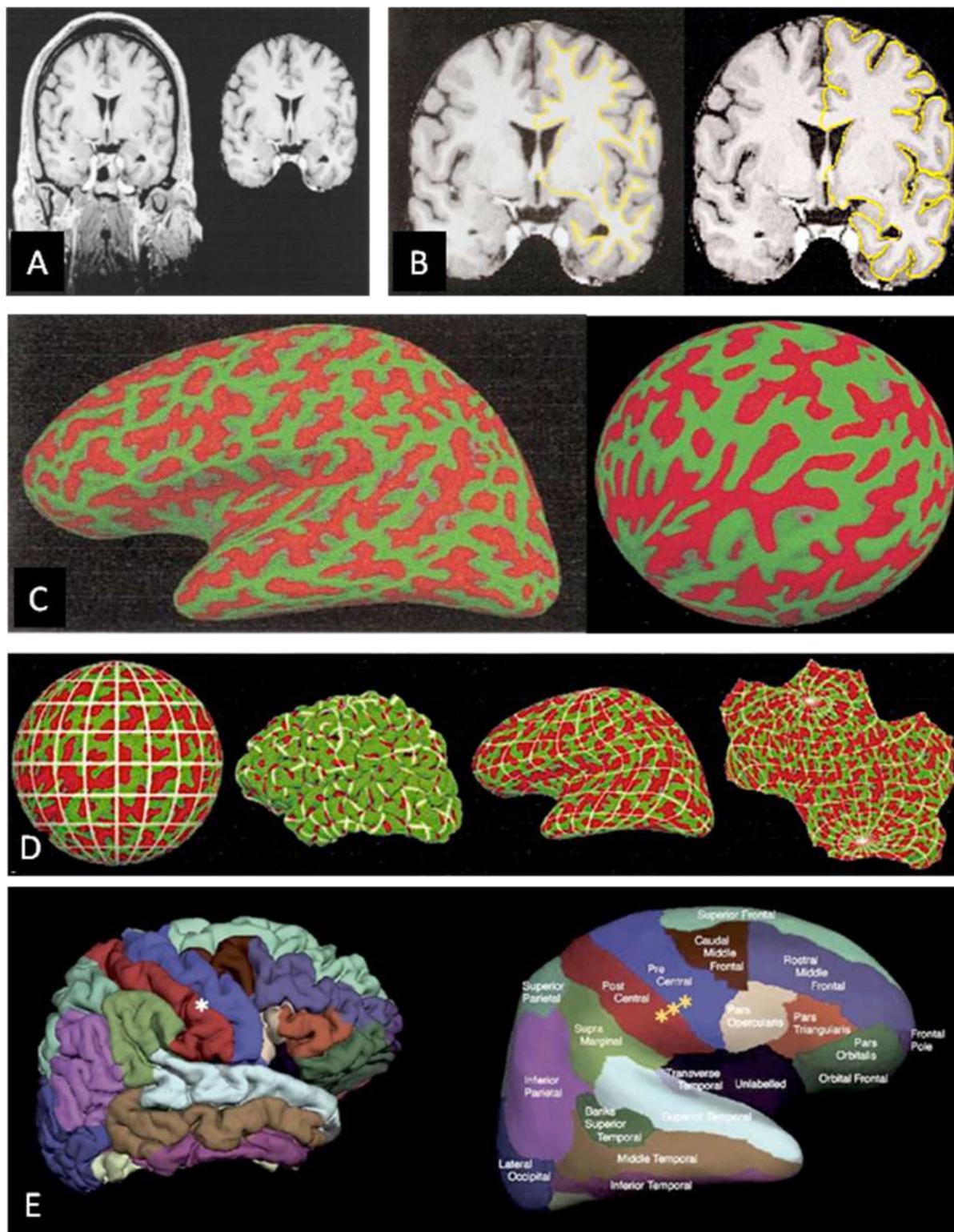


Figura 2 - FreeSurfer.

Remoção de tecido não cerebral (A); Tesselação dos limites das bordas entre massa cinzenta e branca (B); Inflação da superfície e registro para o atlas esférico (C); Outras representações do atlas esférico (D) e Parcelamento do córtex cerebral - vista lateral.

Fonte: Adaptada de Desikan et al. (2006) (102).

O atlas esférico forma um sistema de coordenadas em que a correspondência ponto-a-ponto entre os indivíduos pode ser alcançada naturalmente. Este sistema de coordenadas pode, então, ser utilizado para criar mapas de grupo. A maior parte do *FreeSurfer* é automatizado, o que o torna ideal para o uso em grandes conjuntos de dados.

O *FreeSurfer* tem várias ferramentas gráficas interativas para visualização de dados, análise e gerenciamento. O *FreeSurfer* também tem uma interface gráfica para ajudar na gestão e análise de grupos de dados. Isto permite aos usuários iniciar as análises, bem como ver os volumes e as superfícies e fazer edições manuais para todos os indivíduos no banco de dados. Está sendo constantemente melhorado e está sendo usado para melhorar a compreensão de uma variedade de distúrbios neurológicos (111).

3 JUSTIFICATIVA

Uma vez que há evidências crescentes das alterações de volume de córtex cerebral em pacientes com SZ e que esses pacientes também apresentam um tônus pró-inflamatório acentuado, justifica-se investigar possíveis correlações de marcadores inflamatórios séricos com tamanho cortical total nessa população.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Avaliar a correlação entre o volume cortical total e os níveis séricos de IL-6 em pacientes com SZ e em controles.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar os níveis séricos de IL-6 em pacientes com SZ e controles.
- Verificar o volume cortical total em pacientes com SZ e controles.

5 METODOLOGIA

Os pacientes foram recrutados no ambulatório do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Todos os indivíduos tinham pelo menos 18 anos e não mais do que 60 anos. Nenhum deles tinha qualquer doença neurológica, tumor cerebral, doença da tireóide, doença hepática grave, doença cardíaca grave ou qualquer outro diagnóstico psiquiátrico. A remissão sintomática foi definida como BPRS (*Brief Psychiatry Rating Scale*) com pontuação abaixo de 15 (112).

Todos os pacientes preencheram critérios para o diagnóstico de SZ (Anexo A) confirmado pela Entrevista Clínica Estruturada para o DSM-IV (SCID) e foram avaliados pela BPRS quanto ao estado psicopatológico (Anexo A).

O grupo controle foi composto por voluntários saudáveis que não tinham história atual ou anterior, bem como sem história familiar de primeiro grau de um transtorno psiquiátrico, incluindo demência ou retardo mental. Todos os indivíduos tinham pelo menos 18 anos e não mais de 60 anos. Nenhum deles tinha qualquer doença clínica grave ou qualquer diagnóstico psiquiátrico avaliado pela SCID.

Foram selecionados 36 pacientes com SZ (28 do sexo masculino, idade média de $37,17 \pm 12,05$; anos de doença $15,56 \pm 11,75$), 35 controles pareados (21 homens, idade média de $36,97 \pm 13,04$).

Os dados de RM foram obtidos em um aparelho de 1.5 *Tesla Philips Achieva* (Amsterdam, Holanda). Sequências ponderadas em T1 sagital com alta resolução 3D MPRAGE (aquisição rápida Gradiente eco preparada por magnetização) foram adquiridos com NEX= 1, matriz imagem= 256 x 232, *flip angle*= 8 graus, tempo de eco= 4 ms, tempo de repetição= 8.63 ms e voxel de tamanho de 1 x 1 x 1 mm³ e com 160 imagens.

As segmentações volumétricas corticais e subcorticais foram realizadas com o *software* de reconstrução de imagens *Freesurfer* suíte análise v.5.1.0, (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>). Este processo inclui a correção de movimento, a remoção de tecidos não cerebral (113), a transformação de *Talairach* automatizada, segmentação volumétrica da SB subcorticais e das estruturas de SC profundas (114, 115), de normalização da intensidade (116), de tesselação dos limites de SB/SC, automatização de correção de topologia (117, 118), e deformação da superfície do seguinte gradiente de intensidade para colocar de

forma ótima as SC/SB e os limites do LCR no local onde ocorre a maior mudança na intensidade e define a transição para o outro tipo de tecido (119-121).

Estudos anteriores demonstraram que segmentações subcorticais realizadas por *Freesurfer* são fiáveis quando comparado com uma segmentação manual (114, 122). Todas as imagens foram processadas e verificadas pelo mesmo pesquisador. O volume intracraniano foi regredido a partir de volumes de corpo caloso, substância branca e cinzenta. Todas as tabulações de dados e análises estatísticas foram realizadas pelo *software* SPSS versão 19.0 (*IBM SPSS Statistics for Windows, Armonk, NY: IBM Corp.*).

A citocina sérica IL-6 foi medida de acordo com os procedimentos fornecidos pelo fabricante, utilizando kit de ELISA altamente sensível para o IL-6 (*Quantikine, R & D Systems, Minneapolis, Minnesota, EUA*).

5.1 ASPECTOS ÉTICOS

Todos os participantes foram capazes de entender os instrumentos de pesquisa, e também de entender e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexos B e C), previamente à entrada no estudo. Também tinham a possibilidade de retirar o consentimento a qualquer momento. A identidade dos participantes foi mantida em sigilo durante todas as etapas do estudo, e houve a garantia de que as informações coletadas seriam utilizadas exclusivamente com finalidades científicas. Os princípios bioéticos de autonomia, beneficência, não maleficência, veracidade e confidencialidade foram seguidos. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (CEP 10-348).

6 ARTIGO CIENTÍFICO

Submetido ao *Psychiatry Reserach - Brief Report*

CORTICAL VOLUME IS DECREASED IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA AND INVERSELY CORRELATED WITH INTERLEUKIN-6 SERUM LEVELS

Sandra Polita, Bruna Panizzutti, Juliana Duarte, Clarissa S. Gama, Raffael Massuda

Sandra Polita: Laboratory of Molecular Psychiatry, National Science and Technology Institute for Translational Medicine (INCT-TM), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brazil; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil; and Department of Radiology and Magnetic Resonance Hospital de Clinicas de Porto Alegre (HCPA).

Bruna Panizzutti: Laboratory of Molecular Psychiatry, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre (RS), Brazil; Programa de Pós-graduação em Psiquiatria e Ciências do Comportamento, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS), Brazil.

Juliana Duarte: Laboratory of Molecular Psychiatry, National Science and Technology Institute for Translational Medicine (INCT-TM), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brazil; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil; and Department of Radiology and Magnetic Resonance Hospital de Clinicas de Porto Alegre (HCPA). Tomoclínica – Canoas, RS, Brazil.

Clarissa S Gama: Laboratory of Molecular Psychiatry, National Science and Technology Institute for Translational Medicine (INCT-TM), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brazil; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

Raffael Massuda: Laboratory of Molecular Psychiatry, National Science and Technology Institute for Translational Medicine (INCT-TM), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brazil; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil; and Department of Psychiatry, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, Brazil.

Please direct correspondence to: Clarissa S Gama, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, R. Ramiro Barcelos, 2350, 90035903, Porto Alegre - RS, Brazil.

Phone: +55 51 3359 8845; email: cgama@hcpa.edu.br

Abstract

It is well established that cortical volume are decreased in patients with schizophrenia (SZ). One possible explanation is that the increased pro-inflammatory status in SZ is related to volumetric decrease of gray matter. The aim of this study was to correlate interleukin 6 (IL-6) with cortical volume in patients with SZ and controls. We selected 36 patients with SZ and 35 controls. IL-6 is negatively correlated with cortical volume ($p=0.027$; $\rho=-0.370$) in patients but not in controls ($p=0.235$). Our result suggests that the chronic inflammatory activation in SZ could be one mechanism that contributes for the cortical volumetric decreases.

Key-words: Schizophrenia, MRI, Gray Matter, Interleukin-6, Biomarkers

Introduction

Schizophrenia (SZ) may be associated with progressive enlargement of brain ventricles (van Haren et al., 2012). Although not conclusive, structural deficits noted within studies include; increased lateral ventricular volumes decreased frontal lobes and thalamic volumes, grey matter loss within the anterior cingulate, superior temporal gyrus and hippocampus and decreased overall cerebral size (Andreasen et

al., 2011).

A chronic inflammatory state with increased levels of pro-inflammatory cytokines and altered levels of Th-1-like and Th-2-like cytokines may characterize SZ (Miller et al., 2011). Hypothesized signs of inflammation and monocytic activation include; increased levels of pro-inflammatory cytokines, e.g. TNF- α , IL-1 and IL-6, acute phase proteins (APPs) and complement factors (Mayilyan et al., 2006).

In animal studies IL-6 has been associated to brain anatomical abnormalities (Meyer & Feldon, 2012). The aim of this pilot study was to correlate interleukin 6 (IL-6) with cortical volume in patients with SZ and matched controls.

Methods

Seventy-one subjects were enrolled to this study protocol, thirty-six patients with SZ (28 males; mean age= 37.17 \pm 12.05; years of disease 15.56 \pm 11.75) and thirty-five controls (21 males, mean age = 36.97 \pm 13.04). Inclusion criteria for patients and controls have been described elsewhere (Czepielewski et al., 2015). All patients received pharmacological treatment by their psychiatrist according to clinical protocols. Written informed consent was obtained from all subjects in accordance with the Declaration of Helsinki and the local ethics committee approved the study protocol.

The Structured Clinical Interview for DSM-IV (SCID) Axis I and Axis II were administered to confirm diagnosis. Sociodemographic, clinical and pharmacological data were collected via a structured interview with the patient and examination of clinical records. Trained raters assessed the psychopathological status by the 18-item Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS) (Romano and Elkis, 1996). Each subject had 5 ml blood samples collected by venipuncture without anticoagulants, and serum was obtained by centrifugation at 300g for 5 min and kept frozen at 70°C for up to 6 months, until the assay. Serum IL-6 was measured according to the procedures supplied by the manufacturer using highly sensitive sandwich-ELISA kits for IL-6 (Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, Minn., USA). All samples were assayed in duplicates.

T1-weighted magnetic resonance images were acquired with a Philips

Achieva 1.5 Tesla scanner (Amsterdam, the Netherlands). The cortical volumetric segmentations were performed with the Freesurfer image analysis suite v.5.1.0, (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>). This process includes motion correction, removal of non-brain tissue, automated Talairach transformation, segmentation of the subcortical white matter and deep gray matter volumetric structures intensity normalization, tessellation of the gray matter white matter boundary, automated topology correction and surface deformation following intensity gradients to optimally place the gray/white and gray/cerebrospinal fluid borders at the location where the greatest shift in intensity defines the transition to the other tissue class. All images were processed and checked by the same researcher. Intracranial volume was regressed out from total cortex volume.

Demographic and clinical characteristics were analyzed using Chi-Square, Mann-Whitney or T-test. The correlation between cortex volume and IL-6 serum levels were obtained by Spearman-rank correlation coefficient.

Results

Demographic data and comparisons between groups are shown in table 1. IL-6 is negatively correlated with cortical volume ($p=0.027$; $\rho=-0.370$) in patients but not in controls ($p=0.235$).

Table 1 - Characteristics of healthy controls and patients with schizophrenia

	Healthy Controls (n=35)	Patients with SZ (n=36)	p- Value
Gender (Male/Female)	21/14	28/8	0.11 ^b
Age ^a	36.97 (13.04)	37.17 (12.05)	0.94 ^c
Years of education ^a	10.86 (2.54)	10.42 (3.16)	0.52 ^c
Cortical Volume (cm³) ^d	475.62	439.60	<0.001

	(483.58 – 467.66)	(447.46 -431.75)	
IL-6^e	7.51 (1.43)	6.99 (1.99)	0.61 ^f
Intracranial Volume (cm³)	1587.86 (141.16)	1583.58 (166.27)	0.91 ^c
Correlation of Cortex Volume and IL-6^g	-0.206	-0.370*	

^a Mean (S.D.)

^b Chi-Square

^c T-test

^d ANCOVA with estimate mean (95% mean confidence interval). Covariates: age years of education and intracranial volume

^e Median (Interquartile Range)

^f Mann-Whitney Test

^g Intracranial IL-6 was regressed out from cortical volume. Spearman Correlation (rho)

* P<0.05

Discussion

In our study we found a correlation with IL-6 and cortical volume in patients with SZ. An increased pro-inflammatory tonus has been one theory for the gray matter loss in SZ. Many studies highlight the importance of IL-6 as a protagonist in this inflammatory scenario, at least in acute phases (Pedrini, 2010). Our result suggests that the chronic inflammatory activation in patients with SZ could be one plausible mechanism that could contribute for the cortical volumetric decreases often seen in these populations. There are some limitations in the present study. It is a cross-sectional study; longitudinal studies are needed to relate inflammation to cortical volume.

References

- Andreasen NC, Nopoulos P, Magnotta V, Pierson R, Ziebell S, & Ho BC. Progressive brain change in schizophrenia: a prospective longitudinal study of first-episode schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2011; 70: 672-679.

- Czepielewski LS, Massuda R, Goi P, Sulzbach-Vianna M, Reckziegel R, Costanzi M, Kapczinski F, Rosa AR, & Gama CS. Verbal episodic memory along the course of schizophrenia and bipolar disorder: a new perspective. *Eur Neuropsychopharmacol* 2015; 25: 169-175.
- Mayilyan KR, Arnold JN, Presanis JS, Soghoyan AF, & Sim RB. Increased complement classical and mannan-binding lectin pathway activities in schizophrenia. *Neurosci Lett* 2006; 404: 336-341.
- Meyer U, & Feldon J. To poly(I:C) or not to poly(I:C): advancing preclinical schizophrenia research through the use of prenatal immune activation models. *Neuropharmacology* 2012; 62: 1308-1321.
- Miller BJ, Buckley P, Seabolt W, Mellor A, & Kirkpatrick B. Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects. *Biol Psychiatry* 2011; 70: 663-671.
- Potvin S, Stip E, Sepehry AA, Gendron A, Bah R, & Kouassi E. Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol Psychiatry* 2008; 63: 801-808.
- Romano F, & Elkis H. 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* 1996; 45: 6.
- van Haren NE, Cahn W, Hulshoff Pol HE, & Kahn RS. The course of brain abnormalities in schizophrenia: can we slow the progression? *J Psychopharmacol* 2012; 26: 8-14.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a chegada da RM, na década de 1990, houve um impulso na busca de um biomarcador que pudesse explicar de forma mais consistente e elucidativa a fisiopatologia dos pacientes com SZ. Estes estudos baseavam-se na avaliação estrutural das anormalidades encefálicas.

Com o avanço das técnicas modernas de neuroimagem, especialmente utilizando-se a RM, abriu-se um novo horizonte de possibilidades para avaliação de volume cortical e de segmentação de estruturas subcorticais, destacando-se as técnicas baseadas em VBM.

No entanto, ainda que sejam significativos os avanços nos estudos do tema, é preciso destacar que as pesquisas com pacientes psiquiátricos é complexa. Uma vez que, dependendo da evolução da doença, pode-se conseguir um seguimento mais personalizado e efetivo destes pacientes.

Os nossos achados são concordantes com os da literatura, sendo que a maioria dos estudos encontrou redução de volume de cortical (123). Com isso, nosso estudo permite ajudar a avançar no entendimento da psicopatologia deste grupo de pacientes, dando pistas para a influência do tônus inflamatório elevado na evolução de achados clínicos e laboratoriais presentes na SZ.

Sugerindo assim, que a ativação inflamatória crônica em pacientes com SZ poderia ser um mecanismo plausível para as reduções volumétricas corticais.

REFERÊNCIAS

1. DSM. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 5 ed. Washington: American Psychiatric Association press; 2013.
2. Kotlar AV, Mercer KB, Zwick ME, Mulle JG. New discoveries in schizophrenia genetics reveal neurobiological pathways: a review of recent findings. *Eur J Med Genet.* 2015.
3. Mari JJ, Leitão RJ. A epidemiologia da esquizofrenia. *Revista Brasileira de Psiquiatria.* 2000;22(1):2.
4. Gratacòs M, González JR, Mercader JM, de Cid R, Urretavizcaya M, Estivill X. Brain-derived neurotrophic factor Val66Met and psychiatric disorders: meta-analysis of case-control studies confirm association to substance-related disorders, eating disorders, and schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 2007;61(7):911-22.
5. Reddy RD, Yao JK. Free radical pathology in schizophrenia: a review. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1996;55(1-2):33-43.
6. Mansur RB, Zugman A, Asevedo EM, da Cunha GR, Bressan RA, Brietzke E. Cytokines in schizophrenia: possible role of anti-inflammatory medications in clinical and preclinical stages. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2012;66(4):247-60.
7. Lieberman JA. Pathophysiologic mechanisms in the pathogenesis and clinical course of schizophrenia. *J Clin Psychiatry.* 1999;60 Suppl 12:9-12.
8. Kunz M, Ceresér KM, Goi PD, Fries GR, Teixeira AL, Fernandes BS, et al. Serum levels of IL-6, IL-10 and TNF- α in patients with bipolar disorder and schizophrenia: differences in pro- and anti-inflammatory balance. *Rev Bras Psiquiatr.* 2011;33(3):268-74.
9. Miller BJ, Buckley P, Seabolt W, Mellor A, Kirkpatrick B. Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects. *Biol Psychiatry.* 2011;70(7):663-71.
10. Hallahan B, Newell J, Soares JC, Brambilla P, Strakowski SM, Fleck DE, et al. Structural magnetic resonance imaging in bipolar disorder: an international collaborative mega-analysis of individual adult patient data. *Biol Psychiatry.* 2011;69(4):326-35.
11. Chew LJ, Fusar-Poli P, Schmitz T. Oligodendroglial alterations and the role of microglia in white matter injury: relevance to schizophrenia. *Dev Neurosci.* 2013;35(2-3):102-29.

12. Mahadik SP, Evans D, Lal H. Oxidative stress and role of antioxidant and omega-3 essential fatty acid supplementation in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2001;25(3):463-93.
13. Gama CS, Salvador M, Andreazza AC, Kapczinski F, Silva Belmonte-de-Abreu P. Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in schizophrenia: a study of patients treated with haloperidol or clozapine. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2006;30(3):512-5.
14. Gama CS, Berk M, Andreazza AC, Kapczinski F, Belmonte-de-Abreu P. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor and thiobarbituric acid reactive substances in chronically medicated schizophrenic patients: a positive correlation. *Rev Bras Psiquiatr*. 2008;30(4):337-40.
15. Gama CS, Salvador M, Andreazza AC, Lobato MI, Berk M, Kapczinski F, et al. Elevated serum thiobarbituric acid reactive substances in clinically symptomatic schizophrenic males. *Neurosci Lett*. 2008;433(3):270-3.
16. Kao HT, Cawthon RM, Delisi LE, Bertisch HC, Ji F, Gordon D, et al. Rapid telomere erosion in schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2008;13(2):118-9.
17. Porton B, Delisi LE, Bertisch HC, Ji F, Gordon D, Li P, et al. Telomerase levels in schizophrenia: a preliminary study. *Schizophr Res*. 2008;106(2-3):242-7.
18. Yu WY, Chang HW, Lin CH, Cho CL. Short telomeres in patients with chronic schizophrenia who show a poor response to treatment. *J Psychiatry Neurosci*. 2008;33(3):244-7.
19. Sadock BJ, Sadock VA. *Manual Conciso de Psiquiatria Clínica*. 2 ed. Porto Alegre: Artmed; 2004. 688 p.
20. Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA. Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophr Res*. 2008;102(1-3):1-18.
21. Gottesman II, Erlenmeyer-Kimling L. Family and twin strategies as a head start in defining prodromes and endophenotypes for hypothetical early-interventions in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2001;51(1):93-102.
22. Gottesman II, Gould TD. The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry*. 2003;160(4):636-45.
23. Gejman PV, Sanders AR, Kendler KS. Genetics of schizophrenia: new findings and challenges. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2011;12:121-44.
24. Penner JD, Brown AS. Prenatal infectious and nutritional factors and risk of adult schizophrenia. *Expert Rev Neurother*. 2007;7(7):797-805.
25. Byrne M, Agerbo E, Bennedsen B, Eaton WW, Mortensen PB. Obstetric conditions and risk of first admission with schizophrenia: a Danish national register based study. *Schizophr Res*. 2007;97(1-3):51-9.

26. Ballon JS, Dean KA, Cadenhead KS. Obstetrical complications in people at risk for developing schizophrenia. *Schizophr Res.* 2008;98(1-3):307-11.
27. Mittal VA, Ellman LM, Cannon TD. Gene-environment interaction and covariation in schizophrenia: the role of obstetric complications. *Schizophr Bull.* 2008;34(6):1083-94.
28. Henquet C, Murray R, Linszen D, van Os J. The environment and schizophrenia: the role of cannabis use. *Schizophr Bull.* 2005;31(3):608-12.
29. Wohl M, Gorwood P. Paternal ages below or above 35 years old are associated with a different risk of schizophrenia in the offspring. *Eur Psychiatry.* 2007;22(1):22-6.
30. Petersen L, Mortensen PB, Pedersen CB. Paternal age at birth of first child and risk of schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 2011;168(1):82-8.
31. Krabbendam L, van Os J. Schizophrenia and urbanicity: a major environmental influence--conditional on genetic risk. *Schizophr Bull.* 2005;31(4):795-9.
32. Cantor-Graae E, Selten JP. Schizophrenia and migration: a meta-analysis and review. *Am J Psychiatry.* 2005;162(1):12-24.
33. Ferreira Junior BdC, Barbosa MdA, Barbosa IG, Hara C, Rocha FL. Alterações cognitivas na esquizofrenia: atualização. *Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul.* 2010;32(2):6.
34. Lewandowski KE, Cohen BM, Ongur D. Evolution of neuropsychological dysfunction during the course of schizophrenia and bipolar disorder. *Psychol Med.* 2011;41(2):225-41.
35. Rapoport JL, Addington A, Frangou S. The neurodevelopmental model of schizophrenia: what can very early onset cases tell us? *Curr Psychiatry Rep.* 2005;7(2):81-2.
36. Carlino D, Leone E, Di Cola F, Baj G, Marin R, Dinelli G, et al. Low serum truncated-BDNF isoform correlates with higher cognitive impairment in schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 2011;45(2):273-9.
37. Reichenberg A. The assessment of neuropsychological functioning in schizophrenia. *Dialogues Clin Neurosci.* 2010;12(3):383-92.
38. Kim Y, Zerwas S, Trace SE, Sullivan PF. Schizophrenia genetics: where next? *Schizophr Bull.* 2011;37(3):456-63.
39. Corvin A. Schizophrenia at a genetics crossroads: where to now? *Schizophr Bull.* 2013;39(3):490-5.

40. Lara D, Gama CS, Abreu PB. Esquizofrenia. In: Kapczinski F, Quevedo J, Isquierdo I, editors. *Bases Biológicas dos Transtornos Psiquiátricos*. 2 ed. Porto Alegre: Artmed; 2004. p. 285-97.
41. Howes OD, Kambeitz J, Kim E, Stahl D, Slifstein M, Abi-Dargham A, et al. The nature of dopamine dysfunction in schizophrenia and what this means for treatment. *Arch Gen Psychiatry*. 2012;69(8):776-86.
42. Lieberman JA, Mailman RB, Duncan G, Sikich L, Chakos M, Nichols DE, et al. Serotonergic basis of antipsychotic drug effects in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 1998;44(11):1099-117.
43. Monji A, Kato T, Kanba S. Cytokines and schizophrenia: Microglia hypothesis of schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2009;63(3):257-65.
44. Watanabe Y, Someya T, Nawa H. Cytokine hypothesis of schizophrenia pathogenesis: evidence from human studies and animal models. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2010;64(3):217-30.
45. Domenici E, Willé DR, Tozzi F, Prokopenko I, Miller S, McKeown A, et al. Plasma protein biomarkers for depression and schizophrenia by multi analyte profiling of case-control collections. *PLoS One*. 2010;5(2):e9166.
46. Drexhage RC, Padmos RC, de Wit H, Versnel MA, Hooijkaas H, van der Lely AJ, et al. Patients with schizophrenia show raised serum levels of the pro-inflammatory chemokine CCL2: association with the metabolic syndrome in patients? *Schizophr Res*. 2008;102(1-3):352-5.
47. Na KS, Jung HY, Kim YK. The role of pro-inflammatory cytokines in the neuroinflammation and neurogenesis of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2014;48:277-86.
48. Anderson G, Berk M, Dodd S, Bechter K, Altamura AC, Dell'osso B, et al. Immuno-inflammatory, oxidative and nitrosative stress, and neuroprogressive pathways in the etiology, course and treatment of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2013;42:1-4.
49. Sasayama D, Wakabayashi C, Hori H, Teraishi T, Hattori K, Ota M, et al. Association of plasma IL-6 and soluble IL-6 receptor levels with the Asp358Ala polymorphism of the IL-6 receptor gene in schizophrenic patients. *J Psychiatr Res*. 2011;45(11):1439-44.
50. Cazzullo CL, Sacchetti E, Galluzzo A, Panariello A, Colombo F, Zagliani A, et al. Cytokine profiles in drug-naive schizophrenic patients. *Schizophr Res*. 2001;47(2-3):293-8.
51. Francesconi LP, Ceresér KM, Mascarenhas R, Stertz L, Gama CS, Belmonte-de-Abreu P. Increased annexin-V and decreased TNF- α serum levels in chronic-medicated patients with schizophrenia. *Neurosci Lett*. 2011;502(3):143-6.

52. Mondelli V, Cattaneo A, Belvederi Murri M, Di Forti M, Handley R, Hepgul N, et al. Stress and inflammation reduce brain-derived neurotrophic factor expression in first-episode psychosis: a pathway to smaller hippocampal volume. *J Clin Psychiatry*. 2011;72(12):1677-84.
53. Ng F, Berk M, Dean O, Bush AI. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2008;11(6):851-76.
54. Gama CS, Andreazza AC, Kunz M, Berk M, Belmonte-de-Abreu PS, Kapczinski F. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Neurosci Lett*. 2007;420(1):45-8.
55. Dean B. Understanding the role of inflammatory-related pathways in the pathophysiology and treatment of psychiatric disorders: evidence from human peripheral studies and CNS studies. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2011;14(7):997-1012.
56. Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Teixeira AL, Magalhaes PV, Kauer-Sant'Anna M, Klamt F, et al. Peripheral biomarkers and illness activity in bipolar disorder. *J Psychiatr Res*. 2011;45(2):156-61.
57. Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Teixeira AL, Magalhaes PV, Kauer-Sant'Anna M, Klamt F, et al. A systemic toxicity index developed to assess peripheral changes in mood episodes. *Mol Psychiatry*. 2010;15(8):784-6.
58. Marques AH, Cizza G, Sternberg E. [Brain-immune interactions and implications in psychiatric disorders]. *Rev Bras Psiquiatr*. 2007;29 Suppl 1:S27-32.
59. Potvin S, Stip E, Sepehry AA, Gendron A, Bah R, Kouassi E. Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol Psychiatry*. 2008;63(8):801-8.
60. Pedrini M, Massuda R, Fries GR, de Bittencourt Pasquali MA, Schnorr CE, Moreira JC, et al. Similarities in serum oxidative stress markers and inflammatory cytokines in patients with overt schizophrenia at early and late stages of chronicity. *J Psychiatr Res*. 2012;46(6):819-24.
61. Pedrini M, Massuda R, de Lucena D, Macêdo D, Paz AV, Lobato MI, et al. Differences in eotaxin serum levels patients with recent onset and in chronic stable schizophrenia: a clue for understanding accelerating aging profile. *Schizophr Res*. 2014;152(2-3):528-9.
62. Hatton S, Lagopoulos J, Hermens D, Scott E, Hickie I, Bennett M. Cortical thinning in young psychosis and bipolar patients correlate with common neurocognitive deficits. *International Journal of Bipolar Disorders*. 2013;1(1):3.
63. Haijma SV, Van Haren N, Cahn W, Koolschijn PCMP, Hulshoff Pol HE, Kahn RS. Brain Volumes in Schizophrenia: A Meta-Analysis in Over 18 000 Subjects. *Schizophrenia bulletin*. 2012.

64. Kempton MJ, Stahl D, Williams SC, DeLisi LE. Progressive lateral ventricular enlargement in schizophrenia: a meta-analysis of longitudinal MRI studies. *Schizophrenia research*. 2010;120(1-3):54-62.
65. Brans RG, van Haren NE, van Baal GC, Staal WG, Schnack HG, Kahn RS, et al. Longitudinal MRI study in schizophrenia patients and their healthy siblings. *Br J Psychiatry*. 2008;193(5):422-3.
66. DeLisi LE, Sakuma M, Maurizio AM, Relja M, Hoff AL. Cerebral ventricular change over the first 10 years after the onset of schizophrenia. *Psychiatry research*. 2004;130(1):57-70.
67. Gharraibeh WS, Rohlf FJ, Slice DE, DeLisi LE. A geometric morphometric assessment of change in midline brain structural shape following a first episode of schizophrenia. *Biological psychiatry*. 2000;48(5):398-405.
68. Pantelis C, Yücel M, Wood SJ, Velakoulis D, Sun D, Berger G, et al. Structural Brain Imaging Evidence for Multiple Pathological Processes at Different Stages of Brain Development in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*. 2005;31(3):672-96.
69. Johnstone E, Frith CD, Crow TJ, Husband J, Kreel L. CEREBRAL VENTRICULAR SIZE AND COGNITIVE IMPAIRMENT IN CHRONIC SCHIZOPHRENIA. *The Lancet*. 1976;308(7992):924-6.
70. Laywer G, Nyman H, Agartz I, Arnborg S, Jonsson EG, Sedvall GC, et al. Morphological correlates to cognitive dysfunction in schizophrenia as studied with Bayesian regression. *BMC psychiatry*. 2006;6:31.
71. Wolf RC, Hose A, Frasch K, Walter H, Vasic N. Volumetric abnormalities associated with cognitive deficits in patients with schizophrenia. *European psychiatry : the journal of the Association of European Psychiatrists*. 2008;23(8):541-8.
72. Mueller S, Keeser D, Reiser MF, Teipel S, Meindl T. Functional and structural MR imaging in neuropsychiatric disorders, part 2: application in schizophrenia and autism. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2012;33(11):2033-7.
73. Meyer-Lindenberg A, Tost H. Neuroimaging and plasticity in schizophrenia. *Restor Neurol Neurosci*. 2014;32(1):119-27.
74. Ellison-Wright I, Bullmore E. Meta-analysis of diffusion tensor imaging studies in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2009;108(1-3):3-10.
75. Yang Y, Raine A. Prefrontal structural and functional brain imaging findings in antisocial, violent, and psychopathic individuals: a meta-analysis. *Psychiatry Res*. 2009;174(2):81-8.
76. Miller EK, Freedman DJ, Wallis JD. The prefrontal cortex: categories, concepts and cognition. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2002;357(1424):1123-36.

77. DeYoung CG, Hirsh JB, Shane MS, Papademetris X, Rajeevan N, Gray JR. Testing predictions from personality neuroscience. Brain structure and the big five. *Psychol Sci.* 2010;21(6):820-8.
78. de Almeida RM, Cabral JC, Narvaes R. Behavioural, hormonal and neurobiological mechanisms of aggressive behaviour in human and nonhuman primates. *Physiol Behav.* 2015;143:121-35.
79. Goldberg E. O cérebro executivo - Lobos frontais e a mente civilizada: Imago; 2002.
80. Machado A. Neuroanatomia funcional. 3 ed: Atheneu; 2013.
81. Strakowski SM, Adler CM, Almeida J, Altshuler LL, Blumberg HP, Chang KD, et al. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a consensus model. *Bipolar Disord.* 2012;14(4):313-25.
82. Mazzola A. Ressonância magnética: princípios e formação da imagem e aplicações em imagem funcional. *Revista Brasileira de Física Médica.* 2009;3(1):12.
83. Bushong S. Magnetic Resonance Imaging: Physical and Biological Principles. St. Louis, MO: Mosby; 2003.
84. Huettel S, Song A, McCarthy G. Functional magnetic resonance imaging. Sunderland MA: Sinauer Associates 2003.
85. Strakowski SM, DelBello MP, Sax KW, Zimmerman ME, Shear PK, Hawkins JM, et al. Brain magnetic resonance imaging of structural abnormalities in bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry.* 1999;56(3):254-60.
86. Hammers A, Allom R, Koepp MJ, Free SL, Myers R, Lemieux L, et al. Three-dimensional maximum probability atlas of the human brain, with particular reference to the temporal lobe. *Hum Brain Mapp.* 2003;19(4):224-47.
87. Foland-Ross LC, Thompson PM, Sugar CA, Madsen SK, Shen JK, Penfold C, et al. Investigation of cortical thickness abnormalities in lithium-free adults with bipolar I disorder using cortical pattern matching. *Am J Psychiatry.* 2011;168(5):530-9.
88. Bora E, Fornito A, Yücel M, Pantelis C. Voxelwise meta-analysis of gray matter abnormalities in bipolar disorder. *Biol Psychiatry.* 2010;67(11):1097-105.
89. Bruno S, Cercignani M, Ron MA. White matter abnormalities in bipolar disorder: a voxel-based diffusion tensor imaging study. *Bipolar Disord.* 2008;10(4):460-8.
90. Ashburner J, Friston KJ. Voxel-based morphometry--the methods. *Neuroimage.* 2000;11(6 Pt 1):805-21.

91. Mazziotta JC, Toga AW, Evans A, Fox P, Lancaster J. A probabilistic atlas of the human brain: theory and rationale for its development. The International Consortium for Brain Mapping (ICBM). *Neuroimage*. 1995;2(2):89-101.
92. Evans AC, Collins DL, Milner B. An MRI-based stereotactic atlas from 250 young normal subjects. *Journal Soc Neurosci*. 1992;18.
93. Evans AC, Collins DL, Mills SR, Brown ED, Kelly RL, Peters TM, editors. 3D statistical neuroanatomical models from 305 MRI volumes. *Proc IEEE-Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference*; 1993.
94. Lancaster JL, Woldorff MG, Parsons LM, Liotti M, Freitas CS, Rainey L, et al. Automated Talairach atlas labels for functional brain mapping. *Hum Brain Mapp*. 2000;10(3):120-31.
95. Lancaster JL, Rainey LH, Summerlin JL, Freitas CS, Fox PT, Evans AC, et al. Automated labeling of the human brain: a preliminary report on the development and evaluation of a forward-transform method. *Hum Brain Mapp*. 1997;5(4):238-42.
96. Wright IC, McGuire PK, Poline JB, Traverso JM, Murray RM, Frith CD, et al. A voxel-based method for the statistical analysis of gray and white matter density applied to schizophrenia. *Neuroimage*. 1995;2(4):244-52.
97. Talairach J, Tournoux P. *Co-planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain: 3-Dimensional Proportional System - an Approach to Cerebral Imaging*. New York, NY: Thieme Medical Publishers; 1988.
98. Fischl B. *FreeSurfer*. *Neuroimage*. 2012;62(2):774-81.
99. Van Leemput K, Bakkour A, Benner T, Wiggins G, Wald LL, Augustinack J, et al. Automated segmentation of hippocampal subfields from ultra-high resolution in vivo MRI. *Hippocampus*. 2009;19(6):549-57.
100. Fischl B, Sereno MI, Tootell RB, Dale AM. High-resolution intersubject averaging and a coordinate system for the cortical surface. *Hum Brain Mapp*. 1999;8(4):272-84.
101. Yendiki A, Panneck P, Srinivasan P, Stevens A, Zöllei L, Augustinack J, et al. Automated probabilistic reconstruction of white-matter pathways in health and disease using an atlas of the underlying anatomy. *Front Neuroinform*. 2011;5:23.
102. Desikan RS, Ségonne F, Fischl B, Quinn BT, Dickerson BC, Blacker D, et al. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage*. 2006;31(3):968-80.
103. Fischl B, van der Kouwe A, Destrieux C, Halgren E, Ségonne F, Salat DH, et al. Automatically parcellating the human cerebral cortex. *Cereb Cortex*. 2004;14(1):11-22.

104. Destrieux C, Fischl B, Dale A, Halgren E. Automatic parcellation of human cortical gyri and sulci using standard anatomical nomenclature. *Neuroimage*. 2010;53(1):1-15.
105. Fischl B, Rajendran N, Busa E, Augustinack J, Hinds O, Yeo BT, et al. Cortical folding patterns and predicting cytoarchitecture. *Cereb Cortex*. 2008;18(8):1973-80.
106. Fischl B, Stevens AA, Rajendran N, Yeo BT, Greve DN, Van Leemput K, et al. Predicting the location of entorhinal cortex from MRI. *Neuroimage*. 2009;47(1):8-17.
107. Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(20):11050-5.
108. Dale AM, Fischl B, Sereno MI. Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage*. 1999;9(2):179-94.
109. Fischl B, Sereno MI, Dale AM. Cortical surface-based analysis. II: Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage*. 1999;9(2):195-207.
110. Salat DH, Buckner RL, Snyder AZ, Greve DN, Desikan RS, Busa E, et al. Thinning of the cerebral cortex in aging. *Cereb Cortex*. 2004;14(7):721-30.
111. Reuter M, Fischl B. Avoiding asymmetry-induced bias in longitudinal image processing. *Neuroimage*. 2011;57(1):19-21.
112. Romano F, Elkis H. 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*. 1996;45:6.
113. Sebastiani G, Gkouvatsos K, Pantopoulos K. Chronic hepatitis C and liver fibrosis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(32):11033-53.
114. Vettiyl B, Gupta N, Kumar R. Positron emission tomography imaging in sarcoidosis. *World J Nucl Med*. 2013;12(3):82-6.
115. Gama CS, Kunz M, Magalhães PV, Kapczinski F. Staging and neuroprogression in bipolar disorder: a systematic review of the literature. *Rev Bras Psiquiatr*. 2013;35(1):70-4.
116. Kapczinski F, Streb LG. Neuroprogression and staging in psychiatry: historical considerations. *Rev Bras Psiquiatr*. 2014;36(3):187-8.
117. Insel T, Cuthbert B, Garvey M, Heinssen R, Pine DS, Quinn K, et al. Research domain criteria (RDoC): toward a new classification framework for research on mental disorders. *Am J Psychiatry*. 2010;167(7):748-51.
118. Scott J, Leboyer M, Hickie I, Berk M, Kapczinski F, Frank E, et al. Clinical staging in psychiatry: a cross-cutting model of diagnosis with heuristic and practical value. *Br J Psychiatry*. 2013;202(4):243-5.

119. Kempton MJ, Geddes JR, Ettinger U, Williams SC, Grasby PM. Meta-analysis, database, and meta-regression of 98 structural imaging studies in bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2008;65(9):1017-32.
120. Monkul ES, Malhi GS, Soares JC. Anatomical MRI abnormalities in bipolar disorder: do they exist and do they progress? *Aust N Z J Psychiatry*. 2005;39(4):222-6.
121. Phillips ML, Vieta E. Identifying functional neuroimaging biomarkers of bipolar disorder: toward DSM-V. *Schizophr Bull*. 2007;33(4):893-904.
122. Rosa AR, Magalhães PV, Czepielewski L, Sulzbach MV, Goi PD, Vieta E, et al. Clinical staging in bipolar disorder: focus on cognition and functioning. *J Clin Psychiatry*. 2014;75(5):e450-6.
123. Andreasen NC, Nopoulos P, Magnotta V, Pierson R, Ziebell S, Ho BC. Progressive brain change in schizophrenia: a prospective longitudinal study of first-episode schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2011;70(7):672-9.

ANEXOS

ANEXO A - Protocolo utilizado no estudo

**Laboratório de Psiquiatria Molecular
Hospital de Clínicas de Porto Alegre**

**ESTUDO DA COGNIÇÃO E
NEUROTROFINAS NA
ESQUIZOFRENIA**

CRF – SZ

Versão 1.2

INICIAIS DO PACIENTE

CÓDIGO DO PACIENTE

DATA DA INCLUSÃO

...continuação Anexo A

SCREENING

Data: ___ / ___ / _____

BPRS

1.	10.
2.	11.
3.	12.
4.	13.
5.	14.
6.	15.
7.	16.
8.	17.
9.	18.

Total: _____

DOMÍNIO:

Direto

Esquendo

...continuação **Anexo A****IDENTIFICAÇÃO**

Prontuário HCPA: _____

Nome Completo: _____

Sexo: 1- masculino 2- feminino

Data de nascimento: ___ / ___ / _____ Idade: _____ anos

Etnia: 1- branco 2- não-brancoSituação Conjugal: 1- solteiro 2- casado ou companheiro fixo 3- separado ou divorciado 4- viúvoOcupação: 1- estudante 2- com ocupação (remunerada) 3- sem ocupação (não aposentado) 4- dona de casa 5- em auxílio-doença 6- aposentado por invalidez 7- aposentado por tempo serviçoEscolaridade: _____ Grau: 1- Completo 2- Incompleto (___ anos de estudo completos)

Repetência escolar: _____ anos repetidos

Sabe ler e escrever? 1- sim 2- não

Endereço: _____

Cidade: _____ CEP: _____ - _____

Telefone para contato: 1- _____

2- _____

Familiar/Responsável:

Nome: _____ Telefone: _____

...continuação **Anexo A**

INFORMAÇÕES CLÍNICAS

Diagnóstico:

História clínica:

História familiar 1º grau: sim não

Caso sim, qual transtorno: _____

Idade do primeiro episódio: _____

Hospitalização no primeiro episódio: sim não

Induzido por substância: sim não Se sim, qual? _____

Idade em que recebeu diagnóstico/tratamento específico: _____

Número de internações: _____ Idade da primeira internação: _____

Tentativa de suicídio: sim não Quantas: _____

Tipo tentativa: 1- arma fogo 2- enforcamento 3- cortar pulsos
 4- medicação 5- pular de local alto 6- outro, qual: _____

Realizou ECT previamente: 1-sim 2- não

Se sim, quantas séries: _____

Data de término da última série: _____

Tabagismo Passado: 1- sim 2- não Se sim, tempo de uso: _____ (anos)

Tabagismo Atual: 1- sim 2- não Se sim, maior nº cigarros/dia: _____

Peso atual (medido): _____ (Kg) Altura (medida): _____ (m)

IMC: _____ [Peso ÷ (altura)²] Circunferência da cintura: _____

Tem diagnóstico de doenças crônicas: 1 – Sim 2- Não

Quais doenças clínicas?

Tempo de diagnóstico:

Faz uso de medicação para doenças crônicas: 1 – Sim (inserir no quadro medicações) 2- Não

Data: ___ / ___ / _____

...continuação Anexo A

Medicações Atuais (TODAS), em uso e respectivas doses:

Medicação (nome genérico)	Dose/dia (com unidade) ou total de comprimidos/cápsulas ou outras formas utilizadas	Finalidade e há quanto tempo
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
7.		
8.		
9.		
10.		

...continuação **Anexo A**

Evolução da consulta médica se necessário

Nome e assinatura do médico responsável

...continuação Anexo A

Associação Brasileira de Psiquiatria – Escala de Medida de Psicose: Escala Breve de Avaliação Psiquiátrica Versão Ancorada (BPRS-A (Woerner, 1998, tradução de Romano e Elkis, 1996) associada a Entrevista Clínica Estruturada (SIG-BPRS) de Rhoades e Overall (1988))		
Paciente:	Número:	Data:
Entrevistador:	Registro:	Fase do estudo:
Instruções: A escala é composta de 18 itens a serem avaliados. Os itens assinalados com OBSERVAÇÃO (3, 4, 7, 13, 14, 16, 17, 18) devem ser avaliados tomando por base OBSERVAÇÕES feitas durante a entrevista. Os itens assinalados com RELATO DO PACIENTE devem ser avaliados a partir de informação RELATADA (ou seja, SUBJETIVA) referente ao período escolhido (em geral 1 semana). As perguntas-guia em negrito devem ser formuladas diretamente nos itens em que se avalia a relato do paciente.		
<i>Início da entrevista: comece com estas perguntas e utilize as respostas às mesmas para completar o item 18 (Orientação) 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 dizer que dia é hoje? (semana- mês- ano)?</i>		
1	RELATO DO PACIENTE	Preocupação Somática: 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 simples relato de sintomas físicos. Avaliar apenas apreensão (ou preocupação) sobre problemas físicos (reais ou imaginários)
	Pergunta-Guia	Como costuma ser sua saúde física (do corpo)? Como esteve a sua saúde no último ano? Você está preocupado com algum problema de saúde agora? Você sente que tem alguma coisa incomum acontecendo com seu corpo ou cabeça?
		0 Não relatado 1 Muito leve: Ocasionalmente fica levemente preocupado com o corpo, sintomas ou doenças físicas. 2 Leve: Ocasionalmente fica preocupado com o corpo de forma moderada, ou freqüentemente fica levemente apreensivo. 3 Moderado: Ocasionalmente muito preocupado ou moderadamente preocupado com freqüência. 4 Moderadamente Grave: Freqüentemente muito preocupado. 5 Grave: Fica muito preocupado a maior parte do tempo. 6 Muito Grave: Fica muito preocupado praticamente o tempo todo.
2	RELATO DO PACIENTE	ANSIEDADE: Preocupação, medo ou preocupação excessiva acerca do presente ou futuro. Pontuar somente a partir de relato verbal das experiências subjetivas do paciente. Não inferir ansiedade a partir de sinais físicos ou mecanismos de defesa neuróticos. Não pontuar se restrito a preocupação somática.
	Pergunta-Guia	Você está preocupado com alguma coisa? Você tem se sentido tenso ou ansioso a maior parte do tempo? (quando se sente assim, você consegue saber o porque? De que forma as suas ansiedades ou preocupações afetam o seu dia-dia? Existe algo que ajuda a melhorar essa sensação?)
		0 Não relatado 1 Muito leve: Ocasionalmente se sente levemente ansioso. 2 Leve: Ocasionalmente se sente moderadamente ansioso ou freqüentemente se sente levemente ansioso. 3 Moderado: Ocasionalmente se sente muito ansioso ou freqüentemente se sente moderadamente ansioso. 4 Moderadamente Grave: Freqüentemente se sente muito ansioso 5 Grave: Sente-se muito ansioso a maior parte do tempo.
3	OBSERVAÇÃO DO PACIENTE	RETRAIMENTO AFETIVO: Deficiência no relacionamento com o entrevistador e na situação da entrevista. Manifestações evidentes dessa deficiência incluem: falta de contato visual (troca de olhares); o paciente não se aproxima do entrevistador; apresenta uma falta de envolvimento e compromisso com a entrevista. Diferenciar de AFETO EMBOTADO, no qual são pontuadas deficiências na expressão facial, gestualidade, e tom de voz. Pontuar a partir de observações feitas durante a entrevista.
		0 Não observado 1 Muito leve: Ex: ocasionalmente deixa de encarar o entrevistador. 2 Leve: Ex: como acima, porém mais freqüente. 3 Moderado: Ex: demonstra dificuldade em encarar o entrevistador, mas ainda parece engajado na entrevista e responde apropriadamente a todas as questões. 4 Moderadamente Grave: Ex: olha fixamente no chão e afasta-se do entrevistador mas ainda parece moderadamente engajado na entrevista. 5 Grave: Ex: como acima, porém mais persistente e disseminado. 6 Muito Grave: Ex: parece estar "aéreo", "nas nuvens" ou "viajando" (total ausência de vínculo emocional) e desproporcionalmente não-envolvido u não-comprometido com situação da entrevista (Não pontuar se explicado pela desorientação)
4	OBSERVAÇÃO DO PACIENTE	DESORGANIZAÇÃO CONCEITUAL: Grau de incompreensibilidade da fala. Incluir qualquer tipo de desordem formal de pensamento (p.ex, associações frouxas, incoerência, fuga de idéias, neologismos). NÃO incluir mera circunstancialidade ou fala maníaca, mesmo que acentuada. NÃO pontuar a partir de impressões subjetivas do paciente (p.ex: "Meus pensamentos estão voando", "Não consigo manter o pensamento", "Meus pensamentos se misturam todos"). Pontuar SOMENTE a partir de observações feitas durante a entrevista.
		0 Não observado. 1 Muito leve: Ex: levemente vago, todavia de significação clínica duvidosa. 2 Leve: Ex: freqüentemente vago, mas é possível prosseguir a entrevista. 3 Moderado: Ex: ocasionalmente faz afirmações irrelevantes; uso infreqüente de neologismos; ou associações moderadamente frouxas. 4 Moderadamente Grave: Como acima, porém mais freqüente. 5 Grave: Desordem formal do pensamento presente a maior parte da entrevista, tornando-a muito difícil. 6 Muito Grave: Muito pouca informação coerente pode ser obtida.

...continuação Anexo A

2

5	RELATO DO PACIENTE	SENTIMENTOS DE CULPA: Preocupação ou remorso desproporcional pelo passado. Pontuar a partir das experiências subjetivas de culpa evidenciadas por meio de relato verbal. Não inferir sentimentos de culpa a partir de depressão, ansiedade ou defesas neuróticas.
	Pergunta-Guia 0 Não relatado 1 Muito leve: Ocasionalmente se sente levemente culpado. 2 Leve Ocasionalmente se sente moderadamente culpado; ou freqüentemente se sente levemente culpado. 3 Moderado: Ocasionalmente se sente muito culpado; ou freqüentemente se sente moderadamente culpado 4 Moderadamente Grave: freqüentemente se sente muito culpado. 5 Grave: Sente-se muito culpado a maior parte o tempo ou apresenta delírio de culpa encapsulado. 6 Muito Grave: Sentimento de culpa angustiante e constante; ou delírios de culpa disseminados.	<i>Nos últimos dias você tem se sentido um peso para sua família ou colegas? Você tem se sentido culpado por alguma coisa feita no passado? Você acha que o que você está passando agora é um tipo de castigo? (Por que você acha isso?)</i>
6	OBSERVAÇÃO DO PACIENTE	TENSAO: Avaliar inquietação motora (agitação) observada durante a entrevista. Não pontuar a partir de experiências subjetivas relatadas pelo paciente. Desconsiderar patogênese presumida (p.ex: discinesia tardia).
	0 Não observado. 1 Muito leve: Ex: ocasionalmente agitado 2 Leve: Ex: freqüentemente agitado. 3 Moderado: Ex: agita-se constantemente ou freqüentemente. Torce as mãos e puxa a roupa. 4 Moderadamente Grave: Ex: agita-se constantemente. Torce as mãos e puxa a roupa. 5 Grave: Ex: não consegue ficar sentado, isto é, precisa andar. 6 Muito Grave: anda de maneira frenética	
7	OBSERVAÇÃO DO PACIENTE	MANEIRISMOS E POSTURA: comportamento motor incomum ou não natural. Pontuar apenas anormalidade de movimento; não pontuar aqui simples aumento da atividade motora. Considerar freqüência, duração e grau do caráter bizarro. Desconsiderar patogênese presumida.
	0 Não observado 1 Muito leve: Comportamento estranho, mas de significação clínica duvidosa, por exemplo, um riso imotivado ocasional, movimentos de lábio infreqüentes. 2 Leve: Comportamento estranho, mas não obviamente bizarro, por exemplo, às vezes balança a cabeça ritmadamente de um lado para outro, movimentam os dedos de maneira anormal intermitentemente. 3 Moderado: Ex: adota posição de ioga por um breve período, às vezes põe a língua para fora, balança o corpo. 4 Moderadamente Grave: Como acima, porém mais freqüente, intenso ou disseminado. 5 Grave: Como acima, porém mais freqüente, intenso ou disseminado. 6 Muito Grave: Ex: postura bizarra durante a maior parte da entrevista, movimentos anormais constantes em várias áreas do corpo.	
8	RELATO DO PACIENTE	IDEIAS DE GRANDEZA: Auto-Estima (autoconfiança) exagerada, ou apreciação desmedida dos próprios talentos, poderes, habilidades, conquistas, conhecimento, importância ou identidade. Não pontuar mera qualidade grandiosa de alegações (p. ex.: "sou o pior pecador do mundo", "todo o país está tentando me matar") a menos que a culpa/perseguição esteja relacionada a algum atributo especial exagerado do indivíduo. O paciente deve declarar atributos exagerados; se o paciente nega talentos, poderes, etc, mesmo que ele afirme que outros digam que ele possui estas qualidades, este item não deve ser pontuado Pontuar a partir de informação relatada, ou seja, subjetiva.
	Pergunta-Guia 0 Não relatado 1 Muito leve: Ex: é mais confiante que a maioria, mas isso é apenas de possível significância clínica. 2 Leve: Auto-estima definitivamente aumentada ou talentos exagerados de modo levemente desproporcional às circunstâncias. 3 Moderado: Auto-estima aumentada de modo claramente desproporcional às circunstâncias, ou suspeita-se de delírio de grandeza. 4 Moderadamente Grave: Ex: um único (e claramente definido) delírios de grandeza encapsulados ou múltiplos delírios de grandeza fragmentários (claramente definidos). 5 Grave: Ex: um único, ou claros delírios/ sistema delirantes ou múltiplos e claros delírios de grandeza com os quais o paciente parece preocupado. 6 Muito Grave: Ex: como acima, mas a quase-totalidade da conversa é dirigida aos delírios de grandeza do paciente.	<i>Nos últimos dias você tem se sentido com algum talento ou habilidade que a maioria das pessoas não tem? (como você sabe disso?) Você acha que as pessoas têm tido inveja de você? Você tem acreditado que tenha alguma coisa importante para fazer no mundo?</i>
9	RELATO DO PACIENTE	HUMOR DEPRESSIVO: Relato subjetivo de sentimento de depressão, tristeza, "estar na fossa", etc. Pontuar apenas o grau de depressão relatada. Não pontuar inferências de depressão feitas a partir de identificação geral e queixas somáticas. Pontuar a partir de informação relatada, ou seja, subjetiva.
	Pergunta-Guia 0 Não relatado 1 Muito leve: Ocasionalmente se sente levemente deprimido. 2 Leve Ocasionalmente se sente moderadamente deprimido, ou freqüentemente se sente levemente deprimido. 3 Moderado. Ocasionalmente se sente muito deprimido, ou freqüentemente se sente moderadamente deprimido. 4 Moderadamente Grave Freqüentemente se sente muito deprimido 5 Grave Sente-se muito deprimido a maior parte do tempo. 6 Muito Grave Sente-se muito deprimido quase todo o tempo.	<i>Como tem estado o seu humor (alegre, triste, irritável)? Você acredita que pode melhorar? (como esse sentimento tem afetado o seu dia-dia?)</i>

...continuação Anexo A

3

10	RELATO DO PACIENTE	HOSTILIDADE: Animosidade, desprezo, agressividade, desdenho por outras pessoas fora da situação da entrevista. Pontuar somente a partir de relato verbal de sentimentos e atos do paciente em relação aos outros. Não inferir hostilidade a partir de defesas neuróticas, ansiedade ou queixas somáticas.
	Pergunta-Guia	<i>Nos últimos dias você tem estado impaciente ou irritável com as outras pessoas? (conseguiu manter o controle? Tolerou as provocações? Chegou a agredir alguém ou quebrar objetos)?</i>
		0 Não relatado 1 Muito leve: Ocasionalmente sente um pouco de raiva. 2 Leve: Frequentemente sente um pouco de raiva, ou ocasionalmente sente raiva moderada. 3 Moderado: Ocasionalmente sente muita raiva; ou frequentemente sente raiva moderada. 4 Moderadamente Grave: Frequentemente sente muita raiva. 5 Grave: Atuou sua raiva tomando-se verbal ou fisicamente agressivo em uma ou duas ocasiões. 6 Muito Grave: Atuou sua raiva em várias ocasiões.
11	RELATO DO PACIENTE	DESCONFIANÇA: Crença (delirante ou não) de que outros têm agora ou tiveram no passado intenções discriminatórias ou maldosas em relação a paciente. Pontuar apenas se o paciente relatar verbalmente desconfianças atuais, quer elas se refiram a circunstâncias presentes ou passadas. Pontuar a partir da informação relatada, ou seja, subjetiva.
	Pergunta-Guia	<i>Você tem tido a impressão de que as outras pessoas estão falando ou rindo de você? (de que forma você percebe isso?) Você tem achado que tem alguém com más intenções contra você ou se esforçado para lhe causar problemas? (Quem? Por que? Como você sabe disso?)</i>
		0 Não relatado 1 Muito leve: Raras circunstâncias de desconfiança que podem ou não corresponder à realidade. 2 Leve: Situações de desconfiança ocasionais que definitivamente não correspondem à realidade. 3 Moderado: Desconfiança mais freqüente; ou idéias de referência passageiras. 4 Moderadamente Grave: Desconfiança disseminada; ou idéias de referência freqüentes. 5 Grave: claros delírios de perseguição ou referência não totalmente disseminados (p. ex. um delírio encapsulado). 6 Muito Grave: como acima, porém mais abrangente, freqüente, ou intenso.
12	RELATO DO PACIENTE	COMPORTAMENTO ALUCINATORIO (ALUCINAÇÕES): Percepções (em qualquer modalidade dos sentidos) na ausência de um estímulo externo identificável. Pontuar apenas as experiências que ocorrem na última semana: Não pontuar "vozes na minha cabeça", ou "visões em minha mente" a menos que o paciente saiba diferenciar entre essas experiências e seus pensamentos.
	Pergunta-Guia	<i>Você tem tido experiências incomuns, que a maioria das pessoas não tem? Você tem escutado coisas que as outras pessoas não podem ouvir?(você estava acordado neste momento? O que você ouvia [barulhos, cochichos, vozes conversando com você ou conversando entre si]? Com que freqüência? Interferem no seu dia-dia?) Você tem visto coisa que a maioria das pessoas não podem ver? (Você estava acordado nesse momento? O que você via [luzes, formas, imagens]? Com que freqüência? Interferem no seu dia-dia?)</i>
		0 Não relatado 1 Muito leve Apenas se suspeita de alucinação 2 Leve: Alucinações definidas, porém insignificantes, infreqüentes, ou transitórias. 3 Moderado Como acima, porém mais freqüentes (p. ex: freqüentemente vê a cara do diabo; duas vozes travam uma longa conversa) 4 Moderadamente Grave: As alucinações são experimentadas quase todo o dia, ou são fontes de incômodo extremo. 5 Grave: Como acima e exerceu impacto moderado no comportamento do paciente (p.ex: dificuldades de concentração que levam a um comprometimento no trabalho). 6 Muito Grave: como acima, com grave impacto (p.ex.: tentativas de suicídio como resposta a ordens alucinatorias).
13	OBSERVAÇÃO DO PACIENTE	RETARDAMENTO MOTOR: Redução do nível de energia evidenciada por movimentos mais lentos. Pontuar apenas a partir de comportamento observado no paciente. Não pontuar a partir de impressões subjetivas do paciente sobre seu próprio nível de energia.
		0 Não observado 1 Muito leve: Significação clínica duvidosa. 2 Leve: Ex conversa um pouco mais lentamente, movimentos levemente mais lentos. 3 Moderado: Ex: conversa notavelmente mais lenta, mas não arrastada. 4 Moderadamente Grave: Ex: conversa é arrastada, movimenta-se muito lentamente. 5 Grave: Ex: é difícil manter a conversa, quase não se movimenta. 6 Muito Grave: Ex: conversa é quase impossível, ou paciente não se move durante toda a entrevista.
14	OBSERVAÇÃO DO PACIENTE	FALTA DE COOPERAÇÃO COM A ENTREVISTA: Evidência de resistência, indelicadeza, ressentimento e falta de prontidão para cooperar com o entrevistados. Pontuar exclusivamente a partir das atitudes do paciente e das reações ao entrevistador e à situação de entrevista. Não pontuar a partir de relato de ressentimento e recusa à cooperação fora de situação de entrevista.
		0 Não observado 1 Muito leve: Ex: não parece motivado. 2 Leve: Ex: parece evasivo em certos assuntos. 3 Moderado: Ex: monossilábico, fracassa em cooperar espontaneamente. 4 Moderadamente Grave: Ex: expressa ressentimento e é indelicado durante a entrevista. 5 Grave: Ex: recusa-se a responder à algumas questões. 6 Muito Grave Ex: recusa-se a responder à maior parte das questões

...continuação Anexo A

4

15	RELATO DO PACIENTE	ALTERAÇÃO DE CONTEÚDO DO PENSAMENTO-DELÍRIOS: Gravidade de qualquer tipo de delírio – considerar convicção e seu efeito em ações. Pressupor convicção total se o paciente agir baseado em suas crenças. Pontuar a partir de informação relatada, ou seja, subjetiva.
	Pergunta-Guia	Você tem acreditado que alguém ou alguma coisa fora de você esteja controlando seus pensamentos ou suas ações contra a sua vontade? Você tem a impressão de que o rádio ou a televisão mande mensagens para você? Você sente que alguma coisa incomum esteja acontecendo ou está para acontecer?
		0 Não relatado 1 Muito leve: suspeita-se ou há probabilidade de delírio. 2 Leve: às vezes o paciente questiona suas crenças (delírios parciais). 3 Moderado: Plena convicção delirante, porém delírios têm pouca ou nenhuma influência sobre o comportamento. 4 Moderadamente Grave: Plena convicção delirante, porém os delírios têm impacto apenas ocasional sobre o comportamento. 5 Grave: Delírios têm efeito significativo; por exemplo, negligencia responsabilidades por causa de preocupações com a crença de que é Deus. 6 Muito Grave: Delírios têm impactos marcantes, por exemplo, para de comer porque acredita que a comida está envenenada.
16	OBSERVAÇÃO DO PACIENTE	AFETO EMBOTADO: Responsividade afetiva diminuída, caracterizada por déficits na expressão facial, gestualidade e tom de voz. Diferenciar de RETRAIMENTO AFETIVO no qual o foco está no comprometimento interpessoal mais do que no afetivo. Considerar grau e consistência no comprometimento. Pontuar a partir de observações feitas durante a entrevista.
		0 Não observado 1 Muito leve Ex: ocasionalmente parece indiferente a assuntos que são normalmente acompanhados por demonstração de emoção. 2 Leve: Ex: expressão facial levemente diminuída ou voz levemente monótona ou gestualidade levemente limitada. 3 Moderado: Ex: como acima, porém mais intenso, prolongado ou freqüente. 4 Moderadamente Grave: Ex: achatamento de afeto, incluindo pelo menos duas ou três características: falta acentuada de expressão facial, voz monótona ou gestualidade limitada 5 Grave: Ex: profundo achatamento de afeto. 6 Muito Grave: Ex: voz totalmente monótona e total falta de gestualidade expressiva durante toda a avaliação.
17	OBSERVAÇÃO DO PACIENTE	EXCITAÇÃO: Tom emocional aumentado, incluindo irritabilidade e expansividade (afeto hipomaniaco). Não inferir afeto de afirmações a partir de delírios de grandeza. Pontuar a partir de observações feitas durante a entrevista.
		0 Não observado 1 Muito leve: Significação clínica duvidosa. 2 Leve: Ex: às vezes irritado ou expansivo. 3 Moderado: Frequentemente irritado ou expansivo. 4 Moderadamente Grave Ex: Constantemente irritado ou expansivo às vezes enfurecido ou eufórico. 5 Grave: Ex: Enfurecido ou eufórico a maior parte da entrevista. 6 Muito Grave Ex: como acima, porém de tal modo que a entrevista precisa ser interrompida prematuramente.
18	OBSERVAÇÃO DO PACIENTE	DESORIENTAÇÃO: confusão ou falta de orientação adequada em relação às pessoas, lugares e tempo. Pontuar a partir de observações feitas durante a entrevista.
	Pergunta-Guia	Primeira avaliação: 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 dizer que dia é hoje? (semana- mês- ano)? Você tem conseguido se concentrar? Como está sua memória? (Caso necessário faça exame específico). Re-entrevista: Você pode me dizer que dia é hoje? (semana- mês- ano)? Você pode me dizer o que tinha ontem no jantar?
		0 Não observado 1 Muito leve: Ex: parece um pouco confuso. 2 Leve: Ex: indica 2003 quando é na verdade 2004. 3 Moderado: Ex: indica 1992. 4 Moderadamente Grave: Ex: não sabe ao certo onde está. 5 Grave: Ex: não faz idéia onde está. 6 Muito Grave: Ex: não sabe quem é.

ANEXO B - Termo de consentimento livre e esclarecido pacientes SZ

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PACIENTES:

Nome:

Data de Nascimento:

Pesquisador Responsável: Clarissa Severino Gama

Pesquisador Executor: Raffael Massuda

Gostaríamos de convidar você a participar de um estudo científico, e, antes de mais nada, gostaríamos que você tomasse conhecimento do que ele envolve. Damos abaixo alguns esclarecimentos sobre dúvidas que você possa ter. Em caso de qualquer outra dúvida quanto ao estudo e o que ele envolve e sobre os seus direitos, você deverá contatar o médico psiquiatra Raffael Massuda ou a médica psiquiatra Clarissa Severino Gama pelo telefone: 21018845 ou pelo endereço: Laboratório de Psiquiatria Molecular, Rua Ramiro Barcellos, 2350 - CEP 90035-903 Bairro Rio Branco - Porto Alegre - RS.

Qual o objetivo desta pesquisa?

Conhecer algumas características clínicas dos pacientes portadores de esquizofrenia e compará-las com seus irmãos. Serão medidos no sangue três grupos de substâncias: marcadores de inflamação (chamados interleucinas), neurotrofinas (proteínas que existem no cérebro que podem ser medidas no sangue) e marcadores de stress oxidativo. Esses grupos de substâncias, quando analisadas juntas são utilizadas para verificarmos que as doenças psiquiátricas tem alterações sistêmicas (em todo o corpo). Queremos, primeiro, verificar como essas substâncias estão presentes nos sangue dos pacientes e depois comparar com irmãos de pacientes, junto a isso queremos correlacionar essas alterações com a cognição, isso para ver se existe associação entre alterações inflamatórias e cognição em pacientes e familiares de primeiro grau.

Além da comparação com a cognição, um grupo de 10 participantes serão selecionados aleatoriamente e serão convidados para realizar Ressonância Magnética. Com esse exame queremos verificar se essas possíveis alterações tanto de neurotrofinas quanto de cognição estão relacionadas com alteração de volume cerebral. Esse é um exame de imagem seguro, que não envolve radiação, porém é contra indicado em pessoas que tenham implantes metálicos ou eletrônicos, quaisquer tipo de próteses permanentes, fragmentos metálicos no corpo, stent, piercings, tatuagens ou maquiagens permanentes recentes, aparelhos ortodônticos, cirurgias recentes e gravidez. Ou seja, este estudo tem por objetivo, de uma forma geral, conhecer um pouco melhor como "funciona" a esquizofrenia.

O que acontecerá neste estudo?

Após os pacientes e familiares responderem às questões em estudo através de questionários, serão feito alguns testes de perguntas que durará cerca de 60 minutos, com uma pausa se o paciente se cansar. Será feita também uma coleta de 5 mls sangue para exame. Este exame será utilizado apenas para observar as alterações nesses três grupos de substâncias. Os pacientes selecionados para o exame de Ressonancia Magnética serão

HCPA / GPPG
 VERSÃO APROVADA
 26.10.11/ROU
 nº 100348 83

...continuação **Anexo B**

submetidos ao exame no Serviço de Radiologia do HCPA, com acompanhamento do pesquisador responsável. Esse exame dura cerca de 25 minutos, e não será utilizado nenhum tipo de medicação para esse exame

Quais os benefícios em participar deste estudo?

A sua participação neste estudo poderá proporcionar, no âmbito pessoal, a identificação de algum problema não antes conhecido, e no âmbito coletivo, poderá ajudar no desenvolvimento de maior conhecimento da esquizofrenia e principalmente em relação às causas da doença e como ela funciona.

Quais são os direitos dos participantes?

Os pesquisadores deste estudo podem precisar 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 enviados para publicação em um jornal científico, mas você em nenhum momento será identificado por nome. Sua participação no estudo é voluntária, de forma que caso você decida não participar, isto não afetará o tratamento de rotina ao que o paciente tem direito.

Todo o material coletado será descartado após a realização desse projeto (escalas, soro sanguíneo e exame de imagem) e não será utilizado para nenhum outro fim. Nenhum uso comercial do referido material será feito.

Quais são os riscos que envolvem este estudo?

Esta pesquisa é considerada como de risco mínimo para a saúde, podendo ocorrer apenas um mal-estar passageiro ou manchas roxas no local da coleta de sangue. Seu nome e seus dados serão mantidos em sigilo pelos pesquisadores, sendo estes dados utilizados somente para pesquisa.

Declaro que:

1. **Recebi uma explicação completa do objetivo do estudo, dos procedimentos envolvidos e o que se espera de minha pessoa.**
2. **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 na instituição.**
3. **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, ou seja, não serei referido por nome em qualquer relatório relacionado a este estudo.**
4. **Concordo total e voluntariamente em fazer parte deste estudo.**

Assinatura do Paciente

Ass:

Data:

Assinatura do Pesquisador responsável

Ass:

Data:

HCPA / GPPG
VERSÃO APROVADA
26/06/2011
nº 100348 83

ANEXO C - Termo de consentimento livre e esclarecido pacientes controles

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA VOLUNTÁRIOS:

Nome:

Número do protocolo:

Pesquisador Responsável: Clarissa Severino Gama

Pesquisador Executor: Raffael Massuda

Gostaríamos de convidar você, a participar de um estudo científico. Esse estudo tem como intenção conhecer algumas características clínicas dos pacientes portadores de esquizofrenia e compará-las com seus irmãos. Serão medidos no sangue três grupos de substâncias: marcadores de inflamação (chamados interleucinas), neurotrofinas (proteínas que existem no cérebro que podem ser medidas no sangue) e marcadores de stress oxidativo. Esses grupos de substâncias, quando analisadas juntas são utilizadas para verificarmos que as doenças psiquiátricas tem alterações sistêmicas (em todo o corpo). Queremos, primeiro, verificar como essas substâncias estão presentes nos sangue dos pacientes e depois comparar com irmãos de pacientes, junto a isso queremos correlacionar essas alterações com a cognição, isso para ver se existe associação entre alterações inflamatórias e cognição em pacientes e familiares de primeiro grau. Ou seja, este estudo tem por objetivo, de uma forma geral, conhecer um pouco melhor como "funciona" o esquizofrenia. A sua participação será de controle, ou seja, alguém sem parentes de primeiro grau com esquizofrenia, para comparar tanto as dosagens dos pacientes quanto as dosagens dos irmãos dos pacientes, e com isso verificar se há algum tipo de alteração em cada um desses dois grupos.

Serão realizados alguns testes de perguntas que durará cerca de 60 minutos, com uma pausa se o paciente se cansar. Será feita também uma coleta de 5 ml sangue para exame. Este exame será utilizado apenas para observar as alterações nesses três grupos de substâncias.

Além da comparação com a cognição, um grupo de 10 participantes serão selecionados aleatoriamente e serão convidados para realizar Ressonância Magnética. Com esse exame queremos verificar se essas possíveis alterações tanto de neurotrofinas quanto de cognição estão relacionadas com alteração de volume cerebral. Esse é um exame de imagem seguro, que não envolve radiação, porém é contra indicado em pessoas que tenham implantes metálicos ou eletrônicos, quaisquer tipo de próteses permanentes, fragmentos metálicos no corpo, stent, piercings, tatuagens ou maquiagens permanentes recentes, aparelhos ortodônticos, cirurgias recentes e gravidez.

O sangue coletado será armazenado e essas substâncias serão avaliadas em conjunto com alguns dados coletados de pacientes. Se durante a avaliação em que serão aplicadas escalas diagnosticas, for constatado algum diagnostico psiquiátrico, o voluntario será orientado a procurar a rede básica de saúde para uma melhor avaliação e conduta.

HCPA / GPPG
VERSÃO APROVADA
26/01/2011
V. 1.0

...continuação **Anexo C**

Todo o material coletado será descartado após a realização desse projeto (escalas e soro sanguíneo) e não será utilizado para nenhum outro fim. Nenhum uso comercial do referido material será feito.

Esta pesquisa é considerada como de risco mínimo para a saúde, podendo ocorrer apenas um mal-estar passageiro ou manchas roxas no local da coleta de sangue. Seu nome e seus dados serão mantidos em sigilo pelos pesquisadores, sendo estes dados utilizados somente para pesquisa.

Eu, _____, fui informado (a) dos objetivos especificados acima e da justificativa desta pesquisa, de forma clara e detalhada. Recebi informações específicas sobre cada procedimento no qual estarei envolvido, dos desconfortos ou riscos previstos, tanto quanto dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disso, sei que terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa de acordo com essas informações, sem que isto me traga prejuízos.

Assinatura do voluntário

Assinatura do pesquisador responsável

Data:

Em caso de qualquer outra dúvida quanto ao estudo e o que ele envolve e sobre os seus direitos, você deverá contatar o pesquisador Raffael Massuda ou a pesquisadora Clarissa Gama pelo telefone: 21018845 ou pelo endereço: Laboratório de Psiquiatria Molecular, Rua Ramiro Barcellos, 2350 - CEP 90035-903 Bairro Rio Branco - Porto Alegre - RS.

HCPA / GPPG
VERSÃO APROVADA
26/01/2011
nº 10034883