

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Centro de Ciências da Saúde
Doutorado em Medicina Tropical

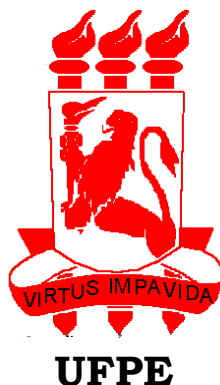
ANTONIO MEDEIROS PEREGRINO DA SILVA

ASPECTOS IMUNOLÓGICOS NA ESQUIZOFRENIA
ATIVAÇÃO DE MONÓCITOS E PERFIL LEUCOCITÁRIO



Recife
2008

ANTONIO MEDEIROS PEREGRINO DA SILVA



ASPECTOS IMUNOLÓGICOS NA ESQUIZOFRENIA
ATIVÇÃO DE MONÓCITOS E PERFIL LEUCOCITÁRIO

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do Grau de Doutor em Medicina Tropical.

Área de Concentração: Imunologia

Orientadora: Prof^a Dra. Célia Castro

Co-orientador: Prof. Dr. Othon Bastos

Universidade Federal de Pernambuco

Recife
2008

Silva, Antonio Medeiros Peregrino da

Aspectos imunológicos na esquizofrenia: ativação de monócitos e perfil leucocitário / Antonio Medeiros Peregrino da Silva. – Recife : O Autor, 2008.

103 folhas ; il., fig., tab.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Medicina Tropical, 2008.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Esquizofrenia – Sistema imunológico. I. Título.

616.89-008

CDU (2.ed.)

UFPE

616.898

CDD (22.ed.)

CCS2009-008

1.

RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DO DOUTORANDO

ANTONIO MEDEIROS PEREGRINO DA SILVA

No dia 22 de fevereiro de 2008, às 09h00, na Sala Prof. Murillo LaGreca no 3º. and do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CCSIUFPE), os Membros Doutores: Prof, Dr, José Luiz de Lima Filho (UFPE - Membro Externo), o Prof, Dr. Marcelo Moraes Valença (UFPE - Membro Externo), a Profa. Dra. Maria Amélia Vieira Maciel (UFPE - Membro Interno), a Profa. Drª. Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho (UFPE - Membro Interno) e o Prof. Dr, Raul Antonio Moraes Melo (UPE - Membro Externo), componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, arguíram o doutorando ANTONIO MEDEIROS PEREGRINO DA SILVA sobre a sua Tese intitulada "ASPECTOS IMUNOLÓGICOS NA ESQUIZOFRENIA: ATIVAÇÃO DE MONÓCITOS E PERFIL LEUCOCITÁRIO". Ao final da arguição de cada membro da Banca Examinadora e resposta do doutorando, as seguintes menções foram publicamente fornecidas.

Prof. Dr. José Luiz de Lima Filho

Prof. Dr. Marcelo Moraes Valença

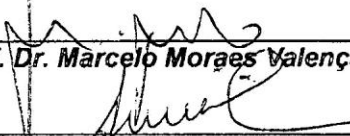
Prof. Dr. Maria Amélia Vieira Maciel

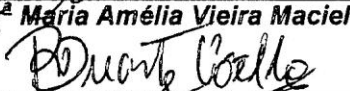
Prof. Dr. Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho

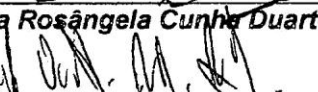
Prof. Dr. Raul Antonio Moraes Melo

Aprovado
Aprova
Aprovado
APROVADO
APROVADO


Prof. Dr. José Luiz de Lima Filho


Prof. Dr. Marcelo Moraes Valença


Prof. Dr. Maria Amélia Vieira Maciel


Prof. Dr. Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. José Tadeu Pinheiro

DEPARTAMENTO DE MEDICINA TROPICAL

Prof. Dr. Josemir Belo dos Santos

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL

COORDENADORA

Profa. Dra. Heloísa Ramos Lacerda de Melo

VICE-COORDENADORA

Profa. Dra. Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho

Dedico este trabalho à minha
esposa, Tereza, e aos meus filhos,
Renata, Henrique e Beatriz.

Para Hugo Couto, como um
incentivo para a vida profissional de
psiquiatra.

Agradecimentos

Uma tese de doutorado, após apresentação e aprovação por banca especializada, torna Doutor muitas pessoas, além do doutorando formal.

A meu ver, de certo modo transformam-se em Doutores todos aqueles que, independente de titulações acadêmicas, participaram conosco do trabalho – às vezes labutaram mais até do que nós – para que o estudo fosse concluído.

A eles quero agradecer com o melhor do meu reconhecimento.

Ao meu pai, Geraldo Peregrino, hoje com 87 anos, lúcido e sempre meu incentivador nos estudos e conselheiro nas coisas da vida.

Aos meus irmãos, Hortencio, Luciano e Geraldo, identicamente atenciosos comigo e me apoiando nas atividades acadêmicas.

À minha orientadora e amiga de exatos trinta anos, Profa. Dra. Célia Maria Machado Barbosa de Castro pela orientação, carinho e tranqüilidade nas etapas intranqüilas do trabalho.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Othon Bastos, que me iniciou na Psiquiatria, orientou-me no Mestrado e, sobretudo, é um amigo querido.

À Kércia Sandrine, que me acompanhou por quase dois anos para a coleta de material de estudo. Kércia foi uma pessoa que comprou a idéia da pesquisa e batalhou conosco no *front* para o exame dos doentes e controles que participaram desta pesquisa.

Aos professores da Pós-Graduação em Medicina Tropical que me acolheram e apoiaram no estudo desde o primeiro contato. Aqui se faz preciso citar o nome específico do Prof. Dr. Ricardo Ximenes. Agradeço a você, Ximenes, o apoio, a atenção e o carinho que pude perceber na sua pessoa mais sisuda, em relação à minha participação nas coisas da Epidemiologia e da Medicina Tropical.

Aos secretários Jupira Pinho (que cafezinho!) e Walter Galdino pela atenção e simpatia nas atividades de secretaria do doutorado.

À Profa. Dra. Maria Mercedes Otero Rocha, do Departamento de Biblioteconomia da UFPE que nos auxiliou na questão das referências e normas de publicação.

Aos estudantes de Medicina, estagiários do Laboratório de Imunopatologia Keiso-Asamo – LIKA, que participaram da elaboração dos exames bioquímicos, Natália Lira, Maiara Severo, Alice Bezerra e Max Rainier.

À Profa. Dra. Paula Loureiro que, de imediato, pôs à disposição o seu laboratório para execução dos hemogramas e dosagens de prolactina.

À Profa. Maria José Couto, minha boa amiga Maria, que executou no Laboratório Central da Secretaria de Saúde do Estado e no Laboratório da Prefeitura Municipal do Recife todos os exames anti-HIV.

Aos amigos Gleison Cavalcanti e Ivamar Barbosa (Lundbeck do Brasil) pelo inestimável apoio no início dos trabalhos.

Aos pacientes e controles, aqueles que verdadeiramente estiveram na linha de frente para que houvesse progresso no conhecimento científico, e com os quais especialmente, compartilho este trabalho.

Resumo

Unitermos: Esquizofrenia, Imunologia, Monócitos, Radicais Livres, Interleucinas

A tese ora apresentada trata da associação entre o sistema nervoso central (SNC) e o sistema imunológico. Mais especificamente, entre monócitos e esquizofrenia.

A doença esquizofrênica é um grave transtorno psiquiátrico, de evolução crônica, com surtos psicóticos periódicos. Inicia-se na idade de adulto jovem e em seu desfecho clínico compromete sobremaneira o funcionamento global do indivíduo acometido. Ou seja, prejudica a integração social, a esfera afetiva, impede a progressão na vida acadêmica e incapacita para o trabalho.

A expressão sintomatológica da esquizofrenia é denominada mental, porém a etiopatogenia e a fisiopatologia da doença é terreno em aberto. Para a compreensão desses aspectos os estudos se dirigem para a área da genética, neuroquímica, neuroimagem (neuroanatomia) e interpretações a partir da farmacodinâmica dos antipsicóticos. Uma das linhas de pesquisa direciona-se para o sistema imunológico.

No início do século XX foram relatadas alterações em células imunocompetentes em pacientes com esquizofrenia. A princípio, por limitações técnicas, apenas a contagem e descrição da morfologia celular de leucócitos. Nas últimas décadas, todavia, as pesquisas vêm se aprofundando no estudo dos fenômenos e mecanismos intracelulares tais como produção de oxiradicais e citocinas.

O nosso trabalho teve por objetivo principal avaliar a imunidade de pacientes com esquizofrenia nos seguintes aspectos:

2. No sangue periférico:
 - a. Perfil leucocitário
3. Especificamente em monócitos:
 - a. Taxa de fagocitose
 - b. Produção de superóxido
 - c. Produção de óxido nítrico

d. Produção de Interleucina-12

e. Produção de Interferon-gama

Secundariamente, acessamos aspectos da psicopatologia usando a escala de sintomas positivos e negativos (PANSS) e características demográficas.

Para todos esses objetivos, estudamos um grupo de pacientes com esquizofrenia (n=30), comparados a controles sadios (n=30). Os pacientes tinham evolução da doença, em média, há 7.6 anos e estavam em fase aguda (surto psicótico) no momento do exame. Não usavam medicamentos há pelo menos 90 dias. Os controles foram voluntários e tomaram conhecimento do trabalho, de forma verbal, por diversas fontes. Os grupos foram pareados por sexo, faixa etária e condição de ser ou não fumante.

As variáveis estudadas, os resultados e conclusões são descritas em três artigos que se seguem ao capítulo de revisão sobre aspectos imunológicos na esquizofrenia.

Desta maneira, este trabalho está organizado da seguinte forma:

1. Capítulo I – Artigo de Revisão: “Aspectos Imunológicos na Esquizofrenia”. Após introdução histórica e hipóteses sobre a participação do sistema imune na esquizofrenia, a ênfase recai nos radicais livres de oxigênio e citocinas. O artigo está formatado para publicação no Jornal Brasileiro de Psiquiatria (Brazilian Journal of Psychiatry) como “Artigo de Revisão”.
2. Capítulo II – Artigo Original 1: “Superóxido, Óxido Nítrico, Fagocitose, Interleucina-12 e Interferon-gama em monócitos de pacientes com esquizofrenia”. Este artigo está formatado seguindo os critérios para publicação no periódico “Schizophrenia Research”.
3. Capítulo III – Artigo Original 2: “Perfil Leucocitário de pacientes com esquizofrenia”. Artigo original no qual são apresentados os

resultados da crase leucocitária dos indivíduos estudados. A formatação segue os critérios de publicação do periódico “Psychiatry Research”.

4. Capítulo IV – Artigo Original 3: “Aspectos clínicos e demográficos de pacientes com esquizofrenia a partir de estudo imunológico”. Este artigo, formatado para publicação no periódico “Cadernos de Saúde Pública” contém aspectos da psicopatologia acessados pela PANSS além de características demográficas que se relacionam ao desfecho clínico do transtorno.

Cada um dos quatro artigos contém o seu próprio resumo, desenvolvimento do tema, metodologia, resultados, discussão e referências bibliográficas.

Ao final, há um capítulo de Conclusões Gerais, com síntese dos achados após os experimentos e exame clínico.

O estudo foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (processo número 554531/2005-4).

Abstract

Uniterms: Schizophrenia, Immunology, Monocytes, Free Radicals, Interleukin

The thesis here presented deals with the association between the central nervous system (CNS) and the immune system, more specifically the linkage between monocytes and schizophrenia

The schizophrenia disease is a serious psychiatric disorder, of chronic evolution, with periodic psychotic outbreaks. It is initiated in the teenage years and in its clinical outcome compromises the overall functioning of the patient, thus hindering the social integration, the affective sphere, as well as the progression in the academic life leading to incapacity for work.

The symptomatic expression of the schizophrenia is called mental, however the ethio-pathogenesis and the pathophysiology of the disease are still open. In order to understand these aspects the studies go toward the areas of genetics, neurochemistry, neuro-image (neuroanatomy) and interpretations from the pharmacodynamics of the antipsychotics. One line of the researches follows the immune system.

In the beginning of 20th century alterations in immune-competent cells in patients with schizophrenia had been reported. Initially, due to technical limitations, there was only the counting and description of the cellular morphology of leukocytes. In the last decades, however, the researches are deepening on the studies of the phenomena and intracellular mechanisms such as the production of oxid-radicals and cytokines.

This present work holds as main objective to evaluate the immunity of patients with schizophrenia under the following aspects:

4. In the peripheral blood:
 - a. Leukocytal profile

5. Specifcally in monocytes:
 - a. Phagocytosis rate

- b. Production of superoxide
- c. Production of nitric oxide
- d. Production of Interleukin 12
- e. Production of Interferon gamma

Secondly, we dealt with aspects of the psychopathology through the scale of positive and negative symptoms (PANSS) and demographic characteristics.

For all these objectives we studied a group of patients with schizophrenia (n=30), compared to healthy controls (n=30). The patients had been presenting the disorder in average for 7.6 years and were in critical phase (psychotic outbreak) at the time of the tests. They had not been using any medication for at least 90 days. The controls were all volunteers and were acknowledged of the study in verbal form, from different sources. The groups were paired up by the gender, age and smokers or non-smokers.

The variables here studied, the results and the conclusions are described in three articles that follow the review chapter about the immunologic aspects of the schizophrenia

Therefore the present work is organized as follows:

- 5. Chapter I – Review Article: “Immunologic Aspects of the Schizophrenia”. After the historical introductions and hypothesis concerning the participation of the immune system in schizophrenia, the emphasis falls upon the free radicals of oxygen and cytokines. The article is formatted to be published in the Brazilian Journal of Psychiatry as a “Review Article”.
- 6. Chapter II – Original Article 1: “Superoxide, Nitric oxide, Phagocytosis, Interleukin-12 and Interferon gamma in monocytes of patients with schizophrenia”. This article is formatted to be published following the criteria of the journal “Schizophrenia Research”.

7. Chapter III – Original Article 2: “Leukocytal profile of patients with schizophrenia”. The original article in which the results of leukocytic profile of the studied patients are presented. The format follows the criteria to be published in the journal “Psychiatry Research”.
8. Chapter IV – Original Article 3: “Clinical and demographic aspects of the patients with schizophrenia originated from immunologic studies”. This article, formatted to be published in the journal “Cadernos de Saúde Pública”, holds aspects of the psychopathology provided by the PANSS, as well as demographic characteristics which are related to the clinical outcome of the disorder.

Each of the four articles brings its own abstract, the development of the theme, methodology, results, discussions and bibliographical references.

At the end, there is a chapter on General Conclusions, with a summary of the findings after the experiments and clinical tests.

The study was funded by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – # 554531/2005-4.

Lista de Figuras por Artigo

Artigo 2: “Superóxido, óxido nítrico, fagocitose, interleucina-12 e inteferron-gama em monócitos de pacientes com esquizofrenia”

Figura 1 Correlação entre PANSS (sintomas positivos) e Produção de Óxido Nítrico estimulado por LPS Erro! Indicador não definido.

Lista de Tabelas por Artigos

Artigo 2: “Superóxido, óxido nítrico, fagocitose, interleucina-12 e interferon-gama em monócitos de pacientes com esquizofrenia”

Tabela 1 Dados demográficos de pacientes esquizofrênicos comparados a controles saudáveis.....	54
Tabela 2 Taxa de fagocitose, superóxido, óxido nítrico, interleucina-12 e inteferon-gama em pacientes com esquizofrenia (n=30) comparados a controles sadios (n=30)	55

Artigo 3: “Perfil leucocitário de pacientes com esquizofrenia”

Tabela 1 Dados demográficos de pacientes esquizofrênicos comparados a controles saudáveis.....	54
Tabela 2 Taxa de fagocitose, superóxido, óxido nítrico, interleucina-12 e inteferon-gama em pacientes com esquizofrenia (n=30) comparados a controles sadios (n=30)	55

Artigo 4: “Aspectos clínicos e demográficos de pacientes com esquizofrenia a partir de estudo imunológico”

Tabela 1 Dados demográficos de pacientes esquizofrênicos comparados a controles saudáveis.....	54
Tabela 2 Taxa de fagocitose, superóxido, óxido nítrico, interleucina-12 e inteferon-gama em pacientes com esquizofrenia (n=30) comparados a controles sadios (n=30)	55

82

SUMÁRIO

Resumo	7
Abstract	10
Lista de figuras	13
Lista de tabelas	14
Capítulo 1 – Artigo de Revisão	16
Capítulo 2 – Artigo Original 1	45
Capítulo 3 – Artigo Original 2	63
Capítulo 4 – Artigo Original 3	76
Capítulo 5 – Conclusões	89
Anexo A	92
Anexo B	93
Anexo C	96
Anexo D	100
Anexo E	101
Anexo F	102

Capítulo I

Artigo de Revisão

ASPECTOS IMUNOLÓGICOS NA ESQUIZOFRENIA

O mistério das coisas, onde está ele?
Onde está ele que não aparece
Pelo menos a mostrar-nos que é mistério?

Alberto Caeiro,
heterônimo do poeta português Fernando Pessoa (1833-1935)

Resumo

A esquizofrenia é um transtorno mental grave e crônico com etiopatogenia e fisiopatologia ainda pouco conhecidas. Tem sido destacado o papel dos neurotransmissores, particularmente catecolaminas, porém avolumam-se os estudos de genética e neurodesenvolvimento, neuroquímica, neuroanatomia (neuroimagem) e imunologia para descoberta e compreensão das alterações orgânicas subjacentes ao fenômeno. Uma das áreas incriminadas é aquela que envolve as células imunocompetentes e a doença esquizofrênica. A partir de pesquisa nas bases de dados PubMed, SciELO, LILACS e Fundação Cochrane revisamos os principais artigos a respeito da relação entre sistema imune e esquizofrenia nos últimos dez anos. Diversos são os estudos e linhas de pesquisa na área. São encontrados relatos que se aprofundam desde a descrição da crise leucocitária até a observação de fenômenos moleculares intracelulares. Já foram supostos patógenos virais ou etiologia auto-imune para a doença. Os resultados ainda são inconclusivos sob diversos aspectos na dependência do tipo de amostra acessada ou exames efetuados. Há indícios, todavia, da existência de um subgrupo de doentes nos quais possa haver correlação entre células imunocompetentes e fisiopatologia da esquizofrenia. Manutenção da linha de pesquisa é sugerida.

Palavras-chave: esquizofrenia, citocinas, leucócitos, óxido nítrico, superóxido, fagocitose.

Keywords: schizophrenia, cytokines, leucocytes, nitric oxide, superoxide, phagocytosis.

Introdução

Esquizofrenia e sistema imune

Histórico

Correlações do sistema imune com a esquizofrenia constituem objeto de estudo da Medicina desde há muito.

Em meados do século XIX, o alienista francês Esquirol (1772-1840) descreveu uma “apresentação epidêmica” de transtornos psicóticos, fato que pode ser visto como o primórdio dos estudos associando o sistema imunológico e a esquizofrenia.^{1, 2}

Outra observação curiosa também provém do final do século XIX quando o psiquiatra e prêmio Nobel de Medicina Julius Wagner-Jauregg (1857-1940) relatou os efeitos benéficos de infecções agudas e febre experimental sobre sintomas psiquiátricos. Essa questão nunca foi estudada sistematicamente, porém evidências demonstram que citocinas pirogênicas liberadas durante processos infecciosos podem afetar positivamente a psicopatologia.^{3, 4} Além disso, febre transitória também pode ser observada quando do uso de antipsicóticos (p. ex. clozapina).

A primeira investigação laboratorial sobre a imunidade de pacientes esquizofrênicos data do início do século XX com o relato de quantidades aumentadas de linfócitos em doentes.⁵ Devido às limitações técnicas à época, os autores trabalharam apenas com a contagem de células em sangue periférico.

Nas décadas de 60 e 80, outros estudos se dirigiram para a crase leucocitária porém os resultados (aumentos em leucócitos, neutrófilos ou linfócitos) foram atribuídos à exposição à terapêutica farmacológica. No final dos anos 80, houve a descrição de modesto – embora significativo – aumento de atipia leucocitária na condição de medicado ou não.⁵

Na década seguinte, foram publicadas pesquisas com relato de leucocitose⁶ e elevação de neutrófilos e monócitos,^{7, 8} embora outros

pesquisadores não observassem o fenômeno.⁹ Especificamente quanto aos monócitos os resultados foram inconclusivos. Alguns autores constatarem monocitose no sangue periférico^{6, 10} e no líquido cefalorraquidiano (LCR),¹¹ embora outros descreveram valores normais (circulação periférica).¹²

Presentemente, é sugerida a existência de monócitos ativados em pelo menos um subgrupo de pacientes.¹³

Em estudo recente, Rudolf et al,¹⁴ não encontraram atipias linfocitárias nem ativação de subtipos de linfócitos. Sugeriram que os estudos deveriam ser aprofundados no sentido de se descrever o funcionamento imunológico em nível molecular, além de alterações na morfologia ou quantidade de células.

Esquizofrenia e auto-imunidade

No percurso evolutivo dos estudos envolvendo os sistema imune e a esquizofrenia no século XX e pela crucial necessidade de descoberta dos elementos etiopatogênicos e fisiopatológicos do transtorno, diversas hipóteses foram apresentadas.

Foi suposta como doença auto-imune em 1937, quando o psiquiatra alemão Lehmann-Facijs descreveu evidências de auto-anticorpos dirigidos contra estruturas cerebrais em doentes.^{15, 16}

Alguns aspectos reforçam essa hipótese: a evolução em surtos, a remissão deficitária, o início no final da adolescência ou adulto jovem, o desencadeamento por estresse psicossocial, abuso de drogas ou lesão física.¹ Além disso, observam-se sintomas psicóticos (delírios, alucinações) em doenças auto-imunes como o lúpus eritematoso sistêmico e a doença de Graves, sintomas esses que podem ocorrer independentemente das intervenções terapêuticas. Também já foi descrita maior prevalência de doenças auto-imunes em parentes de indivíduos com esquizofrenia.¹⁷ Além disso, é comprovada a intrigante correlação negativa entre artrite reumatóide e esquizofrenia.^{18, 19}

De forma geral, os estudos com linfócitos foram conflitantes na confirmação de auto-imunidade na doença. Já foram observados

linfócitos ativados T-helper (tipos 1 e 2), resultado a favor da hipótese auto-imune² e estudos nos quais não houve a constatação de ativação de linfócitos ou quanto à produção monocitária de interferon (IFN) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)²⁰, resultados contrários à hipótese auto-imune.

Um aspecto em aberto e fundamental para a questão é o fato de que as pesquisas não identificaram, até a presente data, qualquer anticorpo específico para estruturas celulares neuronais ou da glia.

Etiologia infecciosa?

Síndromes psicóticas podem ser observadas em doenças infecciosas sistêmicas agudas. A observação inaugurou uma linha de pesquisas sobre uma possível etiologia infecciosa na esquizofrenia. As idéias recaíram sobre vírus, sobretudo pelos tipos de alterações laboratoriais.

Na década de 20, o psiquiatra americano Karl Menninger (1893-1990) reportou a ocorrência de psicoses esquizofrenia-símile em vítimas da pandemia de influenza que ocorreu após a I Guerra Mundial. Além disso, houve relatos posteriores que correlacionaram infecção viral (influenza) durante a gravidez (segundo trimestre) e o nascimento de crianças que posteriormente desenvolveram esquizofrenia.²¹⁻²³

Em 1984, o psiquiatra britânico Timothy Crow, idealizou uma hipótese conjunta viral e genética, propondo que um retrovírus poderia integrar-se ao genoma e ser transmitido de maneira mendeliana para os pacientes.²⁴

Recentemente, autores apontaram para o fato de que estresse materno, infecção viral e complicações obstétricas (situações indutoras de citocinas inflamatórias), constituem fatores de risco para a esquizofrenia.²⁵

Outro aspecto interesse é a demonstração de aumento na permeabilidade da barreira hemato-encefálica (BHE) em esquizofrênicos, em estudos post mortem.²⁶ Esses achados poderiam relacionar-se a mecanismos imunopatogênicos e a permeabilidade

aumentada facilitaria a penetração de células imunocompetentes no sistema nervoso central (SNC) para lutar em um possível processo inflamatório. A interleucina-2 (IL-2) – conhecida pela sua capacidade de modificar a permeabilidade da BHE – já foi descrita elevada em subgrupos de esquizofrênicos¹ e a molécula de adesão intercelular-1 (sICAM-1), funcionalmente envolvida na diapedese para focos inflamatórios igualmente foi encontrada aumentada em LCR de pacientes.²⁷

Com esses achados, idealizou-se a possibilidade de contato viral com um sistema imune extremamente imaturo levando a persistentes anormalidades fisiopatológicas na esquizofrenia.²⁸

Apesar das especulações, da mesma maneira como ocorre com relação aos auto-anticorpos, até a presente data, nenhum vírus ou bactéria foi identificado como agente causal na etiologia da esquizofrenia.

Estudos na imunidade celular

Dos diversos aspectos da função imune, a imunidade celular foi um tópico que recebeu grande atenção na última década do século XX.

As células T foram os principais alvos pelo fundamental papel que desempenham no reconhecimento de antígenos, compondo a primeira linha de defesa imunitária celular. Dosagens em sangue periférico de linfócitos T CD4⁺, CD8⁺ e razão CD4⁺/CD8⁺ constituíram o conteúdo de diversas pesquisas com pacientes esquizofrênicos.

Com diferentes tipos de amostras, são relatadas elevações em CD4⁺²⁹⁻³¹ ou nenhuma diferença entre doentes e controles.^{32, 33}

Sperner-Unterweger et al²⁴ observaram taxas aumentadas de CD3⁺, CD4⁺ e razão CD4⁺/CD8⁺ elevada em fase aguda da doença. Quando os indivíduos estudados estavam em primeiro surto, as células T se normalizavam no transcorrer do tratamento. Permaneciam aumentadas se fossem doentes crônicos.

Inversamente, outros estudos^{34, 35} reportaram níveis baixos de CD4⁺ em esquizofrênicos sem medicamentos.

Também neste tópico observam-se resultados conflitantes e inconclusivos. Um dos fatores de confusão é o tipo de amostra examinada: agudos versus crônicos, com ou sem medicação, comparação com indivíduos saudáveis ou com outras doenças psiquiátricas.

Interesse no mecanismo funcional das células imunocompetentes

Os estudos mais recentes vêm se aprofundando para além da observação da crase leucocitária ou dos linfócitos T ativados.

As novas linhas de pesquisa dirigem-se para avaliação da capacidade funcional de células imunocompetentes em nível molecular, através da determinação da sua capacidade de fagocitose e produção de radicais livres de oxigênio como superóxido (O_2^-) e óxido nítrico (NO). Igualmente, tem-se mensurado a produção de diversas citocinas envolvidas na operacionalidade das células do sistema imune.

Os radicais livres de oxigênio

Os radicais livres, particularmente oxiradicais, como O_2^- , NO e íons hidroxila ($\cdot OH$) são gerados, sob condições fisiológicas, a partir do metabolismo aeróbico.

Uma pequena proporção desempenha papel nos mecanismos fisiológicos intracelulares e o restante é inativado pelos sistemas de defesa antioxidante como auto-proteção para a célula. Produzidos em excesso ou se houver falhas nas defesas antioxidantes, os oxiradicais podem interagir com proteínas, lipídeos e ácidos nucléicos causando disfunção ou morte celular.³⁶ Regiões de alto consumo de oxigênio, grande conteúdo lipídico e transição de metais, como o cérebro e membranas neuronais, são áreas especiais “de risco”.³⁷

Os oxiradicais são importantes agentes microbicidas, aumentando de quantidade quando as células imunes fagocitam elementos invasores (patógenos) ou restos celulares ou tumorais.

Diversas evidências indicam a existência de excesso de radicais livres em pacientes com esquizofrenia.³⁸ Para confirmação da hipótese estudos são dirigidos para a produção de O_2^- ou NO além de suas enzimas de síntese, respectivamente NADPH-oxidase e óxido nítrico sintase (NOS) ou de inativação, superóxido dismutase (SOD).

O acesso a células periféricas é um fator de confusão na interpretação de alterações que ocorrem no SNC. Alguns autores, entretanto, destacam o fato de que o estresse oxidativo central torna-se um fenômeno sistêmico e, desta forma, alguns dos produtos oxidativos do tecido cerebral podem ser refletidos no sangue periférico ou no LCR, o que significaria que índices periféricos poderiam ser aceitos como representantes do dano cerebral.³⁹

Óxido Nítrico (NO)

O NO é um radical livre de oxigênio reconhecido como molécula mensageira envolvida fisiologicamente em diversas funções celulares como neurotransmissão, plasticidade, neurotoxicidade, vasodilatação e regulação do fluxo sanguíneo e inibição da agregação plaquetária.^{40, 41} É produzido por células endoteliais, neurônios e macrófagos, a partir do aminoácido L-arginina (L-Arg), sob ação da NOS.⁴² Trata-se de molécula gasosa, solúvel, com reconhecida participação no neurodesenvolvimento.⁴³ Em estudos com animais está relacionado à memória, comportamento e emoções.⁴⁴

Uma vez possuindo elétron não pareado o NO pode conjugar-se com radicais O_2^- produzindo peroxinitrito ($ONOO^-$) que possui ação danosa à célula nervosa.³⁷

O NO é muito rapidamente convertido em outras moléculas e, desta maneira, torna-se difícil sua detecção como molécula nativa. As dosagens de nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) em fluidos corporais e tecidos constituem índices de sua produção global.⁴⁰

Óxido nítrico na esquizofrenia

As primeiras idéias sobre alterações de NO na esquizofrenia derivam de artigos científicos russos da década de 60. Na época se observava o valor da reação de Black (uso de azul de metileno, um inibidor da NOS e da guanil-ciclase) em esquizofrênicos.⁴⁵

Os estudos mais específicos, entretanto, iniciaram-se na década de 90.

Um dos primeiros foi elaborado por Akbarian et al⁴⁶ que sugeriram produção cerebral aumentada de NO em doentes.

Pouco depois, Das et al⁴⁷ estudaram a NOS plaquetária e apontaram para uma relação funcional entre NO e sistemas dopaminérgico e glutamatérgico, ambos envolvidos na neuroquímica da esquizofrenia.^{36, 48} Além disso, observaram que doentes nunca medicados constituíam o grupo no qual havia maior indício de aumento de NO.

Ao contrário, Srivastava et al⁴⁹ observaram diminuição na síntese de NO em polimorfonucleares (PMN) de esquizofrênicos sem alterações nas atividades enzimáticas antioxidantes.

Já Herken et al⁴⁰ encontraram produção aumentada de NO em eritrócitos de esquizofrênicos crônicos e medicados. Pelos resultados, destacaram que o NO desempenha um papel na patogênese, independente de interferência de medicação.

Estudos post mortem descrevem excesso de NO e outros radicais livres de oxigênio em cérebros de esquizofrênicos, indicativo de neurotoxicidade, sobretudo pela formação de ONOO-.^{38, 50} Karson et al⁵¹ observaram aumentada concentração de NOS no vermis cerebellar também em estudo post mortem.

Outros autores⁵² sugeriram que o cérebro de uma pessoa que futuramente tornar-se-á esquizofrênica, pode ter distribuição anormal de neurônios contendo nicotinamida adenina dinucleotídeo – diaforase (NADPH-d) associada à produção de NO; particularmente nas regiões cerebrais mais intimamente relacionadas à esquizofrenia.⁵²

No plasma, também têm sido descritos aumentos de NO em esquizofrênicos.^{43, 53}

Suzuki et al⁴⁴ estudaram o NO seguindo a hipótese de que o seu excesso promoveria neurodegeneração a qual seria a base fisiopatológica das síndromes negativas (apragmatismo, síndrome amotivacional, apatia) encontradas em diversos pacientes esquizofrênicos. Relataram diferenças no grupo com síndrome deficitária, todavia, o achado deu-se no sentido contrário à hipótese de trabalho, isto é, nesse estudo, os dados demonstraram produção diminuída de NO em pacientes com forma deficitária da esquizofrenia.

Superóxido (O₂⁻)

O O₂⁻ é um ânion produzido a partir da redução de uma molécula de oxigênio (O₂) sob ação da NADPH-oxidase associada às membranas celulares.⁵⁴ É inativado pela SOD que conjuga O₂⁻ com água (H₂O) para formar peróxido de hidrogênio (H₂O₂).³⁶

O O₂⁻ é o principal agente bactericida contido em macrófagos e neutrófilos para defesa do hospedeiro contra patógenos.^{55, 56}

Desta maneira, a quantidade de O₂⁻ em células fagocitárias pode ser considerada como um parâmetro da capacidade funcional microbicida das mesmas. Algumas citocinas próinflamatórias (IL-2, IL-12 e IFN-γ) auxiliam a atividade fagocitária de neutrófilos e potencializam a explosão respiratória subsequente.⁵⁷

Superóxido na esquizofrenia

Também a partir da década de 90, começam a surgir estudos sobre o papel do O₂⁻ na esquizofrenia.

Alguns autores demonstraram aumento do ânion em neutrófilos de doentes e correlação positiva entre a produção de O₂⁻ e sintomas negativos da esquizofrenia.^{38, 58}

Outros estudos foram direcionados à SOD, envolvida na detoxificação dos radicais O₂⁻. Foram demonstrados aumentos da

enzima em esquizofrênicos crônicos, e redução naqueles em primeiro episódio.⁵⁹⁻⁶¹

Othmen et al⁶² relataram SOD mais baixa em esquizofrênicos e irmãos não acometidos pela doença em relação a controles saudáveis. Contudo, encontraram efeito protetivo antioxidante nos irmãos a partir da constatação de aumento da enzima de inativação de glutathione (GSH-Px).

Tem sido observado ainda que o metabolismo das catecolaminas, especialmente a dopamina⁶³, está associado à geração de radicais livres de oxigênio. As catecolaminas podem se auto-oxidar para formar radicais livres ou contribuir para a sua formação pela ação da monoaminooxidase (MAO).⁶⁴ Desta maneira, condições associadas ao aumento do metabolismo de catecolaminas – como a esquizofrenia – podem aumentar os níveis de radicais livres.⁶⁵

Os estudos continuam em andamento e, em síntese, conclui-se que o cérebro é excepcionalmente susceptível aos oxiradicais, aspecto que poderia explicar o envolvimento desses metabólitos em diversas doenças neuropsiquiátricas tais como doença de Parkinson, de Alzheimer, de Wilson, de Huntington, ou esquizofrenia.⁶⁴

Fagocitose

A fagocitose é um dos mais importantes mecanismos dos macrófagos na eliminação de patógenos. Foi bem demonstrada em imagens de micrografias nas quais se observa o envolvimento da partícula danosa por pseudópodes até seu completo englobamento para o meio intracelular e posterior ativação da explosão respiratória.⁶⁶

Em macrófagos a taxa de fagocitose é incrementada pela ação do IFN- γ e da IL-12.⁶⁷

Alguns estudos dirigidos para a fagocitose em neutrófilos de esquizofrênicos reportam diminuição da taxa⁶⁸ ou ausência de alterações.⁵⁸

Estudos com citocinas

Uma das mais importantes áreas de interseção entre as neurociências e a imunologia é aquela que envolve as citocinas. Essas são moléculas protéicas que constituem uma classe heterogênea de peptídeos endógenos que orquestram a interação do sistema imunológico.³

As citocinas funcionam como mensageiras entre células imunes (imunomodulação) e células do SNC (neuromodulação).

As IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, IL-18, TNF- α e IFN- γ são consideradas citocinas próinflamatórias enquanto a IL-4, IL-10 e IL-13 são citocinas antiinflamatórias.^{25, 69, 70}

A partir do estudo da IL-2 e de seu receptor solúvel (rIL-2), Smith⁷¹ e Smith e Maes⁷² apresentaram a proposição de que o mecanismo biológico básico da esquizofrenia decorreria de um desequilíbrio no funcionamento macrófagos/linfócitos T. Pela teoria, a ativação crônica de macrófagos, *in vivo*, levaria a uma subsequente falha na sua capacidade de produzir interleucinas *in vitro*. O racional para a teoria de Smith provinha das observações clínicas de que a IL-2 provocava sintomas psicóticos em voluntários saudáveis e a constatação laboratorial de reduções da mesma em macrófagos de esquizofrênicos.

Em estudos com ratos, também já foi observado que a IL-2 tem ação ativadora da função dopaminérgica (hiperativa na esquizofrenia).¹³

Kronfol e Remick⁶⁹ destacaram o fato de que o cérebro já foi imaginado como um sítio privilegiado imunologicamente. Era sugerido que o SNC teria reduzida e peculiar responsividade imune. Comentaram, porém, que evidências recentes apontam para uma atividade imunológica convencional no cérebro incluindo marcas de defesa inflamatória como edema, ativação de fagócitos (microglia), invasão local de células imunes a partir da circulação e presença de citocinas. Quanto a estas últimas, a maioria é secretada pelos astrócitos e pela microglia. Sob certas circunstâncias também podem ser produzidas pelos neurônios.⁷³

A micróglia constitui aproximadamente 20% da população total de células gliais no SNC e são descritas como células da linhagem dos macrófagos. As células microgliais apresentam-se inativas no cérebro normal mas podem ser ativadas por citocinas produzidas por células efetoras do sistema imune, por injúria ao sistema nervoso central ou por lipopolissacarídeos (LPS) em caso de infecções bacterianas.^{74, 75}

Recentemente, a micróglia tem sido reconhecida como mediadora da neuroinflamação através da liberação de citocinas proinflamatórias, de NO e de O_2^- .⁷⁶

Em animais de laboratório, Kato et al⁷⁶ observaram que a risperidona (antipsicótico de 2ª geração) inibe a produção de NO e de citocinas proinflamatórias na micróglia. Com novas técnicas de tomografia por emissão de pósitron (PET), in vivo, demonstram-se evidências de que a ativação da micróglia possa desempenhar papel de importância na esquizofrenia.⁷⁷

Estudos com as interleucinas (IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 e, mais recentemente, IL-12 e IL-18) e interferons (alfa e gama) na esquizofrenia têm sido empreendidos nos últimos anos.^{1, 70} No único estudo com IL-18, Tanaka et al⁷⁸ encontraram aumento do nível sérico em pacientes esquizofrênicos medicados.

Os resultados ainda são inconclusivos, porém tornam-se encorajadores no sentido de que apontam para a possibilidade de existir, em pelo menos uma parcela de doentes, alterações imunológicas subjacentes ao transtorno esquizofrênico. Geralmente, as pesquisas sobre alterações de citocinas são dirigidas para o soro ou líquido de doentes comparados a indivíduos saudáveis.

Em monócitos, Bessler et al⁷⁹, investigaram IL-1, IL-2 e IL-3-like activity (IL-3-LA) em esquizofrênicos medicados. Reportaram: a) redução de IL-2 nos doentes ainda não tratados e aumento dos níveis após tratamento; b) diminuição na produção de IL-3-LA em medicados; c) nenhuma alteração observada quanto à IL-1 β . Destacaram ainda que o tratamento com neurolépticos aumentou os níveis séricos de prolactina.

Contudo, não correlacionaram esse aumento às alterações observadas nas citocinas.

Em relação aos IFNs, estudos sugerem alterações na esquizofrenia.⁸⁰ Mesmo na ausência de um envolvimento etiológico mais direto, IFNs poderiam influenciar a gravidade do transtorno.⁸¹ Também existem evidências de que a administração de IFN- α pode reduzir sintomas da esquizofrenia.⁸⁰

Os resultados são inconclusivos, de maneira semelhante aos demais estudos imunes na esquizofrenia.

Rothermundt et al⁸² observaram reduções nos níveis séricos de IFN- γ , IL-2 e IL-10. Igualmente, Arolt et al⁸³ observaram níveis baixos de IFN- γ e IL-2 na esquizofrenia. Chegaram a propor que a redução no IFN- γ poderia ser um marcador de fase aguda.

Posteriormente, Rothermundt et al⁸⁴ voltaram a observar diminuição do IFN- γ em pacientes antes de medicados e após duas semanas de uso de neurolépticos. Não evidenciaram diferenças na produção de IL-2 e IFN- γ quanto ao status de medicado ou não.

Inversamente, Cazzulo et al,⁸⁵ encontraram aumento do IFN- γ em fase aguda, antes de iniciada a terapêutica. Após 90 dias de medicados a concentração de IFN- γ foi reduzida.

Em estudo *in vitro*, Hornberg et al¹² constataram tendência a níveis mais baixos de IFN- α 2 e IFN- γ , e significativo aumento de IL-2 em cultura de leucócitos. Houve também aumento de sIL-2R. Os autores apontaram para o fato de que achados significativos na imunologia (especialmente, *in vitro*) ainda são inconclusivos e podem ser um epifenômeno não relacionado especificamente à doença.

Estudando diversas citocinas em soro de pacientes com a forma paranóide da esquizofrenia, Kaminska et al⁸⁶ descreveram aumento de IL-6, IL-8 e IFN- γ e diminuição de IL-10, indicativos de ativação da resposta inflamatória. Ao mesmo tempo, não encontraram diferenças quanto a IL2, IL-4, IFN- α e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) em macrófagos estimulados com lipopolissacarídeo (LPS).

Gattaz et al⁸⁷ não encontraram diferenças quanto aos níveis de IL-2 e IFN- γ em pacientes sem medicação.

Ainda sobre IL-2 observa-se que pacientes oncológicos expostos a altas doses da citocina para tratamento do câncer podem exibir sintomas alucinatórios e delirantes que respondem à medicação antipsicótica.²

A IL-12, uma das citocinas mais rapidamente liberadas por monócitos e macrófagos expostos a patógenos, foi pouco estudada na esquizofrenia.^{88, 89} Esta é uma citocina que desempenha papel central no funcionamento das células Th1, incrementando o seu funcionamento e das células natural killer (NK) em participação conjunta com o IFN- γ .^{70, 90} Desta forma, a IL-12 é uma citocina proinflamatória com funções imunorregulatórias que interligam a imunidade inata à adquirida.

Para estudar a IL-12 em doenças psiquiátricas, Kim et al⁷⁰ examinaram pacientes com esquizofrenia, com depressão maior ou com transtorno bipolar e os compararam a controles saudáveis. Em relação à esquizofrenia, constataram não haver diferenças entre pacientes e controles antes de usarem medicamentos. Exames repetidos oito semanas depois de instalada a terapêutica farmacológica constataram redução dos níveis de IL-12. Não conseguiram explicar claramente o mecanismo da redução pós-tratamento, contudo, consideraram possível que efeitos imunossupressivos mediados por monócitos/macrófagos poderiam ser responsáveis pelo fenômeno.

A questão do uso ou não de medicamentos nas pesquisas

Desde que descobertos, na década de 50, foram evidenciados efeitos imunomodulatórios nos antipsicóticos.⁹¹ Naquela época, observaram-se efeitos tuberculostáticos em humanos e proteção contra o choque séptico induzido por endotoxinas em camundongos.³

Décadas depois, a clozapina, protótipo dos antipsicóticos de 2ª geração, apresentou, como um dos seus efeitos adversos agranulocitose em até 1% dos que usam o produto. Embora os mecanismos subjacentes a esse efeito não estejam totalmente compreendidos, acredita-se que haja envolvimento do sistema imune na sua gênese.⁹²

Ainda sobre a clozapina, alguns dos seus metabólitos, *in vitro*, apresentam potente efeito anti-retroviral⁹³ e alguns casos de pancreatite, parotidite, miocardite e coagulopatias relatados durante o uso da substância podem decorrer de ações imunorregulatórias.⁹⁴⁻⁹⁷

Uma das questões cruciais na interpretação de alterações imunológicas na esquizofrenia diz respeito ao fato dos indivíduos estudados estarem ou não em uso de medicamentos no momento em que é avaliada a sua função imune. Outros fatores devem ser igualmente lembrados (infecções recentes, tabagismo, idade). Mas tem sido reforçado o fato de que o uso de medicações pode ser o mais importante complicador na interpretação dos resultados.⁹⁸

Desta maneira, a condição idealmente proposta nos estudos é descrever o que ocorre nos pacientes sem a interferência de fármacos e, nesta situação, avaliar grupos que nunca usaram remédios separados daqueles que já o fizeram e suspenderam o uso e há quanto tempo.

Pollmächer et al³ empreenderam revisão sobre efeitos dos antipsicóticos nas citocinas. Alertaram inicialmente para o fato de que os estudos com medicamentos podem ser divididos entre “*in vivo*” e “*in vitro*”. Os primeiros são mais relevantes para a clínica enquanto que manipulações *in vitro* revelam os mecanismos celulares e moleculares

mais profundamente envolvidos na fisiopatologia celular. Além disso, é preciso diferenciar estudos com humanos daqueles com animais. Os resultados de pesquisas em humanos são limitados pelo fato de que as citocinas e células são acessadas a partir do sangue periférico ou do fluido cérebro-espinhal.

Outra questão diz respeito às doses dos medicamentos usados; tanto na clínica (é larga a amplitude da faixa terapêutica dos antipsicóticos) quanto *in vitro* (variações de 1 a 100 μ M na maioria dos estudos).

Resumidamente, seguem-se algumas observações:

a) Fenotiazinas (p. ex.: clorpromazina):

1. Em humanos saudáveis, voluntários, com 25 mg de clorpromazina 3 vezes ao dia, por um dia: não foram evidenciadas, *in vitro*, alterações na produção de IL-1 β e TNF- α .⁹⁹
2. A adição de clorpromazina a monócitos de sangue periférico, *in vitro*, não provocou efeitos na produção de citocinas induzidas por endotoxinas.³
3. Alguns estudos demonstram que a clorpromazina suprime a liberação ou expressão de IL-2, IFN- γ e TNF- α em células imunocompetentes.³

b) Clozapina

1. Aumenta, *in vivo*, níveis de sIL-2R mas não de sIL-6R.¹⁰⁰
2. Aumenta, *in vivo*, níveis plasmáticos de TNF- α e de ambos os receptores solúveis de TNF (sTNF-Rs).¹⁰¹
3. Em estudo *in vitro* Hinze-Sechl et al¹⁰² descreveram que o tratamento de pacientes esquizofrênicos com clozapina não afetou a capacidade de secreção de IL-2, IL-6, sIL-2R e TNF- α em células mononucleares periféricas. Contudo, suprimiu, a liberação espontânea de sIL-2R e aumentou a de IL-6, não alterando a de TNF- α .

c) Outros antipsicóticos

1. Olanzapina não influenciou níveis de TNF- α e sIL-2R.^{103, 104}
2. Butirofenonas e tioxantenos: existem muito poucos estudos investigando efeitos imunomodulatórios das butirofenonas e os resultados são conflitantes. O haloperidol não demonstrou efeitos nos níveis circulantes de TNF- α , sTNF- α , IL-6, IL-1Ra e sIL-2R.^{3, 105}

Wahlbeck et al¹⁰⁶ destacam que a clozapina tem sido associada ao aumento de granulócitos e monócitos em sangue periférico nas primeiras semanas de tratamento, fato que não é observado com o haloperidol. Desta forma, o tipo de medicamento usado poderia modificar os achados laboratoriais.

Delieu et al¹⁰⁷, relataram anormalidades morfológicas em neutrófilos do sangue periférico de pacientes em uso de clozapina, mesmo quando o número total de células brancas (incluindo os próprios neutrófilos) era normal.

Em 2004, Szuster-Ciesiselska et al¹⁰⁸ apresentaram os resultados de pesquisa in vitro, observando o efeito de três medicamentos antipsicóticos (dois clássicos – clorpromazina e haloperidol – e um atípico – clozapina). Foram usadas concentrações entre 1 e 100 μ M em neutrófilos de voluntários sadios. Observaram que os três medicamentos incrementaram a produção de citocinas antiinflamatórias – como a IL-10 e fator de crescimento tumoral beta (TGF- β) – e inibiram a produção de IL-2. Quanto a IL-4, a produção foi inibida pelo haloperidol e pela clorpromazina, mas não pela clozapina. O IFN- γ foi inibido pelo haloperidol e pela clorpromazina e estimulado pela clozapina. Nesse estudo, nenhum dos três psicofármacos influenciou a produção de IL-12. Quanto ao O₂⁻, os três medicamentos inibiram a sua produção. Concluíram que os mecanismos envolvidos na atividade imunorregulatória dos antipsicóticos ainda permanecem desconhecidos e precisam ser bem explorados.

Conclusão

Os estudos sobre aspectos imunológicos na esquizofrenia ainda são conflitantes e inconclusivos em diversos aspectos.

Resultados positivos de determinada pesquisa, não raro, mostram-se opostos quando replicados em outros estudos.

Há uma enorme quantidade de células e moléculas do sistema imune que podem participar da fisiopatologia da doença. Todavia, sente-se a necessidade de um delineamento mais rigoroso na condução dos estudos desde aspectos relacionados à amostragem dos indivíduos arrolados (pacientes e controles) como também quanto à determinação das áreas anatômicas para coleta de material e os tipos de células ou moléculas a serem estudadas.

Medicações constituem fatores de confusão e, de preferência, os indivíduos devem ser estudados sem usá-las. Pacientes em primeiro episódio parecem constituir a fonte mais promissora de informações uma vez que aspectos como uso de medicação, dieta ou exposição à ambiente hospitalar estariam controlados.¹

Em recente revisão sobre estudos imunológicos na esquizofrenia, Rothermundt et al¹ analisaram criticamente os estudos e achados até então descritos e concluíram com a impressão de que, aplicando-se novos métodos e tecnologias, as ciências básicas e clínicas possam capacitar os pesquisadores na caracterização de mecanismos imunopatológicos envolvidos na etiopatogenia da psicose esquizofrênica.

Talvez seja possível delinear um subtipo do transtorno no qual uma doença infecciosa, auto-imune ou outra disfunção imune possa ter relevância. Questões que devem permear a interpretação dos resultados dizem respeito ao estadiamento clínico da doença (surto/fase estável), curso evolutivo, uso ou não de medicação e subtipo da esquizofrenia (paranóide hebefrênica, catatônica).

A psiconeuroimunologia continua sendo área intrigante e, ao mesmo tempo, terreno fértil para o delineamento e produção de pesquisas que contribuam para a compreensão do “se”, “quanto” e

“como” o sistema imune estaria alterado em pacientes com um transtorno grave, de início precoce, evolução crônica e que chega a reduzir em até 20% a expectativa de vida em relação à população geral.¹⁰⁹

Apesar desses dados, todavia, pacientes com esquizofrenia ainda são pouco estudados nas suas nuances orgânicas. Pouco se sabe sobre o seu funcionamento físico mesmo que, habitualmente, estejam em acompanhamento médico psiquiátrico. Dados do National Ambulatory Medical Care Survey (Estados Unidos), a partir de 3.198 visitas a consultórios psiquiátricos no período 1992-1999 indicaram que psiquiatras são médicos que poderiam atuar em atenção primária para seus pacientes. Entretanto, só põem em prática essa atividade (aconselhamento sobre comportamento saudável e estilo de vida ou mesmo a simples aferição da pressão sangüínea) em cerca 11% das consultas de pacientes com doença mental grave. Da mesma maneira, pacientes esquizofrênicos são pouco examinados por médicos clínicos.¹¹⁰

A dissociação dos serviços de psiquiatria e de clínica médica é algo comum na prática. Isto parece ocorrer desde o ensino médico na academia quando os livros textos e aulas de Psiquiatria se limitam à descrição clínica da esquizofrenia, mas pouco ou nada apresentam sobre questões orgânicas dos doentes.¹⁰⁹

Na tentativa de correção do erro, apesar de se tratar de lugar comum na conclusão de artigos científicos, não é possível fechar esta revisão sem o estímulo para que novas pesquisas sejam realizadas no sentido da melhor compreensão entre SNC e imunidade.

Referências

1. Rothermundt M, Arolt V, Bayer TA. Review of immunological and immunopathological findings in schizophrenia. Brain Behav Immun. 2001 Dec;15(4):319-39.

2. Strous RD, Shoenfeld Y. Schizophrenia, autoimmunity and immune system dysregulation: a comprehensive model updated and revisited. *J Autoimmun.* 2006 Sep;27(2):71-80.
3. Pollmacher T, Haack M, Schuld A, Kraus T, Hinze-Selch D. Effects of antipsychotic drugs on cytokine networks. *J Psychiatr Res.* 2000 Nov-Dec;34(6):369-82.
4. Kluger MJ. Fever: role of pyrogens and cryogens. *Physiological Reviews.* 1991(71):93-127.
5. Printz DJ, Strauss DH, Goetz R, Sadiq S, Malaspina D, Krolewski J, Gorman JM. Elevation of CD5+ B lymphocytes in schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 1999 Jul 1;46(1):110-8.
6. Zorrilla EP, Cannon TD, Gur RE, Kessler J. Leukocytes and organ-nonspecific autoantibodies in schizophrenics and their siblings: markers of vulnerability or disease? *Biol Psychiatry.* 1996 Nov 1;40(9):825-33.
7. Song C, Lin A, Kenis G, Bosmans E, Maes M. Immunosuppressive effects of clozapine and haloperidol: enhanced production of the interleukin-1 receptor antagonist. *Schizophr Res.* 2000 Apr 7;42(2):157-64.
8. Wilke I, Arolt V, Rothermundt M, Weitzsch C, Hornberg M, Kirchner H. Investigations of cytokine production in whole blood cultures of paranoid and residual schizophrenic patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 1996;246(5):279-84.
9. Rothermundt M, Arolt V, Weitzsch C, Eckhoff D, Kirchner H. Immunological dysfunction in schizophrenia: a systematic approach. *Neuropsychobiology.* 1998;37(4):186-93.
10. Muller N, Riedel M, Ackenheil M, Schwarz MJ. The role of immune function in schizophrenia: an overview. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 1999;249 Suppl 4:62-8.
11. Nikkila HV, Muller K, Ahokas A, Miettinen K, Rimon R, Andersson LC. Accumulation of macrophages in the CSF of schizophrenic patients during acute psychotic episodes. *Am J Psychiatry.* 1999 Nov;156(11):1725-9.
12. Hornberg M, Arolt V, Wilke I, Kruse A, Kirchner H. Production of interferons and lymphokines in leukocyte cultures of patients with schizophrenia. *Schizophr Res.* 1995 May;15(3):237-42.
13. Kowalski J, Blada P, Kucia K, Madej A, Herman ZS. Neuroleptics normalize increased release of interleukin- 1 beta and tumor necrosis factor-alpha from monocytes in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2001 Jul 1;50(3):169-75.
14. Rudolf S, Schlenke P, Broocks A, Peters M, Rothermundt M, Arolt V, Kirchner H. Search for atypical lymphocytes in schizophrenia. *World J Biol Psychiatry.* 2004 Jan;5(1):33-7.

15. Nunes SOV. Alterações imunológicas em pacientes esquizofrênicos e esquizoafetivos e familiares biológicos [Doutorado]. Londrina: Universidade Estadual de Londrina; 2004.
16. Ganguli R, Brar JS, Chengappa KN, Yang ZW, Nimgaonkar VL, Rabin BS. Autoimmunity in schizophrenia: a review of recent findings. *Ann Med*. 1993 Oct;25(5):489-96.
17. Gilvari CM, Sham PC, Jones PB, Cannon M, Wright P, Lewis SW. Family history of autoimmune diseases in psychosis. *Schizophr Res*. 1996(19):33-40.
18. Schoos R, Cohen CI. Medical health in aging persons with schizophrenia. In: Meyer JM, Nasrallah HA, editors. *Medical illness and schizophrenia*. 1st ed. London: American Psychiatric Publishing; 2003.
19. Jeste DV, Gladsjo JA, Lindamer LA. Medical comorbidity in schizophrenia. *Schizophr Bull*. 1996(22):413-30.
20. Schattner A, Cori Y, Hahn T, Sirota P. No evidence for autoimmunity in schizophrenia. *J Autoimmun*. 1996 Oct;9(5):661-6.
21. Torrey EF, Miller J, Rawlings R, Yolken RH. Seasonality of births in schizophrenia and bipolar disorder: a review of the literature. *Schizophr Res*. 1997 Nov 7;28(1):1-38.
22. Carpenter WT, Jr., Buchanan RW. Schizophrenia. *N Engl J Med*. 1994(330):681-90.
23. Wright P, Takei N, Murray RM. Maternal influenza obstetric complications and schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 1995(152):1714-20.
24. Sperner-Unterweger B, Whitworth A, Kemmler G, Hilbe W, Thaler J, Weiss G, Fleischhacker WW. T-cell subsets in schizophrenia: a comparison between drug-naïve first episode patients and chronic schizophrenic patients. *Schizophr Res*. 1999 Jul 27;38(1):61-70.
25. Tohmi M, Tsuda N, Watanabe Y, Kakita A, Nawa H. Perinatal inflammatory cytokine challenge results in distinct neurobehavioral alterations in rats: implication in psychiatric disorders of developmental origin. *Neurosci Res*. 2004 Sep;50(1):67-75.
26. Bayer TA, Buslei R, Havas L, Falkai P. Evidence for activation of microglia in patients with psychiatric illnesses. *Neurosci Lett*. 1999 Aug 20;271(2):126-8.
27. Schwarz MJ, Ackenheil M, Riedel M, Muller N. Blood-cerebrospinal fluid barrier impairment as indicator for an immune process in schizophrenia. *Neurosci Lett*. 1998 Sep 11;253(3):201-3.
28. Kirch DG. Infection and autoimmunity as etiologic factors in schizophrenia: a review and reappraisal. *Schizophr Bull*. 1993;19(2):355-70.
29. Ganguli R, Rabin BS, Kelly RH, Lyte M, Ragu U. Clinical and laboratory evidence of autoimmunity in acute schizophrenia. *Ann N Y Acad Sci*. 1987;496:676-85.

30. Henneberg A, Riedl B, Dumke HO, Kornhuber HH. T-lymphocyte subpopulations in schizophrenic patients. *Eur Arch Psychiatry Neurol Sci.* 1990;239(5):283-4.
31. Muller N, Ackenheil M, Hofschuster E, Mempel W, Eckstein R. Cellular immunity in schizophrenic patients before and during neuroleptic treatment. *Psychiatry Res.* 1991 May;37(2):147-60.
32. Schindler L, Beck J, Moises HW, Kirchner H. [Interferon production and lymphoproliferation in whole blood of schizophrenia patients]. *Immun Infekt.* 1985 Apr;13(2):87-8.
33. Bessler H, Eviatar J, Meshulam M, Tyano S, Djaldetti M, Sirota P. Theophylline-sensitive T-lymphocyte subpopulation in schizophrenic patients. *Biol Psychiatry.* 1987 Aug;22(8):1025-8.
34. Cazzullo CL, Saresella M, Roda K, Calvo MG, Bertrando P, Doria S, Clerici M, Salvaggio A, Ferrante P. Increased levels of CD8+ and CD4+ 45RA+ lymphocytes in schizophrenic patients. *Schizophr Res.* 1998 May 4;31(1):49-55.
35. Zhang XY, Zhou DF, Cao LY, Zhang PY, Wu GY. Decreased production of interleukin-2 (IL-2), IL-2 secreting cells and CD4+ cells in medication-free patients with schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 2002 Sep-Oct;36(5):331-6.
36. Mahadik SP, Mukherjee S. Free radical pathology and antioxidant defense in schizophrenia: a review. *Schizophr Res.* 1996 Mar;19(1):1-17.
37. Yao JK, Leonard S, Reddy RD. Increased nitric oxide radicals in postmortem brain from patients with schizophrenia. *Schizophr Bull.* 2004;30(4):923-34.
38. Melamed Y, Sirota P, Dicker DR, Fishman P. Superoxide anion production by neutrophils derived from peripheral blood of schizophrenic patients. *Psychiatry Res.* 1998 Jan 16;77(1):29-34.
39. Sarandol A, Kirli S, Akkaya C, Altin A, Demirci M, Sarandol E. Oxidative-antioxidative systems and their relation with serum S100 B levels in patients with schizophrenia: effects of short term antipsychotic treatment. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry.* 2007 Aug 15;31(6):1164-9.
40. Herken H, Uz E, Ozyurt H, Akyol O. Red blood cell nitric oxide levels in patients with schizophrenia. *Schizophr Res.* 2001 Dec 1;52(3):289-90.
41. Krukoff TL. Central actions of nitric oxide in regulation of autonomic functions. *Brain Res.* 1999(30):52-65.
42. Hou Y, Wu CF, Yang JY, He X, Bi XL, Yu L, Guo T. Effects of clozapine, olanzapine and haloperidol on nitric oxide production by lipopolysaccharide-activated N9 cells. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry.* 2006 Dec 30;30(8):1523-8.

43. Taneli F, Pirildar S, Akdeniz F, Uyanik BS, Ari Z. Serum nitric oxide metabolite levels and the effect of antipsychotic therapy in schizophrenia. *Arch Med Res*. 2004 Sep-Oct;35(5):401-5.
44. Suzuki E, Nakaki T, Nakamura M, Miyaoka H. Plasma nitrate levels in deficit versus non-deficit forms of schizophrenia. *J Psychiatry Neurosci*. 2003 Jul;28(4):288-92.
45. Bernstein HG, Bogerts B, Keilhoff G. The many faces of nitric oxide in schizophrenia. A review. *Schizophr Res*. 2005 Oct 1;78(1):69-86.
46. Akbarian S, Viñuela A, Kim JJ, Potkin SG, Bunney WEJ, Jones EG. Distorted distribution of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphatase-diaphorase neurons in temporal lobe of schizophrenics implies anomalous cortical development. *Arch Gen Psychiatry*. 1993(50):178-87.
47. Das I, Khan NS, Puri BK, Sooranna SR, de Belleruche J, Hirsch SR. Elevated platelet calcium mobilization and nitric oxide synthase activity may reflect abnormalities in schizophrenic brain. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995 Jul 17;212(2):375-80.
48. Blum-Degen D, Heinemann T, Lan J, Pedersen V, Leblhuber F, Paulus W, Riederer P, Gerlach M. Characterization and regional distribution of nitric oxide synthase in the human brain during normal ageing. *Brain Res*. 1999 Jul 10;834(1-2):128-35.
49. Srivastava N, Barthwal MK, Dalal PK, Agarwal AK, Nag D, Srimal RC, Seth PK, Dikshit M. Nitrite content and antioxidant enzyme levels in the blood of schizophrenia patients. *Psychopharmacology (Berl)*. 2001 Nov;158(2):140-5.
50. Lipton SA, Choi YB, Pan ZH, Lei SZ, Chen HSV, Sucher NJ. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature*. 1993(364):626-32.
51. Karson CN, Griffin WS, Mrak RE, Husain M, Dawson TM, Snyder SH, Moore NC, Sturner WQ. Nitric oxide synthase (NOS) in schizophrenia: increases in cerebellar vermis. *Mol Chem Neuropathol*. 1996 Apr;27(3):275-84.
52. Black MD, Selk DE, Hitchcock JM, Wettstein JG, Sorensen SM. On the effect of neonatal nitric oxide synthase inhibition in rats: a potential neurodevelopmental model of schizophrenia. *Neuropharmacology*. 1999 Sep;38(9):1299-306.
53. Yanik M, Vural H, Kocyigit A, Tutkun H, Zoroglu SS, Herken H, Savas HA, Koylu A, Akyol O. Is the arginine-nitric oxide pathway involved in the pathogenesis of schizophrenia? *Neuropsychobiology*. 2003;47(2):61-5.
54. Chanock SJ, El Benna J, Smith RM, Babior BM. The respiratory burst oxidase. *J Biol Chem*. 1994(269):24519-22.

55. De Castro CMMB, De castro RM, De Medeiros AF, Santos AQ, Ferreira e Silva WT, Lima Filho JL. Effect of stress on the production of O₂- in alveolar macrophages. *J Immunol*. 2000(108):68-72.
56. Zhou Y, Lin G, Murtaugh MP. Interleukin-4 suppresses the expression of macrophage NADPH oxidase heavy chain subunit (gp91-phox). *Biochim Biophys Acta*. 1995(1265):40-8.
57. Maes M, Stevens W, DeClerk L, Peeters D, Bridts C, Schotte C, Meltzer HY, Scharpé S, Cosyns P. Neutrophil chemotaxis phagocytosis and superoxide release in depressive illness. *Biological Psychiatry*. 1992(31):1220-4.
58. Sirota P, Gavrieli R, Wolach B. Overproduction of neutrophil radical oxygen species correlates with negative symptoms in schizophrenic patients: parallel studies on neutrophil chemotaxis, superoxide production and bactericidal activity. *Psychiatry Res*. 2003 Dec 1;121(2):123-32.
59. Reddy R, Mahadik SP, Mukerjee S, Makar T. Neuroleptic effects on the enzymes of the antioxidant defense system in manic and schizophrenic patients. *Biological Psychiatry*. 1992(31):248A.
60. Mukerjee S, Mahadik SP, Scheffer R, Correnti EE, Kelkar H. Impaired antioxidant defense at the onset of psychosis. *Schizophr Res*. 1996 Mar;19(1):19-26.
61. Zhang XY, Zhou DF, Cao LY, Chen da C, Zhu FY, Wu GY. Blood superoxide dismutase level in schizophrenic patients with tardive dyskinesia: association with dyskinetic movements. *Schizophr Res*. 2003 Aug 1;62(3):245-50.
62. Ben Othmen L, Mechri A, Fendri C, Bost M, Chazot G, Gaha L, Kerkeni A. Altered antioxidant defense system in clinically stable patients with schizophrenia and their unaffected siblings. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. 2007 Aug 14.
63. Grima G, Benz B, Parpura V, Cuenod M, Do KQ. Dopamine-induced oxidative stress in neurons with glutathione deficit: implication for schizophrenia. *Schizophr Res*. 2003 Aug 1;62(3):213-24.
64. Lohr JB, Browning JA. Free radical involvement in neuropsychiatric illnesses. *Psychopharmacol Bull*. 1995(31):159-65.
65. Zhang XY, Zhou DF, Cao LY, Zhang PY, Wu GY. Elevated blood superoxide dismutase in neuroleptic-free schizophrenia: association with positive symptoms. *Psychiatry Res*. 2003 Jan 25;117(1):85-8.
66. Gordon S. The macrophage: past, present and future. *Eur J Immunol*. 2007 Nov;37 Suppl 1:S9-17.
67. Casanova JL, Abel L. Genetic dissection of immunity to mycobacteria: The human model. *Annu Rev Immunol*. 2002(20):581-620.
68. Cosentino M, Fietta A, Caldiroli E, Marino F, Rispoli L, Comelli M, Lecchini S, Frigo G. Assessment of lymphocyte subsets and neutrophil

leukocyte function in chronic psychiatric patients on long-term drug therapy. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. 1996 Oct;20(7):1117-29.

69. Kronfol Z, Remick DG. Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *Am J Psychiatry*. 2000 May;157(5):683-94.

70. Kim YK, Suh IB, Kim H, Han CS, Lim CS, Choi SH, Licinio J. The plasma levels of interleukin-12 in schizophrenia, major depression, and bipolar mania: effects of psychotropic drugs. *Mol Psychiatry*. 2002;7(10):1107-14.

71. Smith RS. A comprehensive macrophage-T-lymphocyte theory of schizophrenia. *Med Hypotheses*. 1992 Nov;39(3):248-57.

72. Smith RS, Maes M. The macrophage-T-lymphocyte theory of schizophrenia: additional evidence. *Med Hypotheses*. 1995 Aug;45(2):135-41.

73. Hopkins SJ, Rothwell NJ. Cytokines and the nervous system. I: Expression and recognition. *Trends Neurosci*. 1995 Feb;18(2):83-8.

74. Gonzalez-Scarano F, Baltuch G. Microglia as mediators of inflammatory and degenerative diseases. *Annu Rev Neurosci*. 1999(22):219-40.

75. Stoll G, Jander S. The role of microglia and macrophages in the pathophysiology of de CNS. *Prog Neurobiol*. 1999(58):233-47.

76. Kato T, Monji A, Hashioka S, Kanba S. Risperidone significantly inhibits interferon-gamma-induced microglial activation in vitro. *Schizophr Res*. 2007 May;92(1-3):108-15.

77. Drzyzga L, Obuchowicz E, Marcinowka A, Herman ZS. Cytokines in schizophrenia and the effects of antipsychotic drugs. *Brain Behav Immun*. 2006(20):532-45.

78. Tanaka KF, Shintani F, Fujii Y, Yagi G, Asai M. Serum interleukin-18 levels are elevated in schizophrenia. *Psychiatry Res*. 2000 Sep 25;96(1):75-80.

79. Bessler H, Levental Z, Karp L, Modai I, Djaldetti M, Weizman A. Cytokine production in drug-free and neuroleptic-treated schizophrenic patients. *Biol Psychiatry*. 1995 Sep 1;38(5):297-302.

80. Hurlock ECt. Interferons: potential roles in affect. *Med Hypotheses*. 2001 May;56(5):558-66.

81. Yolken RH, Torrey EF. Viruses, schizophrenia, and bipolar disorder. *Clin Microbiol Rev*. 1995 Jan;8(1):131-45.

82. Rothermundt M, Arolt V, Weitzsch C, Eckhoff D, Kirchner H. Production of cytokines in acute schizophrenic psychosis. *Biol Psychiatry*. 1996 Dec 15;40(12):1294-7.

83. Arolt V, Weitzsch C, Wilke I, Nolte A, Pinnow M, Rothermundt M, Kirchner H. Production of interferon-gamma in families with multiple

- occurrence of schizophrenia. *Psychiatry Res.* 1997 Feb 7;66(2-3):145-52.
84. Rothermundt M, Arolt V, Leadbeater J, Peters M, Rudolf S, Kirchner H. Cytokine production in unmedicated and treated schizophrenic patients. *Neuroreport.* 2000 Oct 20;11(15):3385-8.
 85. Cazzullo CL, Sacchetti E, Galluzzo A, Panariello A, Adorni A, Pegoraro M, Bosis S, Colombo F, Trabattoni D, Zagliani A, Clerici M. Cytokine profiles in schizophrenic patients treated with risperidone: a 3-month follow-up study. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry.* 2002 Jan;26(1):33-9.
 86. Kaminska T, Wysocka A, Marmurowska-Michalowska H, Dubas-Slemp H, Kandefer-Szerszen M. Investigation of serum cytokine levels and cytokine production in whole blood cultures of paranoid schizophrenic patients. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2001;49(6):439-45.
 87. Gattaz WF, Dalgalarrrondo P, Schroder HC. Abnormalities in serum concentrations of interleukin-2, interferon-alpha and interferon-gamma in schizophrenia not detected. *Schizophr Res.* 1992 Mar;6(3):237-41.
 88. Trinchieri G. Immunobiology of interleukin-12. *Immunol Res.* 1998(13):251-76.
 89. Gately MK, Renzetti LM, Magram J, Stern AS, Adorini L, Gubler U. The interleukin 12/interleukin 12 receptor system: role in normal and pathologic immune responses. *Annu Rev Immunol.* 1998(16):495-521.
 90. Hayes MP, Wang J, Norcross MA. Regulation of interleukin-12 expression in human monocytes: selective priming by interferon-gamma of lipopolysaccharide-inducible p35 and p40 genes. *Blood.* 1995;2(July 15):646-50.
 91. Zhang XY, Zhou DF, Cao LY, Zhang PY, Wu GY, Shen YC. Changes in serum interleukin-2, -6, and -8 levels before and during treatment with risperidone and haloperidol: relationship to outcome in schizophrenia. *J Clin Psychiatry.* 2004 Jul;65(7):940-7.
 92. Turbay D, Lieberman J, Alper CA, Delgado JC, Corzo D, Yunis JJ, Yunis EJ. Tumor necrosis factor constellation polymorphism and clozapine-induced agranulocytosis in two different ethnic groups. *Blood.* 1997 Jun 1;89(11):4167-74.
 93. Jones-Brando LV, Buthod JL, Holland LE, Yolken RH, Torrey EF. Metabolites of the antipsychotic agent clozapine inhibit the replication of human immunodeficiency virus type 1. *Schizophr Res.* 1997(25):63-70.
 94. Cerulli TR. Clozapine-associated pancreatitis. *Harv Rev Psychiatry.* 1999(7):61-3.

95. Robinson D, Fenn H, Yesavage J. Possible association of parotitis with clozapine. *Am J Psychiatry*. 1995(152):297-8.
96. Killian JG, Kerr K, Lawrence C, Celermajer.D.S. Myocarditis and cardiomyopathy associated with clozapine. *Lancet*. 1999(354):1841-5.
97. Davis S, Kern HB, Asokan R. Antiphospholipid antibodies associated with clozapine treatment. *Am J Hematol*. 1994(46):166-7.
98. Haack M, Hinze-Selch D, Fenzel T, Kraus T, Kuhn M, Schuld A, Pollmacher T. Plasma levels of cytokines and soluble cytokine receptors in psychiatric patients upon hospital admission: effects of confounding factors and diagnosis. *J Psychiatr Res*. 1999 Sep-Oct;33(5):407-18.
99. Bleeker MW, Netea MG, Kullberg BJ, Van der Ven-Jongekrijg J, Van der Meer JW. The effects of dexamethasone and chlorpromazine on tumour necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-10 in human volunteers. *Immunology*. 1997 Aug;91(4):548-52.
100. Pollmacher T, Hinze-Selch D, Mullington J, Holsboer F. Clozapine-induced increase in plasma levels of soluble interleukin-2 receptors. *Arch Gen Psychiatry*. 1995 Oct;52(10):877-8.
101. Pollmacher T, Hinze-Selch D, Mullington J. Effects of clozapine on plasma cytokine and soluble cytokine receptor levels. *J Clin Psychopharmacol*. 1996 Oct;16(5):403-9.
102. Hinze-Selch D, Becker EW, Stein GM, Berg PA, Mullington J, Holsboer F, Pollmacher T. Effects of clozapine on in vitro immune parameters: a longitudinal study in clozapine-treated schizophrenic patients. *Neuropsychopharmacology*. 1998 Aug;19(2):114-22.
103. Kraus T, Haack M, Schuld A, Hinze-Selch D, Kuhn M, Uhr M, Pollmacher T. Body weight and leptin plasma levels during treatment with antipsychotic drugs. *Am J Psychiatry*. 1999 Feb;156(2):312-4.
104. Schuld A, Kraus T, Haack M, Hinze-Selch D, Kuhn M, Pollmacher T. Plasma levels of cytokines and soluble cytokine receptors during treatment with olanzapine. *Schizophr Res*. 2000 Jun 16;43(2-3):164-6.
105. Pollmacher T, Hinze-Selch D, Fenzel T, Kraus T, Schuld A, Mullington J. Plasma levels of cytokines and soluble cytokine receptors during treatment with haloperidol. *Am J Psychiatry*. 1997 Dec;154(12):1763-5.
106. Wahlbeck K, Nikkila H, Rimon R, Ahokas A. Current antipsychotic dose correlates to mononuclear cell counts in the cerebrospinal fluid of psychotic patients. *Psychiatry Res*. 2000 Feb 14;93(1):13-9.
107. Delieu JM, Badawoud M, Williams MA, Horobin RW, Duguid JK. Antipsychotic drugs result in the formation of immature neutrophil leucocytes in schizophrenic patients. *J Psychopharmacol*. 2001 Sep;15(3):191-4.

108. Szuster-Ciesielska A, Slotwinska M, Stachura A, Marmurowska-Michalowska H, Kandefer-Szerszen M. Neuroleptics modulate cytokine and reactive oxygen species production in blood leukocytes of healthy volunteers. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2004 Jan-Feb;52(1):59-67.
109. Meyer JM, Nasrallah HA. Issues surrounding medical care for individuals with schizophrenia. In: Meyer JM, Nasrallah HA, editors. *Medical illness and schizophrenia*. 1st ed. London: American Psychiatric Publishing 2003.
110. Daumit GL, Crum RM, Guallar E, Ford DE. Receipt of preventive medical services at psychiatric visits by patients with severe mental illness. *Psychiatr Serv*. 2002 Jul;53(7):884-7.

Capítulo 2

1º Artigo Original

SUPERÓXIDO, ÓXIDO NÍTRICO, FAGOCITOSE, INTERLEUCINA-12 E INTERFERON-GAMA EM MONÓCITOS DE PACIENTES COM ESQUIZOFRENIA

“Queria muito que o senhor encontrasse uma coisa qualquer alterada nessa pesquisa, doutor. Seria uma esperança para o meu filho e para nós”.

Maria,
nome fictício da mãe de um paciente que participou do estudo

Resumo

Correlações entre o sistema imunológico e esquizofrenia são descritas há cerca de um século. Em virtude de limitações técnicas, as pesquisas iniciais se direcionaram para a contagem ou observação de atipias em leucócitos no sangue periférico. Nas últimas décadas, todavia, tem havido aprofundamento de estudos no funcionamento imune intracelular, particularmente quanto aos oxiradicais e citocinas. Nesta segunda direção, examinamos esquizofrênicos (n=30), em surto e sem medicamentos há pelo menos 90 dias e os comparamos a controles saudáveis (n=30) quanto à taxa de fagocitose e produção de interleucina-12 (IL-12), interferon-gama (IFN- γ), óxido nítrico (NO) e superóxido (O_2^-) em monócitos. A escala de sintomas positivos e negativos (PANSS) foi aplicada para acesso à psicopatologia. Não foram observadas diferenças entre os grupos quanto às dosagens de IL-12, IFN- γ , NO, O_2^- e taxa de fagocitose. Houve correlação positiva entre a sub-escala de sintomas positivos e produção de NO pelas células após estimulação por lipopolissacarídeo (LPS) (Spearman $\rho=0.40$, $p=0.026$). A participação do sistema imune na fisiopatologia da esquizofrenia ainda é um tema em aberto e com resultados conflitantes entre os diversos estudos. São estimulados estudos com doentes em fase aguda da doença, sem uso prévio de medicamentos e com diversas células e moléculas constituintes do sistema imunológico. A correlação entre a PANSS e o NO produzido pelas células após estimulação por LPS demonstra participação de oxiradicais na doença e necessita de estudos adicionais.

Palavras-chave - superóxido, óxido nítrico, fagocitose, interleucina-12, interferon-gama, esquizofrenia

Keywords – Superoxide, nitric oxide, phagocytosis, interleukin-12, interferon-gamma, schizophrenia.

Introdução

Remonta há um século a primeira investigação laboratorial sobre a imunidade de pacientes esquizofrênicos desde que Bruce e Peebles descreveram quantidades aumentadas de linfócitos em sangue periférico de doentes (Printz, Strauss et al., 1999).

A evolução tecnológica tem permitido que os estudos se aprofundem na biologia molecular das células imunocompetentes e, nas últimas décadas, são apresentadas alterações em oxiradicais e citocinas embora com resultados ainda conflitantes (Melamed, Sirota et al., 1998; Rothmundt, Arolt et al., 2001).

Os radicais livres de oxigênio, particularmente superóxido (O_2^-), óxido nítrico (NO) e íons hidroxila (^-OH) são gerados fisiologicamente a partir do metabolismo aeróbico e uma pequena proporção participa dos intrincados mecanismos intracelulares. A fração restante é inativada pelos sistemas de defesa antioxidante como autoproteção. Caso sejam produzidos em excesso ou se as defesas antioxidantes falharem, os oxiradicais podem interagir com proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos causando disfunção ou morte celular (Mahadik and Mukherjee, 1996). O cérebro e as membranas neuronais constituem áreas particularmente vulneráveis (Yao, Leonard et al., 2004).

O NO é reconhecido no SNC como molécula mensageira, envolvida na neurotransmissão, vasodilatação, regulação do fluxo sanguíneo, plasticidade neuronal, neurodesenvolvimento, neurotoxicidade e agregação plaquetária (Krukoff, 1999; Herken, Uz et al., 2001; Taneli, Pirildar et al., 2004). É produzido nos neurônios, endotélio e macrófagos, a partir do aminoácido L-arginina sob ação da óxido nítrico sintase (NOS) (Hou, Wu et al., 2006).

O NO é um radical livre desde que possui um elétron não pareado e, assim, pode conjugar-se com radicais O_2^- produzindo peroxinitrito ($ONOO^-$) que tem ação danosa à célula nervosa (Yao, Leonard et al.,

2004). Estudos com animais de laboratório relacionam o NO à memória, comportamento e emoções (Suzuki, Nakaki et al., 2003).

Pesquisas na esquizofrenia têm demonstrado aumento de NO no cérebro (Akbarian, Viñuela et al., 1993), plasma (Suzuki, Nakaki et al., 2003; Yanik, Vural et al., 2003; Taneli, Pirildar et al., 2004) e eritrócitos de pacientes (Herken, Uz et al., 2001). Inversamente, relatam-se redução da molécula em polimorfonucleares (Melamed, Sirota et al., 1998). Além da questão quantitativa, Das et al (1995) apontaram para a relação entre NO e sistemas dopaminérgico e glutamatérgico, implicados na fisiopatologia da esquizofrenia (Mahadik and Mukherjee, 1996).

O O_2^- é produzido pela redução do oxigênio (O_2) sob ação da NADPH-oxidase encontrada nas membranas celulares (Chanock, El Benna et al., 1994). É inativado pela superóxido dismutase (SOD) conjugando-se com água para formar peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Mahadik and Mukherjee, 1996).

O O_2^- é o principal agente bactericida de macrófagos e neutrófilos na defesa do hospedeiro contra patógenos (Zhou, Lin et al., 1995; De Castro, De castro et al., 2000). Desta maneira, sua determinação em células fagocitárias é considerada um parâmetro da capacidade funcional das mesmas.

Há evidências de aumento de O_2^- em neutrófilos de esquizofrênicos (Melamed, Sirota et al., 1998; Sirota, Gavrieli et al., 2003), embora também seja reportada diminuição do ânion (Cosentino, Fietta et al., 1996).

Sirota et al (2003) descreveram correlação positiva entre a produção do O_2^- e sintomas negativos da esquizofrenia (avolição, anedonia, síndrome amotivacional (Freedman, 2003)) levantando a hipótese de que o O_2^- poderia contribuir para o processo de deterioração da doença.

A fagocitose é um dos mais importantes mecanismos dos macrófagos na eliminação de patógenos. Foi bem demonstrada em micrografia quando se observa o envolvimento da partícula danosa por

pseudópodes até seu completo englobamento para o meio intracelular (Gordon, 2007). A taxa de fagocitose nos macrófagos é incrementada pela ação do IFN- γ e da IL-12 (Casanova and Abel, 2002).

Em neutrófilos de esquizofrênicos já foi descrita diminuição da fagocitose (Cosentino, Fietta et al., 1996) ou ausência de alterações (Sirota, Gavrieli et al., 2003).

As citocinas são moléculas protéicas que constituem uma classe heterogênea de peptídeos endógenos, liberados principalmente pelas células imunocompetentes para funcionamento integrado do sistema imune (Pollmacher, Haack et al., 2000). As citocinas funcionam como mensageiras entre células imunes (imunomodulação) e do sistema nervoso central (SNC) (neuromodulação).

Diversas citocinas têm sido estudadas na esquizofrenia (IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , IFN- α e, mais recentemente, IL-12 e IL-18) (Tanaka, Shintani et al., 2000; Rothermundt, Arolt et al., 2001; Kim, Suh et al., 2002).

Como acontece com os oxiradicais, ainda existem divergências nos estudos pela variedade das amostras examinadas: pacientes virgens de medicamentos (drug naïve), ou sob tratamento (nesse segundo caso, ora em surto ora em fase estável da doença); doença inicial versus crônicos; comparação com controles saudáveis, portadores de outras doenças mentais ou com parentes de primeiro grau. Também há diferenças quanto aos locais de exame (sangue periférico, LCR, tecido cerebral post mortem), tipos de células examinadas ou animais de laboratório.

O IFN- γ já foi descrito como diminuído (Hornberg, Arolt et al., 1995; Rothermundt, Arolt et al., 1996; Arolt, Weitzsch et al., 1997), aumentado (Kaminska, Wysocka et al., 2001; Cazzullo, Sacchetti et al., 2002) ou sem alterações em relação a controles sadios (Gattaz, Dalgalarondo et al., 1992; Rothermundt, Arolt et al., 2000).

Recentemente, a IL-12 foi estudada na esquizofrenia. Trata-se de citocina rapidamente liberada por monócitos e macrófagos expostos a patógenos (Gately, Renzetti et al., 1998; Trinchieri, 1998) e desempenha papel central no funcionamento das células Th1. Desta forma,

representa uma ponte entre a imunidade inata e adquirida (Hayes, Wang et al., 1995; Kim, Suh et al., 2002). Kim et al (2002) estudaram o nível sérico de IL-12 em pacientes esquizofrênicos porém não encontraram diferenças entre doentes e controles saudáveis.

O objetivo deste estudo foi caracterizar a capacidade funcional de monócitos em pacientes com esquizofrenia através da taxa de fagocitose, produção de O_2^- , NO, IL-12 e IFN- γ .

Metodologia

Estudo e Amostra

Realizamos um estudo com características mistas de caso-controle e transversal, comparando indivíduos com esquizofrenia (n=30), em fase aguda da doença e sem uso de medicamentos há pelo menos 90 dias foram comparados a indivíduos saudáveis (n=30). As amostras foram pareadas por sexo, faixa etária e tabagismo.

Todos foram examinados em serviço de emergência psiquiátrica (Hospital Ulysses Pernambucano, Recife, PE) no período compreendido entre março de 2006 e agosto de 2007.

O diagnóstico de esquizofrenia seguiu os critérios operacionais do Manual Diagnóstico e Estatístico das Doenças Mentais da Associação Americana de Psiquiatria, 4ª edição, Texto Revisado (American Psychiatric Association, 2000).

Para acesso à psicopatologia foi aplicada a escala de sintomas positivos e negativos (PANSS) (Kay, Fiszbein et al., 1987).

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco e todos os indivíduos assinaram termo de consentimento livre e esclarecido conforme Declaração de Helsinki.

Método

Foi coletado sangue venoso por punção no antebraço, entre 8 e 10 horas da manhã, para os exames laboratoriais conforme a seguir discriminado.

Isolamento de monócitos

O sangue venoso com anticoagulante EDTA foi diluído na proporção de 1:2 em meio de cultura RPMI 1640, estéril, à temperatura ambiente de 22°C a 25°C (15 ml de sangue + 15 ml de RPMI 1640). Aos 30 ml da suspensão adicionou-se 15 ml de Histopaque (1077 – SIGMA) e centrifugou-se por 30 minutos a 1200 rpm (2° a 8°C).

O plasma foi então aspirado e coletou-se a camada formada pelas células (PBMC) que foram transferidas para outro tubo de ensaio. Adicionou-se 15 ml de RPMI 1640 e centrifugou-se por 10 minutos nas mesmas condições anteriores. O sobrenadante foi aspirado e desprezado. Posteriormente foram feitas duas novas lavagens com RPMI 1640, centrifugando-se 5 minutos após cada lavagem. Mais uma vez o sobrenadante foi desprezado e o sedimento foi ressuspensionado em 2 ml do meio de cultura RPMI 1640 completo contendo 3% de soro fetal bovino e antibióticos (penicilina 100 U/ml e estreptomicina 100µg/ml). Dessa suspensão realizou-se a contagem em Câmara de Neubauer acrescentando-se uma alíquota da suspensão de células e o corante azul tripan na diluição 1:10. Esse corante foi usado para fazer a contagem das células e avaliar a sua viabilidade. A concentração celular foi ajustada para 2×10^6 células em 2 ml do meio.

Cultura de células

As células foram colocadas em placas do tipo Falcon com 6 poços de 35 milímetros de diâmetro cada, onde foram dispensados os 2 ml da suspensão (2×10^6 células por 2 ml de meio de cultura RPMI 1640 completo) em cada poço. Após esse tempo, executou-se uma lavagem do poço com meio de cultura RPMI 1640 para retirada das células não aderentes. Deixou-se o material por mais 1 hora na incubadora, em atmosfera úmida, à temperatura de 37°C e 5% de CO₂.

Taxa de fagocitose

Em uma suspensão com 1×10^6 de monócitos adicionou-se o fungo *Saccharomyces* sp para avaliar a taxa de fagocitose. No preparo, o

fungo foi lavado 3 vezes com Solução Salina Tamponada (SST) e em seguida realizou-se a contagem na Câmara de Neubauer. A quantidade de fungo em cada tubo foi de 10^7 fungos por 200 μ l de RPMI 1640. Os fungos foram adicionados à suspensão de monócitos. Em seguida, acrescentamos mais 800 μ l de RPMI 1640, obtendo-se um volume final de 1ml para cada tubo. O conteúdo de cada tubo foi homogeneizado e distribuído delicadamente, de maneira uniforme, em lâminas para microscopia óptica. Em seguida, as lâminas foram colocadas em uma câmara úmida em estufa a 37°C por um período de 1 hora. Decorrido esse tempo, as lâminas foram lavadas com SST, para a remoção das células não aderentes e foram, então, coradas e secadas à temperatura ambiente. Para a coloração foi utilizado o Kit Panótico Rápido da Laborclin Ltda. Este Kit baseia-se no método de coloração May-Grünwald-Giemsa e constitui um sistema de coloração diferencial dos elementos figurados do sangue, onde as estruturas celulares coram-se nas mais diversas nuances entre o vermelho e o azul, permitindo as suas identificação e diferenciação. O kit consiste de uma solução fixadora e duas soluções corantes.

Depois de coradas, as lâminas foram levadas para a leitura em microscópio óptico, lidas com objetiva de 100x sob imersão. A taxa de fagocitose foi avaliada a partir de lâminas com monócitos que fagocitaram ou não, isto é, o resultado foi dado em percentual de células que fagocitaram ou não o fungo em uma contagem total de 200 células (Malagueno, Albuquerque et al., 1998).

Superóxido

Esse ânion pode ser detectado a partir da sua capacidade de reduzir quimicamente um composto aceptor de elétrons (Johnston, 1984). Usamos, para este fim, o ferricitocromo C (30 mg/ml em solução salina HBSS, $2,4 \times 10^{-3}$ M, Ferricitocromo C de mitocôndria de eqüino, tipo III, da Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, Estados Unidos). Foi necessária, ainda, a utilização de uma enzima, a superóxido dismutase (enzima superóxido dismutase de eritrócitos bovinos – SOD,

Sigma Chemical Company) contendo 3.000 u/mg de proteína em solução final de 3 mg/ml em água destilada.

Para avaliação da produção do superóxido formado, foram preparados dois sistemas de análise descontínua com uma primeira avaliação logo após o início da estimulação das células com acetato miristato de forbol (PMA, da Sigma Chemical Company) e uma segunda avaliação após 2 horas.

Para o preparo desses sistemas, usamos monócitos em cultura, adicionando-se SOD ao primeiro sistema (controle negativo) e, ao segundo, água destilada (controle positivo). Estes foram mantidos em incubadora com atmosfera úmida a 5% de CO₂ a 37°C por 10 minutos para a ativação da SOD. Ao meio, foi acrescido citocromo e PMA (o PMA foi preparado em solução concentrada de 3000 µg/ml em dimetilsulfóxido de sódio (DMSO, SIGMA) diluído para uma concentração de 2µg/ml em 2,145 ml de solução salina balanceada de Hanks (HBSS GIBCO) e colocado nos poços da placa de cultura.

No segundo sistema contendo água destilada, também foi adicionado citocromo C e PMA. Em seguida as amostras de 600 µl foram retiradas concomitantemente de cada sistema e postas em tubos Eppendorf. A primeira aliquota recolhida, relativa ao tempo zero de cada sistema, correspondeu ao branco. A amostra subsequente foi coletada em intervalo de tempo de 2 horas nas mesmas condições.

Determinação espectrofotométrica: ao término da última coleta as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 5 minutos à temperatura ambiente, em microcentrífuga (25.000g – rotor Ra-1M Kubota).

O sobrenadante foi levado para determinação do grau de redução de ferricitocromo C (proporcional à produção do radical superóxido) usando-se cubeta de 1 ml de quartzo e espectrofotômetro com comprimento de onda ajustado para a faixa do vermelho (550 nm).

Os resultados finais foram expressos na produção do superóxido em nMoles/min que representa a média do grupo para o qual é

confrontado com os valores de um grupo controle (obtidos de maneira semelhante).

Cálculo $[O-] = K \times DO \times \text{Volume da Amostra}$. No presente estudo a constante K, calculada para o volume final em cada poço foi de 205,49.

Óxido Nítrico

Monócitos cultivados e tratados com lipopolissacarídeo de *E. coli* (LPS) (Moshage, Kok et al., 1995). Em cada grupo a concentração foi ajustada para 1×10^6 células em 1 ml de meio de cultura em cada poço da placa. Em seguida, as células foram tratadas na dose de $10 \mu\text{g/ml}$ de LPS por 24 horas. A avaliação da liberação de NO foi realizada utilizando-se o método de GRIESS. Este método, quantifica indiretamente a produção de NO pela determinação de nitritos e nitratos acumulados no sobrenadante das células, após o tratamento. As amostras e o padrão (NaNO_2 1mM - 251-4 Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) foram colocados em placa de vinil nas concentrações determinadas ($1,56 \mu\text{M}$ a $50 \mu\text{M}$) diluídas em RPMI 1640 ($50 \mu\text{l}$ por poço). Em seguida foram adicionados $50 \mu\text{l}$ do reagente de GRIESS (1g de sulfanilamida, Sigma 9251; 0,1g de N-(Naphthyl) Ethylenediamine Dihydrochloride – Sigma 5889; 2,5 ml de ácido fosfórico PA e água destilada qsp 100ml). A placa foi então incubada por 10 minutos ao abrigo da luz. A leitura foi realizada a 540 nm em leitor de ELISA (Dynatech MR 5000). O limiar de sensibilidade do teste foi de $1,56 \mu\text{M}$.

Citocinas Pró-Inflamatórias (IL-12 e IFN- γ)

Método ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), utilizando-se kits específicos de acordo com as instruções do fabricante (Quantikine® Humano, R&D Systems, USA).

Análise Estatística

Foram usadas técnicas de estatística descritiva (médias, medianas e desvios-padrão). Na comparação entre médias foram usados testes de estatística inferencial para grupos independentes (T-Student, para

distribuições normais e U de Mann-Whitney para distribuições assimétricas). Para as variáveis categóricas foi usado o teste do Qui-Quadrado e para análise de correlações foram executados os testes de Correlação (Spearman rho) e de Regressão Linear. O nível crítico de decisão foi de 0.05, erro beta de 0.10 e power de 0.90

Resultados

A Tabela 1 apresenta os dados demográficos de pacientes e controles.

Tabela 1 Dados demográficos de pacientes esquizofrênicos comparados a controles saudáveis

Característica Demográficas	Pacientes (n=30)	Controles (n=30)	Estatística
Idade (média±d.p)	30.5 ± 6.7	30.0±6.2	ns
Sexo (homem/mulher)	15/15	15/15	-
Estado Civil (casado/não)	3/27	17/13	X ² =14.70; p<.001
Escolaridade (</> I grau)	24/6	6/24	X ² =21,60; p<.001
Profissão (sim/não)	25/5	3/27	X ² =32.41; p<.001
Está trabalhando (sim/não)	2/28	27/3	X ² =41.71; p<.001
Fumante (sim/não)	7/23	7/23	-
Qtdade. Cigarros/dia (Mdn±d.p)	20±10.7	10±5.8	U=435.000;p=0.765
Bebida alcoólica (sim/não)	6/22	14/16	X ² =6.14; p=0.046

Especificamente para o grupo de pacientes a duração da doença foi de (média ± d.p), 7.6 anos ± 5.8 d.p e os tipos clínicos observados foram: paranóide (n= 20 – 66.7%), hebefrênica (n=9 – 30%) e catatônica (n=1 – 3.3%).

Os resultados imunológicos encontram-se na Tabela 2. Para o superóxido foram efetuadas dosagens na 1^a e na 2^a hora como confirmação de normalidade na produção (De Castro, De castro et al., 2000).

Tabela 2 Taxa de fagocitose, superóxido, óxido nítrico, interleucina-12 e interferon-gama em pacientes com esquizofrenia (n=30) comparados a controles sadios (n=30)

Exames	Pacientes	Controles	P
Fagocitose (%)	28.3±4.8	28,3±4.6	P=0.978 ^a
O ₂ ⁻ 1 ^a h(nmol/milhão céls./ml)	23.7±10.5	20.7±8.2	P=0.223 ^a
O ₂ ⁻ 2 ^a h (nmol/milhão céls./ml)	35.9±14.7	33.8±10.6	P=0.524 ^a
NO (μMol/ml)	0.43±0.74	0,34±0.28	P=0.631 ^b
	Mdn=0.22	Mdn=0.24	P=0.796 ^c
NO estimulado (μMol/ml)	0.89±1.92	1.53±2.85	P=0.076 ^b
	Mdn=0.37	Mdn=0.54	P=0.301 ^c
IL-12 ^d (pg/ml)	0.07±0.05	0.07±0.05	P=0.932 ^a
	Mdn=0.06	Mdn=0.05	P=0.956 ^b
IFN-γ ^d (pg/ml)	25.1±7.1	26.4±4.6	P=0.774 ^a
	Mdn=26.5	Mdn=27.7	P=0.691 ^b

aTeste T-Student. ^bTeste U-Mann-Whitney. ^cTeste da mediana. ^dPor motivos técnicos, os exames foram executados em 29 pacientes e 26 controles os quais não diferiram em relação aos dados demográficos.

As pontuações na escala PANSS para o grupo de pacientes apresentou os seguintes resultados (média ± d.p.): a) sintomas positivos (28.2±9); b) sintomas negativos (30.9±11,7); c) psicopatologia geral (58.5±12.7); d) PANSS total (118±23.4).

A figura 1, demonstra a correlação entre a pontuação da PANSS sintomas positivos e a concentração de NO estimulado (Spearman rho=0.40, p=0.026; F=4.718; p=0.038). Ajustado por sexo, os homens foram responsáveis pela significância na correlação (Spearman rho=0.530, p=0.042 versus 0.243, p=0.383 das mulheres).

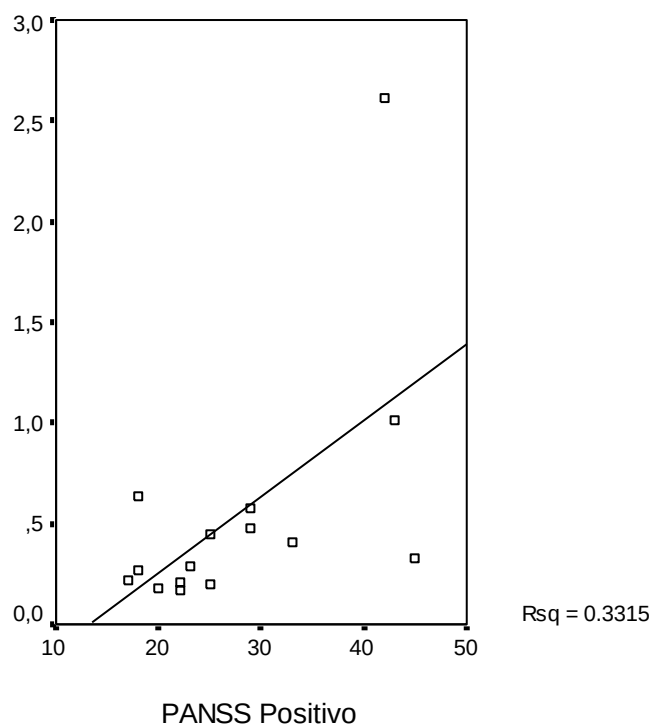


Figura 1 Correlação entre PANSS (sintomas positivos) e Produção de Óxido Nítrico estimulado por LPS

De nosso conhecimento, este é o primeiro estudo em monócitos de pacientes esquizofrênicos envolvendo, ao mesmo tempo, os parâmetros fagocitose, O_2^- , NO, IL-12 e IFN- γ .

Os pacientes encontravam-se em fase aguda da doença (surto psicótico) e foram examinados em serviço de emergência psiquiátrica. Não havia sinais de infecção a partir de parâmetros hematológicos e clínicos e todos eram HIV-negativos.

Apesar de privilegiados para estudos no sentido de se encontrarem em fase aguda, sem medicamentos e sem doenças clínicas que alterassem o sistema imune conforme, o que é sugerido por diversos autores (Rothermundt, Arolt et al., 2001), não observamos alterações nos exames laboratoriais em relação aos parâmetros estudados.

No que tange ao IFN- γ os achados são compatíveis com os de Gattaz et (1992) e Rothermundt et al (Rothermundt, Arolt et al., 2000) porém inversos aos de Cazullo et al (2002).

Quanto a IL-12, o resultado foi compatível com a descrição de Kim et al (2002) embora esses autores tenham determinado níveis plasmáticos.

A condição de fumante, fator que pode alterar a produção de citocinas (Tanaka, Shintani et al., 2000), não influenciou os resultados, embora o pequeno número (n=7 em ambos os grupos) possa ter impedido observação de efeito.

Em relação a O₂-, NO e taxa de fagocitose também não observamos diferenças entre os grupos. Para NO e fagocitose, encontramos resultados semelhantes nos estudos de Melamed et al (1998) e Sirota et al (2003).

As características psicopatológicas aferidas através da PANSS foram compatíveis com as descritas em outros artigos com esquizofrênicos em fase aguda (Kaminska, Wysocka et al., 2001). A observada correlação entre NO estimulado por LPS e a sub-escala para sintomas positivos (delírios, alucinações, agitação psicomotora) fornece indícios de que o NO possa ter relação com a síndrome positiva da esquizofrenia. Este dado diverge de estudos que correlacionam oxiradicaais a sintomas negativos (Sirota, Gavrieli et al., 2003). Ao mesmo tempo, guarda certa correlação de raciocínio com o achado de NO mais baixos em sintomas negativos (Suzuki, Nakaki et al., 2003).

Um ponto relevante a destacar é a dificuldade de concluir sobre stress oxidativo do SNC a partir de células do sangue periférico. Apesar disso, alguns autores (Mahadik and Mukherjee, 1996) apontam para o fato de que alterações oxidativas centrais podem tornar-se sistêmicas e, desta maneira, haveria validade nas avaliações de fluidos periféricos. Ainda assim, exames em células sangüíneas podem não refletir com segurança as alterações que ocorrem no SNC. Especificamente em relação aos monócitos, estas são células encontradas apenas no sangue transformando-se em macrófagos residentes ao migrarem para os tecidos (Smith and Maes, 1995). O monócito maduro tecidual (macrófago) poderia apresentar diferenças funcionais em relação ao monócito circulante.

Fontes de divergência entre nossos achados e os de outros estudos podem dever-se ao estadiamento da doença e ao fato de os pacientes não estarem medicados.

Além disso, estudamos casos prevalentes pela dificuldade de acesso à doença na sua fase inicial, uma vez que o transtorno é insidioso, com evolução crônica e agudizações ao longo do tempo. Esse é um aspecto comum à maioria dos estudos que envolvem doenças mentais. Todavia, o cuidadoso delineamento de pesquisas e criteriosa análise de resultados permitem que não haja imobilidade na produção científica psiquiátrica.

Os doentes que examinamos tinham doença crônica e já haviam sido tratados com antipsicóticos previamente. Suspenderam os medicamentos por falta de adesão à terapêutica de manutenção o que é comum na esquizofrenia (Owen, Fischer et al., 1996). Todavia, apesar do longo tempo sem remédios essa amostra pode diferir daqueles que nunca usaram antipsicóticos e dos que estejam em uso atual ou que suspenderam o remédio há poucas semanas.

É fato que estudos envolvendo imunologia e transtornos psiquiátricos ainda apresentam resultados conflitantes. E mesmo quando são descritas alterações, ainda há um importante grau de especulação nos resultados (Kronfol and Remick, 2000; Zhang, Zhou et al., 2004). Também é fato que são preferíveis para os pesquisadores apresentarem resultados positivos em artigos científicos (Schattner, Cori et al., 1996).

Entretanto, pela importância do tema, todos os achados devem ser divulgados minuciosamente no sentido da evolução do conhecimento sobre a fisiopatologia e a etiopatogenia da esquizofrenia.

Utopicamente, deveriam ser estudadas as funções imunológicas em nível molecular, in vivo, intra-cerebral, durante a fase aguda da doença e sem a interferência de medicamentos ou outras doenças orgânicas. Pesquisas com este delineamento, entretanto, talvez possam ser executadas com outras espécies animais, cujos resultados são difíceis de inferência para o humano.

Concluimos, com o resultado de não confirmação da ativação de monócitos em relação à taxa de fagocitose, explosão respiratória intracelular ou produção de IL-12 e IFN- γ nos pacientes esquizofrênicos examinados. Notamos, porém, correlação entre sintomas positivos aferidos pela PANSS e a produção de NO estimulado por LPS, à custa do sexo masculino.

Referências

- Akbarian, S., A. Viñuela, et al. (1993). "Distorted distribution of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphatase-diaphorase neurons in temporal lobe of schizophrenics implies anomalous cortical development." Arch Gen Psychiatry(50): 178-87.
- American Psychiatric Association (2000). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders - 4th ed - Text Revised. Washington, D.C., American Psychiatric Publishing.
- Arolt, V., C. Weitzsch, et al. (1997). "Production of interferon-gamma in families with multiple occurrence of schizophrenia." Psychiatry Res **66**(2-3): 145-52.
- Casanova, J. L. and L. Abel (2002). "Genetic dissection of immunity to mycobacteria: The human model." Annu Rev Immunol(20): 581-620.
- Cazzullo, C. L., E. Sacchetti, et al. (2002). "Cytokine profiles in schizophrenic patients treated with risperidone: a 3-month follow-up study." Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry **26**(1): 33-9.
- Chanock, S. J., J. El Benna, et al. (1994). "The respiratory burst oxidase." J Biol Chem(269): 24519-24522.
- Cosentino, M., A. Fietta, et al. (1996). "Assessment of lymphocyte subsets and neutrophil leukocyte function in chronic psychiatric patients on long-term drug therapy." Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry **20**(7): 1117-29.
- Das, I., N. S. Khan, et al. (1995). "Elevated platelet calcium mobilization and nitric oxide synthase activity may reflect abnormalities in schizophrenic brain." Biochem Biophys Res Commun **212**(2): 375-80.
- De Castro, C. M. M. B., R. M. De castro, et al. (2000). "Effect of stress on the production of O₂⁻ in alveolar macrophages." J Immunol(108): 68-72.
- Freedman, R. (2003). "Schizophrenia." N Engl J Med(349): 1738-49.
- Gately, M. K., L. M. Renzetti, et al. (1998). "The interleukin 12/interleukin 12 receptor system: role in normal and pathologic immune responses." Annu Rev Immunol(16): 495-521.
- Gattaz, W. F., P. Dalgalarondo, et al. (1992). "Abnormalities in serum concentrations of interleukin-2, interferon-alpha and interferon-

- gamma in schizophrenia not detected." Schizophr Res **6**(3): 237-41.
- Gordon, S. (2007). "The macrophage: past, present and future." Eur J Immunol **37 Suppl 1**: S9-17.
- Hayes, M. P., J. Wang, et al. (1995). "Regulation of interleukin-12 expression in human monocytes: selective priming by interferon-gamma of lipopolysaccharide-inducible p35 and p40 genes." Blood **2**(July 15): 646-650.
- Herken, H., E. Uz, et al. (2001). "Red blood cell nitric oxide levels in patients with schizophrenia." Schizophr Res **52**(3): 289-90.
- Hornberg, M., V. Arolt, et al. (1995). "Production of interferons and lymphokines in leukocyte cultures of patients with schizophrenia." Schizophr Res **15**(3): 237-42.
- Hou, Y., C. F. Wu, et al. (2006). "Effects of clozapine, olanzapine and haloperidol on nitric oxide production by lipopolysaccharide-activated N9 cells." Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry **30**(8): 1523-8.
- Johnston, R. B., Jr. (1984). "Measurement of O₂- secreted by monocytes and macrophages." Methods Enzymol **105**: 365-9.
- Kaminska, T., A. Wysocka, et al. (2001). "Investigation of serum cytokine levels and cytokine production in whole blood cultures of paranoid schizophrenic patients." Arch Immunol Ther Exp (Warsz) **49**(6): 439-45.
- Kay, S. R., A. Fiszbein, et al. (1987). "The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia." Schizophr Bull **13**(2): 261-76.
- Kim, Y. K., I. B. Suh, et al. (2002). "The plasma levels of interleukin-12 in schizophrenia, major depression, and bipolar mania: effects of psychotropic drugs." Mol Psychiatry **7**(10): 1107-14.
- Kronfol, Z. and D. G. Remick (2000). "Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry." Am J Psychiatry **157**(5): 683-94.
- Krukoff, T. L. (1999). "Central actions of nitric oxide in regulation of autonomic functions." Brain Res(30): 52-65.
- Mahadik, S. P. and S. Mukherjee (1996). "Free radical pathology and antioxidant defense in schizophrenia: a review." Schizophr Res **19**(1): 1-17.
- Malagueno, E., C. Albuquerque, et al. (1998). "Effect of Biomphalaria straminea plasma in the phagocytosis of Biomphalaria glabrata hemolymph cells." Mem Inst Oswaldo Cruz **93 Suppl 1**: 301-2.
- Melamed, Y., P. Sirota, et al. (1998). "Superoxide anion production by neutrophils derived from peripheral blood of schizophrenic patients." Psychiatry Res **77**(1): 29-34.
- Moshage, H., B. Kok, et al. (1995). "Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation." Clin Chem **41**(6 Pt 1): 892-6.
- Owen, R. R., E. P. Fischer, et al. (1996). "Medication noncompliance and substance abuse among patients with schizophrenia." Psychiatr Serv **47**(8): 853-8.

- Pollmacher, T., M. Haack, et al. (2000). "Effects of antipsychotic drugs on cytokine networks." J Psychiatr Res **34**(6): 369-82.
- Printz, D. J., D. H. Strauss, et al. (1999). "Elevation of CD5+ B lymphocytes in schizophrenia." Biol Psychiatry **46**(1): 110-8.
- Rothermundt, M., V. Arolt, et al. (2001). "Review of immunological and immunopathological findings in schizophrenia." Brain Behav Immun **15**(4): 319-39.
- Rothermundt, M., V. Arolt, et al. (2000). "Cytokine production in unmedicated and treated schizophrenic patients." Neuroreport **11**(15): 3385-8.
- Rothermundt, M., V. Arolt, et al. (1996). "Production of cytokines in acute schizophrenic psychosis." Biol Psychiatry **40**(12): 1294-7.
- Schattner, A., Y. Cori, et al. (1996). "No evidence for autoimmunity in schizophrenia." J Autoimmun **9**(5): 661-6.
- Sirota, P., R. Gavrieli, et al. (2003). "Overproduction of neutrophil radical oxygen species correlates with negative symptoms in schizophrenic patients: parallel studies on neutrophil chemotaxis, superoxide production and bactericidal activity." Psychiatry Res **121**(2): 123-32.
- Smith, R. S. and M. Maes (1995). "The macrophage-T-lymphocyte theory of schizophrenia: additional evidence." Med Hypotheses **45**(2): 135-41.
- Suzuki, E., T. Nakaki, et al. (2003). "Plasma nitrate levels in deficit versus non-deficit forms of schizophrenia." J Psychiatry Neurosci **28**(4): 288-92.
- Tanaka, K. F., F. Shintani, et al. (2000). "Serum interleukin-18 levels are elevated in schizophrenia." Psychiatry Res **96**(1): 75-80.
- Taneli, F., S. Pirildar, et al. (2004). "Serum nitric oxide metabolite levels and the effect of antipsychotic therapy in schizophrenia." Arch Med Res **35**(5): 401-5.
- Trinchieri, G. (1998). "Immunobiology of interleukin-12." Immunol Res **13**: 251-276.
- Yanik, M., H. Vural, et al. (2003). "Is the arginine-nitric oxide pathway involved in the pathogenesis of schizophrenia?" Neuropsychobiology **47**(2): 61-5.
- Yao, J. K., S. Leonard, et al. (2004). "Increased nitric oxide radicals in postmortem brain from patients with schizophrenia." Schizophr Bull **30**(4): 923-34.
- Zhang, X. Y., D. F. Zhou, et al. (2004). "Changes in serum interleukin-2, -6, and -8 levels before and during treatment with risperidone and haloperidol: relationship to outcome in schizophrenia." J Clin Psychiatry **65**(7): 940-7.
- Zhou, Y., G. Lin, et al. (1995). "Interleukin-4 suppresses the expression of macrophage NADPH oxidase heavy chain subunit (gp91-phox)." Biochim Biophys Acta **1265**: 40-48.

Capítulo 3

2º Artigo Original

PERFIL LEUCOCITÁRIO DE PACIENTES COM ESQUIZOFRENIA

“Ah! No corpo ele é sadio, doutor. Não se queixa de dor; não é de ter gripe ou outras doenças. É mais resistente que os outros de casa. Eu já imaginei até que Deus protege o corpo pra compensar a doença da cabeça”.

José,
nome fictício do pai de um paciente que participou do estudo

Resumo

Alterações leucocitárias em pacientes com esquizofrenia constituem linha de pesquisa desde o início do século XX quando houve o relato de linfocitose em doentes. Posteriormente, outros estudos demonstraram alterações na contagem ou atipias morfológicas em células brancas. Leucocitose, neutrofilia e níveis aumentados de monócitos têm sido reportados. Os resultados são inconclusivos com o relato de ausência de efeito em outros estudos. Examinamos pacientes esquizofrênicos (n=30), em fase aguda da doença, sem uso de medicamentos há pelo menos 90 dias e os comparamos a indivíduos saudáveis (n=30). Foi coletado sangue periférico entre 8h e 10h da manhã e executado leucograma. Para acesso à psicopatologia foi aplicada a escala de sintomas positivos e negativos (PANSS). A prolactina (PRL) foi dosada como variável de controle. Observamos nos pacientes níveis aumentados de leucócitos totais (8.880 versus 6.640; $p<0.001$), neutrófilos (6.175 versus 3.575; $p<0.001$) e monócitos absolutos (657.36 versus 589.31; $p=0.046$). Houve correlação positiva entre a PANSS (sub-escala de sintomas positivos) e valores absolutos (r de Pearson = 0.373; $p=0.043$) e relativos (r de Pearson = 0.389; $p=0.034$) de monócitos. Também observamos correlação positiva entre a intensidade de sintomas na PANSS total e sub-escalas de sintomas positivos e de psicopatologia geral e a dosagem de prolactina. Não foram encontradas alterações clínicas infecciosas que justificassem os achados. Parece haver um subgrupo de paciente nos quais disfunções de células imunocompetentes possam desempenhar um papel ainda há ser bem esclarecido.

Palavras-chave: esquizofrenia, leucócitos, prolactina.

Keywords: schizophrenia, leukocytes, prolactin.

Introdução

Alterações leucocitárias na esquizofrenia foram descritas pela primeira vez em 1904, quando Bruce e Peebles observaram aumento de linfócitos totais em indivíduos com a doença (Printz, Strauss et al. 1999).

Nas décadas de 60 e 80 do século XX, outros estudos se dirigiram para a contagem e morfologia leucocitária com a descrição de atipias em leucócitos de pacientes na condição de medicados ou não (Fieve, Blumenthal et al. 1966; Printz, Strauss et al. 1999). Em estudo posterior, Rudolf et al (2004), relataram que o fenômeno não parecia relacionado ao uso de antipsicóticos de 1ª ou 2ª geração. Na década seguinte foram descritas leucocitose (Zorrilla, Cannon et al. 1996), neutrofilia e monocitose (Wilke, Arolt et al. 1996; Song, Lin et al. 2000), embora outros estudos não demonstrassem associações significantes (Rothermundt, Arolt et al. 1998). Desta forma, a contagem e morfologia leucocitária na esquizofrenia ainda tem resultados conflitantes (Rudolf, Schlenke et al. 2004).

A contagem específica de monócitos, também apresenta divergências. Há relatos de aumento em sangue periférico (Zorrilla, Cannon et al. 1996; Muller, Riedel et al. 1999) e no líquido cefalorraquidiano (LCR) (Nikkila, Muller et al. 1999) ou a observação de valores sangüíneos normais (Hornberg, Arolt et al. 1995).

Evidências recentes (Kowalski, Blada et al. 2001) demonstram ativação de monócitos na doença o que deixa em aberto a questão de que, pelo menos em um subgrupo de pacientes, possam ser encontradas alterações na quantidade de células mononucleares ou na sua atividade fagocitária e de digestão celular.

Pelo encontro de alterações em células do sistema imune, a psiconeuroimunologia investigou a possibilidade de que microorganismos estivessem associados à etiopatogenia da esquizofrenia. Em 1984, Timothy Crow, idealizou uma hipótese

conjunta viral e genética, propondo que um retrovírus poderia integrar-se ao genoma e ser transmitido de maneira mendeliana (Sperner-Unterweger, Whitworth et al. 1999).

Além disso, observações epidemiológicas da década de 20 descreveram maior incidência de psicoses “esquizofrenia-like” em vítimas da pandemia de influenza ocorrida após a I Guerra Mundial. Também foram reportadas evidências de associação entre infecção viral (influenza) durante a gravidez (segundo trimestre) e o nascimento de crianças que posteriormente desenvolveram esquizofrenia (Carpenter and Buchanan 1994; Wright, Takei et al. 1995; Torrey, Miller et al. 1997). Foi proposto contato viral com um sistema imune imaturo levando a persistentes anormalidades imunológicas que poderiam participar da fisiopatologia da esquizofrenia (Kirch 1993).

Outros autores alertaram para o fato de que stress materno, infecção viral e complicações obstétricas constituem risco aumentado para a doença (Tohmi, Tsuda et al. 2004).

Em estudos post mortem evidenciam-se aumento na permeabilidade da barreira hemato-encefálica (BHE) em esquizofrênicos. O fenômeno foi compreendido como facilitador para a penetração de células T no sistema nervoso central (SNC) para resolução de possível processo inflamatório local (Bayer, Buslei et al. 1999). A Interleucina 2 (IL-2) – reconhecida pela sua capacidade de modificar a permeabilidade da BHE – já foi encontrada elevada em subgrupos de pacientes esquizofrênicos (Rothermundt, Arolt et al. 2001).

Schwartz et al (1998) encontraram concentrações elevadas da molécula de adesão intercelular-1 (sICAM-1) em líquido cefalorraquidiano (LCR) de esquizofrênicos. A sICAM-1 está funcionalmente envolvida na passagem de células desde o lúmen vascular até o meio celular, em casos de inflamação.

De maneira geral, a atividade psíquica é reconhecida como capaz de influenciar as funções imunológicas e, por outro lado, mudanças no comportamento também são observadas após a administração de

produtos de células imunológicas como o interferon (IFN) e IL-2 (Hornberg, Arolt et al. 1995; De Castro, De castro et al. 2000). A psiconeuroimunologia tem destacado a relação entre os dois sistemas.

Os estudos correlacionando imunidade e esquizofrenia se avolumam e se aprofundam há um século, desde a contagem e descrição morfológica de células da crase leucocitária até as mais intrincadas estruturas e substâncias moleculares nas células imunocompetentes (Cazzullo, Saresella et al. 1998; Rothermundt, Arolt et al. 2001; Srivastava, Barthwal et al. 2001; Sirota, Gavrieli et al. 2003).

O objetivo do presente estudo é descrever o perfil leucocitário de pacientes esquizofrênicos tanto do ponto de vista quantitativo (valores absolutos e relativos) quanto morfológico (presença ou não de atípias).

Metodologia

Pacientes

Foram examinados pacientes com esquizofrenia (n=30), em fase aguda da doença e sem uso de medicamentos há pelo menos 90 dias. O grupo controle (n=30) foi composto por indivíduos saudáveis. Os dois grupos foram pareados de acordo com sexo, faixa etária e tabagismo.

O diagnóstico de esquizofrenia seguiu os critérios operacionais do Manual Diagnóstico e Estatístico das Doenças Mentais da Associação Americana de Psiquiatria, 4^a edição, Texto Revisado (American Psychiatric Association 2000).

Para acesso à psicopatologia, foi aplicada a escala de sintomas positivos e negativos em esquizofrenia (PANSS) (Kay, Fiszbein et al. 1987).

Como variável de controle, foi dosada a prolactina (PRL) sérica em virtude da reconhecida correlação entre a mesma e o sistema imune (Yu-Lee 2002).

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco e todos

os indivíduos assinaram termo de consentimento livre e esclarecido conforme a Declaração de Helsinki.

Método

Foram coletados 10 ml de sangue periférico através de punção venosa no antebraço, entre 8h e 10h da manhã. O material foi acondicionado em 2 tubos de 5 ml cada, do tipo Vacutainer (com EDTA para o hemograma e com Gel para a PRL).

A contagem dos elementos celulares foi efetuada com o contador de células XT 1800 – Roche. Atipias celulares foram pesquisadas com microscopia óptica com aumento de 100x.

A dosagem de PRL seguiu a técnica de Eletroquimioluminescência com equipamento Modular-E, Roche. Os valores referenciais para homens situam-se entre 4.04 e 15.2 ng/ml e para mulheres entre 4.79 e 23.3 ng/ml.

Análise Estatística

Foram usadas técnicas de estatística descritiva (médias, medianas e desvios-padrão). Na comparação entre médias, testes de estatística inferencial para grupos independentes (T-Student, para distribuições normais e U de Mann-Whitney para distribuições assimétricas). Para as variáveis categóricas foi usado o teste do Qui-Quadrado. Para análise de correlações foram executados testes de Correlação (r de Pearson ou rho de Spearman) e de Regressão Linear. O nível crítico de decisão foi de 0.05, erro beta de 0.10 e power de 0.90

Resultados

Dados demográficos

Na Tabela 1 são apresentados os dados demográficos de pacientes e controles.

Especificamente para o grupo de pacientes a duração média da doença foi de 7.6 anos $\pm$ 5.8 d.p e os tipos clínicos observados foram: paranóide (n= 20 – 66.7%), hebefrênica (n=9 – 30%) e catatônica (n=1 – 3.3%).

Tabela 1 Características demográficas de pacientes esquizofrênicos comparados a controles saudáveis

Característica Demográficas	Pacientes (n=30)	Controles (n=30)	P
Idade em anos (média $\pm$ d.p)	30.5 $\pm$ 6.7	30 $\pm$ 6.2	ns
Sexo (homem/mulher)	15/15	15/15	-
Estado Civil (casado/não)	3/27	17/13	$X^2=14.70$; $p<.001$
Escolaridade (</> I grau)	24/6	6/24	$X^2=21.60$; $p<.001$
Profissão (sim/não)	5/25	27/3	$X^2=32.41$; $p<.001$
Está trabalhando (sim/não)	2/28	27/3	$X^2=41.71$; $p<.001$
Fumante (sim/não)	7/23	7/23	-
Qtdade. Cigarros/dia (Mdn $\pm$ d.p)	20 $\pm$ 10.7	10 $\pm$ 5.8	$U=435.000$; $p=.765$
Bebida alcoólica (sim/não)	6/22	14/16	$X^2=6.14$; $p=.046$

Medidas laboratoriais e psicométricas

Em relação à crase leucocitária, a tabela 2 apresenta os resultados quantitativos e a estatística comparativa entre as amostras.

Tabela 2 Crase leucocitária de pacientes esquizofrênicos comparados a controles saudáveis

Células	Pacientes		Controles		Estatística	
	Absoluto média $\pm$ dp	% média $\pm$ dp	Absoluto média $\pm$ dp	% média $\pm$ dp	Absoluto	%
Leucócitos Totais	8.888 $\pm$ 2.770		6.640 $\pm$ 1.485		$P<0.001^a$	
Neutrófilos	6.175 $\pm$ 2.756	66.5 $\pm$ 13.8	3.575 $\pm$ 1.089	53.63 $\pm$ 8.7	$P<0.001^a$	$P<0.001^a$
Linfócitos Típicos	1.656 $\pm$ 505	20.86 $\pm$ 9.9	2.136 $\pm$ 470	32.67 $\pm$ 6	$P=0.751^a$	$P<0.001^a$
Linfócitos Atípicos	2.52 $\pm$ 13	0.07 $\pm$ 0.4	2.5 $\pm$ 13	0.03 $\pm$ 0.2	$P=0.981^a$	$P=0.981^b$
Monócitos	657 $\pm$ 240	7.63 $\pm$ 2.2	589 $\pm$ 215	8.8 $\pm$ 2.4	$P=0.467^a$	$P=0.055^a$
Eosinófilos	348 $\pm$ 420	4.47 $\pm$ 5.8	331 $\pm$ 403	4.8 $\pm$ 5.1	$P=0.525^b$	$P=0.189^b$
Basófilos	4 $\pm$ 17	0.07 $\pm$ 0.25	4.5 $\pm$ 17	0.07 $\pm$ 0.3	$P=1.000^b$	$P=1.000^b$

^aTeste T-Student; ^bTeste U-Mann-Whitney

Quanto à prolactina (ng/mL), os resultados foram (média $\pm$ desvio padrão, mediana e amplitude): a) grupo pacientes: 21.9 $\pm$ 22.17; Mdn.

13.0, amplitude: 4.5 – 97.9); b) grupo controle: 17.75 ± 15.14 ; Mdn. 11.7; amplitude: 4.6 = 68.0). Teste U-Mann-Whitney = -0.399, $p=0,189$.

Na avaliação da psicopatologia, as pontuações na escala PANSS para o grupo de pacientes apresentou os seguintes resultados (média $\pm$ d.p.): a) sub-escala de sintomas positivos (28.2 ± 9); b) sub-escala de sintomas negativos (30.9 ± 11.7); c) sub-escala de psicopatologia geral (58.5 ± 12.7); d) PANSS total (118 ± 23.4), valores que são compatíveis com fase aguda da doença.

No grupo pacientes houve correlação positiva entre a intensidade de sintomas na PANSS total e sub-escalas de sintomas positivos e de psicopatologia geral e a dosagem de prolactina (Tabela 3).

Também observamos correlação positiva entre a PANSS (sub-escala de sintomas positivos) e valores absolutos de monócitos (r de Pearson = 0.373; $p=0.043$) e valores relativos (r de Pearson = 0.389; $p=0.034$).

Tabela 3 Correlação entre PANSS e prolactina em 30 pacientes esquizofrênicos em fase aguda e sem medicamentos há 90 dias

PANSS	Pontuação (média $\pm$ d.p.)	Estatística	
		Spearman rho	ANOVA
Total	118 ± 23.36	$\rho = .479$; $p = .007$	$F = 7.342$; $p = .0011$
Sintomas Positivos	28.17 ± 9.04	$\rho = .508$; $p = .004$	$F = 7.715$; $p = 0.010$
Psicopatologia Geral	58.53 ± 12.78	$\rho = .409$; $p = .025$	$F = 6.135$; $p = 0.020$
Sintomas Negativos	30.9 ± 11.71	$\rho = .037$; $p = .899$	$F = 0.016$; $p = 0.899$

Discussão

Os pacientes inseridos no estudo encontravam-se em surto psicótico e foram examinados em serviço de emergência psiquiátrica. Não havia sinais clínicos de infecção a partir de exame físico efetuado por médico e história clínica recente. Todos eram HIV-negativos.

Por se encontrarem em fase aguda, sem medicamentos e não acometidos por outras doenças clínicas, apresentavam situação privilegiada para estudo imunológico conforme Rothermundt et al (2001).

Observamos níveis mais altos de leucócitos totais e neutrófilos nos doentes embora não apresentassem sinais de infecção tais como febre

ou outros sintomas e sinais clínicos. Também foi notado discreto aumento de monócitos absolutos embora o valor estatístico tenha recaído no ponto limite de aceitação-rejeição ($p=0.05$). Estes resultados são encontrados em pacientes esquizofrênicos e foram descritos em estudos anteriores (Wilke, Arolt et al. 1996; Zorrilla, Cannon et al. 1996; Zorrilla, Cannon et al. 1998; Song, Lin et al. 2000).

Parecem indicar ativação de defesas embora não seja bem compreendido o motivo pelo qual ocorrem.

O acesso a células do sangue periférico é de grande facilidade e tem sido afirmado que o estudo das mesmas podem representar alterações cerebrais as quais se tornariam sistêmicas (Mahadik and Mukherjee 1996). Entretanto, é necessária cautela na interpretação de resultados periféricos na compreensão de mecanismos centrais (Pollmacher, Haack et al. 2000). Por exemplo, os monócitos são encontrados apenas no sangue e, ao migrarem para os tecidos transformam-se em macrófagos residentes que nunca retornam de volta para a corrente sangüínea (Smith and Maes 1995). Talvez na forma de macrófagos ofereçam maiores informações sobre alterações cito-moleculares na esquizofrenia. Desta maneira, os achados em células do sangue periférico podem não ser um bom indicativo de verdadeiras alterações na doença.

Os aspectos psicopatológicos aferidos através da PANSS foram compatíveis aos descritos em outros artigos com esquizofrênicos em fase aguda (Kaminska, Wysocka et al. 2001). Encontramos correlação positiva entre a gravidade de sintomas positivos e a quantidade de monócitos absolutos o que poderia ser indício de ativação de monócitos nos doentes conforme descrito por alguns autores (Muller, Riedel et al. 1999; Kowalski, Blada et al. 2001). Ao mesmo tempo, outras pesquisas não confirmam o achado de monócitos ativados como observado por nosso grupo (dados não publicados).

Também em relação à PANSS, observamos correlação positiva entre a pontuação da escala total, sub-escala de sintomas positivos e sub-escala de psicopatologia geral e os níveis de PRL. Não conseguimos,

presentemente, explicar esse achado indicando-se, assim, novas investigações.

A média de PRL situou-se na faixa terapêutica, embora com ampla variabilidade dos dados em ambos os grupos, o que já foi referido por Segal et al (2004). Não houve diferenças nos níveis séricos entre pacientes e controles, o que também foi observado em outros estudos (Kuruvilla, Peedicayil et al. 1992). Desde que a PRL interfere no funcionamento imune em diversos níveis e já foi descrita correlação entre o sistema dopaminérgico e o hormônio (Segal, Avital et al. 2007) a PRL foi dosada como variável de controle. A grande amplitude nos resultados observados em ambos os grupos, pode dever-se à ansiedade e/ou atividade motora até o momento da coleta de sangue ou, especificamente no grupo de pacientes, pelo uso prévio de antipsicóticos mesmo que suspensos há bastante tempo.

A quantidade de cigarros/dia não influenciou os resultados quando controlamos a variável embora o número de fumantes seja pequeno (n=7 em cada grupo de 30).

Aspectos a serem lembrados na interpretação dos resultados dizem respeito ao estadiamento da doença (surto) e ao fato de os doentes não estarem medicados. Além disso, acessamos casos prevalentes, com doença crônica, que já haviam sido tratados previamente com antipsicóticos. Não os usavam há 90 dias ou mais por falta de adesão ao tratamento de manutenção o que é comum na esquizofrenia (Owen, Fischer et al. 1996). Todavia, apesar desse longo tempo sem remédios nossa amostra pode diferir daqueles que nunca usaram antipsicóticos, dos abstêmios há pouco tempo ou daqueles que estejam em uso atual.

Idealmente, o estudo de casos incidentes (1º surto) seria preferível. Porém esses são casos de difícil acesso por conta do início insidioso da enfermidade (pelo menos devem se passar 180 dias até serem diagnosticados como esquizofrênicos pelos critérios do DSM IV-TR (American Psychiatric Association 2000).

Kronfol e Remick (Kronfol and Remick 2000) apontam para o fato de que achados significativos na imunologia em relação à esquizofrenia

ainda são inconclusivos e que poderiam ser um epifenômeno não relacionado especificamente à doença mental.

Entretanto, pela necessidade de compreensão dos mecanismos biológicos envolvidos na doença, torna-se importante a divulgação de todos os achados para o conhecimento da fisiopatologia do transtorno.

Como conclusão do estudo, observamos, em esquizofrênicos crônicos, em surto, sem medicamentos, aumentos de leucócitos totais, neutrófilos e monócitos. Encontramos ainda, correlação positiva nos níveis de prolactina e a PANSS total e suas sub-escalas de sintomas positivos e de psicopatologia geral e correlação positiva entre a PANSS sub-escala de sintomas positivos e monócitos absolutos.

Referências

- American Psychiatric Association (2000). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders - 4th ed - Text Revised. Washington, D.C., American Psychiatric Publishing.
- Bayer, T. A., R. Buslei, et al. (1999). "Evidence for activation of microglia in patients with psychiatric illnesses." Neurosci Lett **271**(2): 126-8.
- Carpenter, W. T., Jr. and R. W. Buchanan (1994). "Schizophrenia." N Engl J Med(330): 681-690.
- Cazzullo, C. L., M. Saresella, et al. (1998). "Increased levels of CD8+ and CD4+ 45RA+ lymphocytes in schizophrenic patients." Schizophr Res **31**(1): 49-55.
- De Castro, C. M. M. B., R. M. De castro, et al. (2000). "Effect of stress on the production of O₂⁻ in alveolar macrophages." J Immunol(108): 68-72.
- Fieve, R. R., B. Blumenthal, et al. (1966). "The relationship of atypical lymphocytes, phenothiazines and schizophrenia." Arch Gen Psychiatry(15): 529.
- Hornberg, M., V. Arolt, et al. (1995). "Production of interferons and lymphokines in leukocyte cultures of patients with schizophrenia." Schizophr Res **15**(3): 237-42.
- Kaminska, T., A. Wysocka, et al. (2001). "Investigation of serum cytokine levels and cytokine production in whole blood cultures of paranoid schizophrenic patients." Arch Immunol Ther Exp (Warsz) **49**(6): 439-45.
- Kay, S. R., A. Fiszbein, et al. (1987). "The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia." Schizophr Bull **13**(2): 261-76.

- Kirch, D. G. (1993). "Infection and autoimmunity as etiologic factors in schizophrenia: a review and reappraisal." Schizophr Bull **19**(2): 355-70.
- Kowalski, J., P. Blada, et al. (2001). "Neuroleptics normalize increased release of interleukin- 1 beta and tumor necrosis factor-alpha from monocytes in schizophrenia." Schizophr Res **50**(3): 169-75.
- Kronfol, Z. and D. G. Remick (2000). "Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry." Am J Psychiatry **157**(5): 683-94.
- Kuruvilla, A., J. Peedicayil, et al. (1992). "A study of serum prolactin levels in schizophrenia: comparison of males and females." Clin Exp Pharmacol Physiol **19**(9): 603-6.
- Mahadik, S. P. and S. Mukherjee (1996). "Free radical pathology and antioxidant defense in schizophrenia: a review." Schizophr Res **19**(1): 1-17.
- Muller, N., M. Riedel, et al. (1999). "The role of immune function in schizophrenia: an overview." Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci **249 Suppl 4**: 62-8.
- Nikkila, H. V., K. Muller, et al. (1999). "Accumulation of macrophages in the CSF of schizophrenic patients during acute psychotic episodes." Am J Psychiatry **156**(11): 1725-9.
- Owen, R. R., E. P. Fischer, et al. (1996). "Medication noncompliance and substance abuse among patients with schizophrenia." Psychiatr Serv **47**(8): 853-8.
- Pollmacher, T., M. Haack, et al. (2000). "Effects of antipsychotic drugs on cytokine networks." J Psychiatr Res **34**(6): 369-82.
- Printz, D. J., D. H. Strauss, et al. (1999). "Elevation of CD5+ B lymphocytes in schizophrenia." Biol Psychiatry **46**(1): 110-8.
- Rothermundt, M., V. Arolt, et al. (2001). "Review of immunological and immunopathological findings in schizophrenia." Brain Behav Immun **15**(4): 319-39.
- Rothermundt, M., V. Arolt, et al. (1998). "Immunological dysfunction in schizophrenia: a systematic approach." Neuropsychobiology **37**(4): 186-93.
- Rudolf, S., P. Schlenke, et al. (2004). "Search for atypical lymphocytes in schizophrenia." World J Biol Psychiatry **5**(1): 33-7.
- Schwarz, M. J., M. Ackenheil, et al. (1998). "Blood-cerebrospinal fluid barrier impairment as indicator for an immune process in schizophrenia." Neurosci Lett **253**(3): 201-3.
- Segal, M., A. Avital, et al. (2007). "Prolactin and estradiol serum levels in unmedicated male paranoid schizophrenia patients." Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry **31**(2): 378-82.
- Segal, M., A. Avital, et al. (2004). "Serum prolactin levels in unmedicated first-episode and recurrent schizophrenia patients: a possible marker for the disease's subtypes." Psychiatry Res **127**(3): 227-35.
- Sirota, P., R. Gavrieli, et al. (2003). "Overproduction of neutrophil radical oxygen species correlates with negative symptoms in schizophrenic patients: parallel studies on neutrophil chemotaxis,

- superoxide production and bactericidal activity." Psychiatry Res **121**(2): 123-32.
- Smith, R. S. and M. Maes (1995). "The macrophage-T-lymphocyte theory of schizophrenia: additional evidence." Med Hypotheses **45**(2): 135-41.
- Song, C., A. Lin, et al. (2000). "Immunosuppressive effects of clozapine and haloperidol: enhanced production of the interleukin-1 receptor antagonist." Schizophr Res **42**(2): 157-64.
- Sperner-Unterwieser, B., A. Whitworth, et al. (1999). "T-cell subsets in schizophrenia: a comparison between drug-naive first episode patients and chronic schizophrenic patients." Schizophr Res **38**(1): 61-70.
- Srivastava, N., M. K. Barthwal, et al. (2001). "Nitrite content and antioxidant enzyme levels in the blood of schizophrenia patients." Psychopharmacology (Berl) **158**(2): 140-5.
- Tohmi, M., N. Tsuda, et al. (2004). "Perinatal inflammatory cytokine challenge results in distinct neurobehavioral alterations in rats: implication in psychiatric disorders of developmental origin." Neurosci Res **50**(1): 67-75.
- Torrey, E. F., J. Miller, et al. (1997). "Seasonality of births in schizophrenia and bipolar disorder: a review of the literature." Schizophr Res **28**(1): 1-38.
- Wilke, I., V. Arolt, et al. (1996). "Investigations of cytokine production in whole blood cultures of paranoid and residual schizophrenic patients." Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci **246**(5): 279-84.
- Wright, P., N. Takei, et al. (1995). "Maternal influenza obstetric complications and schizophrenia." Am J Psychiatry **152**: 1714-1720.
- Yu-Lee, L. Y. (2002). "Prolactin modulation of immune and inflammatory responses." Recent Prog Horm Res **57**: 435-55.
- Zorrilla, E. P., T. D. Cannon, et al. (1996). "Leukocytes and organ-nonspecific autoantibodies in schizophrenics and their siblings: markers of vulnerability or disease?" Biol Psychiatry **40**(9): 825-33.
- Zorrilla, E. P., T. D. Cannon, et al. (1998). "Leukocyte differentials predict short-term clinical outcome following antipsychotic treatment in schizophrenia." Biol Psychiatry **43**(12): 887-96.

Capítulo 4

3º Artigo Original

ASPECTOS CLÍNICOS E DEMOGRÁFICOS DE PACIENTES COM ESQUIZOFRENIA A PARTIR DE ESTUDO IMUNOLÓGICO

“Ah! Doutor! Ela era boa. Estudava, ajudava nos trabalhos em casa... tinha até um namoradinho... com 15 anos e meio começou a falar em Deus, em inimigos, falava só, não dormia... hoje é outra pessoa. Não completou o I grau, nunca trabalhou, não namora, é agressiva e indiferente com a gente em casa. Já fiz de tudo. Mas parece que não tem jeito mesmo. Tenho que me acostumar que perdi minha filha naquela época”.

João,
nome fictício do pai de uma paciente que participou do estudo.

Resumo

Pacientes com esquizofrenia são estudados sob diversos aspectos para a compreensão dos mecanismos etiopatogênicos e fisiopatológicos subjacentes ao transtorno. Os conhecimentos ainda são escassos embora com crescente relato de disfunções em neurotransmissores. Complementarmente, pesquisas são empreendidas no campo da genética, neurodesenvolvimento, neuroimagem e imunologia. A partir de estudo imunológico, pacientes esquizofrênicos crônicos (n=30), sem medicamentos há 90 dias, foram comparados a controles sadios (n=30) quanto aos dados demográficos. Além disso, especificamente para o grupo de doentes, características psicopatológicas foram acessadas através da escala de sintomas positivos e negativos (PANSS). Observamos diferenças nos doentes no sentido de baixa escolaridade ($X^2=21.60$; $p<0.000$), ausência de profissão definida ($X^2=32.41$; $p<.001$), não trabalhar nos últimos 6 meses ($X^2=41.71$; $p<.001$) e ausência de relacionamento afetivo estável ($X^2=14.70$; $p<0.001$). A porcentagem de fumantes foi de 23% e 26.7% consumiam bebidas alcoólicas. A partir da escala PANSS os pacientes apresentavam sintomas psicóticos de fase aguda (delírio, alucinação e alterações nas associações) e sintomas negativos (avolição, anedonia e síndrome amotivacional) em proporções semelhantes. Os achados de devastação funcional nos indivíduos acometidos é fonte de estímulo para estudos sobre os mecanismos fisiopatológicos da esquizofrenia no sentido de serem desenvolvidas técnicas terapêuticas mais efetivas.

Palavras-chave: esquizofrenia, demografia, PANSS

Keywords: schizophrenia, demography, PANSS

Introdução

Descrita inicialmente por Emil Kraepelin, no final do século XIX como *daementia praecox* e, pouco depois denominada esquizofrenia por Eugen Bleuler¹, o transtorno esquizofrênico é uma das mais graves doenças mentais, com sintomas psicóticos na fase aguda (delírio, alucinações, alterações das associações, agitação psicomotora) e comprometimento das funções cognitiva, afetiva e volitiva, no curso evolutivo.

As novas classificações de doenças mentais – CID 10² e DSM-IV-TR³ – apresentam critérios operacionais para o diagnóstico que tanto incluem um contexto clínico sindrômico (sobretudo sintomas psicóticos) quanto critérios temporais (curso evolutivo). No DSM-IV-TR exige-se pelo menos 180 dias desde os sintomas prodrômicos, enquanto que a CID-10 define a doença se a sintomatologia ultrapassar 30 dias de evolução.

No curso evolutivo a esquizofrenia pode provocar deterioração afetiva e cognitiva, com grande custo para o paciente, sua família e a sociedade como um todo pelos altos índices de incapacitação e baixa produtividade.^{4, 5}

Trata-se de transtorno com prevalência mundial em torno de 1%, tem evolução crônica e seu tratamento – baseado na ação sintomática dos psicofármacos antipsicóticos – é freqüentemente difícil, com altas porcentagens de resistência no sentido de eficácia parcial e baixa adesão.⁶

A doença está associada a taxas de suicídio 20 vezes mais altas do que a população geral^{7, 8}

A síndrome clínica é dividida em “sintomas positivos” (delírios e alucinações), “sintomas negativos” (avolição, anedonia, síndrome amotivacional) e “disfunção cognitiva”.⁹

Em relação à cognição, conceituada como um conjunto de capacidades que habilitam os seres humanos a desempenharem uma

série de atividades no âmbito pessoal, ocupacional e social, demonstra-se no seu comprometimento um dos elementos-chave no baixo desempenho funcional dos pacientes com esquizofrenia¹⁰. Em estudo de metanálise, Fioravanti et al¹¹ observaram baixo rendimento em QI, memória, linguagem, funções executivas e atenção em 4.365 esquizofrênicos comparados a 3.429 controles.

Sob diversos aspectos, a esquizofrenia é um transtorno heterogêneo: quanto à natureza dos sintomas; em relação aos seus subtipos (paranóide, hebefrênica, catatônica, indiferenciada); quanto ao curso clínico (diversos quadros evoluem para importante deterioração enquanto outros se mantêm menos comprometidos nesse aspecto); em relação à resposta ao tratamento e quanto à etiologia. No atual estágio de conhecimento, diversos autores alertam para o fato de que o transtorno talvez deva ser descrito como uma síndrome e não como uma entidade nosológica única, proposição que implica em extrema cautela quanto aos resultados de estudos com os pacientes acometidos.^{1, 12} Em contrapartida, o mesmo raciocínio deve ser fonte de estímulo para o maior número possível de estudos no sentido de compreender o cerne do transtorno, sobretudo quanto à sua gênese e tratamento.

Na fisiopatologia da esquizofrenia, está estabelecido que ocorrem alterações em sistemas neurotransmissores – particularmente dopamina e serotonina – mas os complexos mecanismos etiopatogênicos e fisiopatológicos da doença ainda são pouco conhecidos.¹³ Para a elucidação do problema, pesquisas têm sido amplamente efetuadas, particularmente aquelas envolvendo a neuroquímica e o papel dos neurotransmissores em situação de homeostase e doença. Estudos sobre genética, neurodesenvolvimento, avaliações de imagem/neuroanatomia e pesquisas imunológicas, são exemplos de campos de pesquisa para a compreensão dos mecanismos causais ou, menos enfaticamente, subjacentes, ao transtorno esquizofrênico.

Especificamente em relação à imunologia, correlações entre o sistema imune e a esquizofrenia constituem objeto de estudo da

Medicina desde há muito.^{4, 13} Evidências apontam para o fato de que a atividade psíquica é capaz de influenciar as funções imunológicas bem como mudanças no comportamento são observadas após administração de moléculas como o interferon e citocinas tais como a interleucina-2.^{14, 15}

Para estudar a imunidade de pacientes esquizofrênicos, foi acessada uma amostra de indivíduos com a doença comparada a um grupo constituído por controles saudáveis. A partir dessa amostra foram coletados alguns dados demográficos cuja demonstração constitui o objetivo deste artigo.

Metodologia

Pacientes

Foram examinados pacientes com esquizofrenia ($n=30$), em fase aguda da doença e sem uso de medicamentos há pelo menos 90 dias, comparados a igual número de controles sem doenças psiquiátricas ou outras patologias orgânicas.

O diagnóstico de esquizofrenia seguiu os critérios operacionais do Manual Diagnóstico e Estatístico das Doenças Mentais da Associação Americana de Psiquiatria, 4ª edição, Texto Revisado.³

Para acesso à psicopatologia, foi aplicada a escala de sintomas positivos e negativos em esquizofrenia (PANSS).¹⁶

Para registro dos dados demográficos foi construído um questionário com elementos de identificação tais como nome, idade, estado civil, escolaridade, profissão, trabalho atual, uso ou não de cigarros, bebidas alcoólicas e tempo de evolução da doença.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco e todos os indivíduos assinaram termo de consentimento livre e esclarecido conforme a Declaração de Helsinki.

Análise Estatística

Foram usadas técnicas de estatística descritiva (médias, medianas e desvios-padrão). Para comparação entre médias foram usados testes de estatística inferencial para grupos independentes. Na dependência de a variável seguir ou não distribuição normal, foram usados testes paramétricos (T-Student) ou não-paramétricos (U de Mann-Whitney). Para as variáveis nominais foi usado o teste do Qui-Quadrado. O nível crítico de decisão para todos os testes foi de 0.05, erro beta de 0.10 e power de 0.90.

Resultados

Dados demográficos

Os pacientes examinados foram pareados por sexo, faixa etária e característica de ser ou não fumante. Desta maneira, as amostras são homogêneas nestes aspectos.

Foram alocados 15 homens e 15 mulheres em cada um dos dois grupos.

A faixa etária foi pareada com intervalos de 10 anos. A idade mediana encontrada foi (mediana $\pm$ d.p. e amplitude): a) pacientes: 30.5 $\pm$ 6.7 – amplitude 21-45; b) controles: 30 $\pm$ 6.2 – amplitude 18-44 (diferenças não significativas – teste T-student).

Em relação aos fumantes, o número foi reduzido (n=7 – 23,3%) no grupo dos pacientes, o que implicou em idêntico número no grupo controle pelo pareamento. A quantidade média de cigarros ao dia foi semelhante nos dois grupos. Entretanto houve maior variabilidade e tendência a maior consumo entre os esquizofrênicos (mediana $\pm$ d.p): a) pacientes: 20 $\pm$ 10.7; b) controles: 10 $\pm$ 5.8. Teste U-Mann-Whitney = 435.000; p=0.765.

A Tabela 1 apresenta a característica de estado civil entre os dois grupos. Para estatística inferencial, foi realizado o Teste do Qui-quadrado agrupando-se a situação de casado ou coabitando versus

separado/divorciado/viúvos. A diferença foi significativa: $X^2=14.70$; $p<0.001$.

Tabela 1 Estado civil de pacientes esquizofrênicos com doença crônica (duração média de 7.6 anos) comparados a controles saudáveis.

Estado Civil	Grupos	
	Pacientes (n - %)	Controles (n - %)
Casado ou coabitando	3 (10)	17 (56,7)
Solteiro	21 (70)	12 (40)
Separado/divorciado	5 (16,7)	1 (3,3)
Viúvo	1 (3,3)	0
Total	30	30

A Tabela 2 demonstra o nível de escolaridade nas amostras. Observa-se menor grau de alcance às séries mais elevadas de ensino entre os pacientes. Agrupando-se aqueles que cursaram até o I grau em comparação a II grau em diante, encontramos diferença significativa: $X^2=21.60$; $p<0.001$.

Tabela 2 Escolaridade de pacientes esquizofrênicos com doença crônica (duração média de 7.6 anos) comparados a controles saudáveis.

Escolaridade	Grupos	
	Pacientes (n - %)	Controles (n - %)
Analfabeto	5 (16,7)	0
I Grau	19 (63,3)	6 (20)
II Grau	5 (16,7)	16 (53,3)
Superior	1 (3,3)	8 (26,7)
Total	30	30

A Tabela 3 apresenta a característica de ter ou não uma profissão definida e estar ou ter estado trabalhando nos últimos seis meses. Ambas as condições são nitidamente diferentes entre os dois grupos.

Tabela 3 Caracterização de profissão ou ter trabalhado nos últimos 6 meses entre amostra de pacientes esquizofrênicos crônicos comparados a controles sadios.

Característica Demográficas	Pacientes	Controles	Estatística
Profissão (sim/não)	5/25	27/3	$X^2=32.41$; $p<.001$
Estar trabalhando (sim/não)	2/28	27/3	$X^2=41.71$; $p<.001$

A Tabela 4 apresenta o resultado de consumo de bebidas alcoólicas.

Tabela 4 Consumo de bebidas alcoólicas entre pacientes esquizofrênicos crônicos e controles saudáveis.

Consumo de Bebidas Alcoólicas	Grupos	
	Pacientes (n - %)	Controles (n - %)
Sim	8 (26,7)	14 (46,7)
Não	22 (73,3)	16 (53,3)
Total	30	30

$\chi^2=6.14$; $p=0.046$.

Medidas psicométricas

Especificamente para os doentes os tipos clínicos observados foram: paranóide ($n= 20 - 66.7\%$), hebefrênica ($n=9 - 30\%$) e catatônica ($n=1 - 3.3\%$).

A Tabela 5 apresenta pontuações na escala PANSS, compatíveis com fase aguda da doença.

Tabela 5 Pontuações na escala PANSS de pacientes esquizofrênicos, em surto, sem medicamentos há 90 dias.

PANSS	Pontuação (média $\pm$ d.p)
PANSS Total	118 $\pm$ 23.36
Sub-escala de Sintomas Positivos	28.17 $\pm$ 9.04
Sub-escala de Sintomas Negativos	30.9 $\pm$ 11.71
Sub-escala de Psicopatologia Geral	58.53 $\pm$ 12.78

Discussão

Todos os pacientes inseridos no estudo encontravam-se em fase aguda da doença (surto psicótico) e foram examinados em serviço de emergência psiquiátrica. A maioria foi internada após exame em virtude da gravidade dos sintomas embora outros fossem orientados a iniciar tratamento extra-hospitalar. Pela média de duração da doença, eram

doentes crônicos (em torno de 7 anos desde o início do transtorno) com agudização no momento do exame.

Uma vez que as amostras foram pareadas por faixa etária, sexo e característica de ser ou não fumante, houve homogeneidade nas amostras quanto a essas variáveis.

Quanto ao tempo de duração da doença, a esquizofrenia é compreendida como um transtorno crônico e com grave deterioração funcional em várias esferas da vida.²¹ Hegarty et al²² realizaram meta-análise nos quais acessaram o curso da doença em 51.800 pacientes num período longo de tempo (1892 a 1995). Apenas 40,2% apresentaram melhora para um período médio de seguimento de 5.6 anos. Dependendo do critério diagnóstico ser mais ou menos abrangente, as taxas de melhora se situaram em 46,5% ou chegam a apenas 27,3%.²³

Os dados que encontramos são concordantes com essa observação e demonstram as graves conseqüências psicossociais da doença tais como diferenças em estado civil, escolaridade, ter ou não profissão e estar ou não trabalhando, todos com comprometimento no grupo de doentes. Estas situações tendem a ser mantidas ao longo da vida, independente da fase aguda.^{5, 10}

Na questão específica da escolaridade e profissão é de extrema necessidade a participação da função cognitiva a qual se mostra deteriorada na esquizofrenia com o achado de comprometimento da atenção, memória de trabalho, aprendizagem verbal e solução de problemas.²⁴ Esse aspecto dificulta o comportamento social, a performance no trabalho e atividades da vida diária.²⁵

Por outro lado, alguns estudos apontam para o fato de que nem todos os déficits cognitivos estão relacionados a déficits funcionais.^{26, 27} Desta forma, as neurociências têm procurado testar diversas técnicas que possam diminuir a devastação funcional decorrente da esquizofrenia. Na atualidade, o que parece ser consensual é que a farmacoterapia (antipsicóticos, sobretudo), identificação e tratamento de comorbidades (p. ex.: depressão ou dependência de substâncias

psicoativas), ações psicoeducacionais para combate ao estigma em relação à doença mental e o estímulo às técnicas de reabilitação e integração social de doentes são fatores promissores.²⁸

As neurociências se mostram atentas à questão e buscam elucidar a etiopatogenia e fisiopatologia da doença visando o desenvolvimento de técnicas terapêuticas mais efetivas no sentido de atender efetivamente à demanda de indivíduos acometidos por doença altamente devastante.

Em relação a tabagismo, estudos internacionais destacam as altas taxas de consumo de cigarros entre doentes mentais (cerca de 45% de todos os cigarros vendidos nos Estados Unidos¹⁸). George et al¹⁹ apresentaram um resumo de estudos de diversas países, em relação às porcentagens de esquizofrênicos que fumam. Essas taxas variam de 32% a 92% dos doentes. Os sete pacientes encontrados em nossa amostra representam taxa um pouco menor (23,3%), o que pode se dever ao pequeno tamanho da amostra.

Também as taxas de consumo de álcool entre esquizofrênicos é objeto de inúmeros estudos. Existe uma grande variabilidade entre as taxas descritas (10% a 70%) na dependência da flexibilidade nos critérios empregados para o diagnóstico de esquizofrenia e de transtornos associados a álcool e outras drogas. Também variam de acordo com os tipos de indivíduos examinados e situação de internos ou em tratamento ambulatorial.²⁰ A nossa amostra foi composta por 26,7% de indivíduos que se identificaram apenas como bebedores sociais (confirmados por familiares/acompanhantes) muito embora, em dois deles não tivéssemos como confirmar por outra fonte uma vez que eram moradores de rua.

A escala PANSS, como instrumento de acesso à psicopatologia de pacientes com esquizofrenia, não possui ponto de corte nas suas pontuações. Trata-se de instrumento de aferição amplamente utilizado em pesquisas envolvendo esquizofrênicos. Em nossa amostra as características psicopatológicas aferidas através da escala foram compatíveis com as descritas em outros estudos com esquizofrênicos em fase aguda¹⁷. Não observamos predominância de sub-grupos com

sintomas positivos ou negativos, ou seja, tratava-se de doentes em fase aguda com sintomas psicóticos e comprometimento afetivo em intensidades semelhantes.

Concluimos por encontrar, numa população de 30 pacientes esquizofrênicos (15 homens e 15 mulheres), com idade mediana de 30 anos, um alto percentual de indivíduos com baixa escolaridade, sem profissão definida, sem trabalho nos últimos 6 meses e sem relacionamento afetivo estável. A porcentagem de fumantes foi de 23% e 26,7% dos doentes consumiam bebidas alcoólicas.

Referências

1. Carpenter WT, Jr. The schizophrenia paradigm. A hundred-Year Challenge. *J Nerv Ment Dis.* 2006;194(9):639-43.
2. World Health Organisation. The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders: clinical descriptions and diagnostic guidelines. Geneve: WHO; 1992.
3. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders - 4th ed - Text Revised. Washington, D.C.: American Psychiatric Publishing; 2000.
4. Strous RD, Shoenfeld Y. Schizophrenia, autoimmunity and immune system dysregulation: a comprehensive model updated and revisited. *J Autoimmun.* 2006 Sep;27(2):71-80.
5. Niendam TA, Bearden CE, Johnson JK, MacKinley M, Loewy R, O'Brien M. Neurocognitive performance and functional disability in the psychosis prodrome. *Schizophr Res.* 2006(84):100-11.
6. Owen RR, Fischer EP, Booth BM, Cuffel BJ. Medication noncompliance and substance abuse among patients with schizophrenia. *Psychiatr Serv.* 1996 Aug;47(8):853-8.
7. Newman SC, Bland RC. Mortality in a cohort of patients with schizophrenia: a record linkage study. *Can J Psychiatry.* 1991(36):239-45.
8. Mortensen PB, Juel K. Mortality and causes of death in first admitted schizophrenic patients. *Br J Psychiatry.* 1993(163):183-9.
9. Freedman R. Schizophrenia. *N Engl J Med.* 2003(349):1738-49.
10. Sharma T, Antonova L. Cognitive function in schizophrenia deficits: functional consequences and future treatment. *Psychiatric Clinics of North America.* 2003(26):25-40.

11. Fioravanti M, Carlone O, Vitale B, Cinti ME, Clare L. A meta-analysis of cognitive deficits in adults with a diagnosis of schizophrenia. *Neuropsychology Review*. 2005;15(2):73-95.
12. Muller N, Riedel M, Ackenheil M, Schwarz MJ. The role of immune function in schizophrenia: an overview. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 1999;249 Suppl 4:62-8.
13. Rothermundt M, Arolt V, Bayer TA. Review of immunological and immunopathological findings in schizophrenia. *Brain Behav Immun*. 2001 Dec;15(4):319-39.
14. Hornberg M, Arolt V, Wilke I, Kruse A, Kirchner H. Production of interferons and lymphokines in leukocyte cultures of patients with schizophrenia. *Schizophr Res*. 1995 May;15(3):237-42.
15. De Castro CMMB, De castro RM, De Medeiros AF, Santos AQ, Ferreira e Silva WT, Lima Filho JL. Effect of stress on the production of O2- in alveolar macrophages. *J Immunol*. 2000(108):68-72.
16. Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull*. 1987;13(2):261-76.
17. Kaminska T, Wysocka A, Marmurowska-Michalowska H, Dubas-Slomp H, Kandefer-Szerszen M. Investigation of serum cytokine levels and cytokine production in whole blood cultures of paranoid schizophrenic patients. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2001;49(6):439-45.
18. Lasser K, Boyd JW, Woolhandler S. Smoking and mental illness: a population-based prevalence study. *JAMA*. 2000(284):2606-10.
19. George MD, Vessicchio JC, Termine A. Nicotine and tobacco use in schizophrenia. In: Meyer JM, Nasrallah HA, editors. *Medical Illness and schizophrenia*. 1st ed. Washington, DC: APPI; 2003. p. 81-98.
20. Mueser KT, P.R. Y, Levinson DF. Prevalence of substance abuse in schizophrenia: demographic and clinical correlates. *Schizophr Bull*. 1990(16):31-56.
21. Rabinowitz J, Levine S, Haim R, Häfner H. The course of schizophrenia: progressive deterioration, amelioration or both? *Schizophr Res*. 2007;91(1-3):254-8.
22. Hegarty JD, Baldessarini RJ, Tohen M, Waternaux C, Oepen G. One-hundred years of schizophrenia: a meta-analysis of the outcome literature. *Am J Psychiatry*. 1994;151(10):1409-16.
23. Mari JJ, Leitão RJ. A epidemiologia da esquizofrenia. *Rev Bras Psiquiatr*. 2000;22(Supl I):15-7.
24. Matza LS, Buchanan R, Purdon S, Brewster-Jordan J. Measuring changes in functional status among patients with schizophrenia: the link with cognitive impairment. *Schizophr Bull*. 2006;32(4):668-78.

25. Peuskens J, Demily C, Thibaut F. Treatment of cognitive dysfunctions in schizophrenia. *Clinical Therapeutics*. 2005;27(Suppl A):S25-S37.
26. Green MF. What are the functional consequences of neurocognitive deficits in schizophrenia? *Am J Psychiatry*. 1996(153):321-30.
27. Addington J, Addington D. Neurocognitive and social functioning in schizophrenia. *Schizophr Bull*. 1999;25(1):173-82.
28. Sá Júnior AR, Souza MC. Avaliação do comprometimento funcional na esquizofrenia. *Rev Psiquiatr Clin*. 2007;34(sup. 2):164-8.

Capítulo 5: Conclusões

“Não é bom que toda a verdade revele tranquilamente a sua essência; e muitas vezes o silêncio é para o homem a melhor decisão”.

Píndaro de Beozia, poeta grego, 518 a.C, Tebas – 438 a.C., Argos

A partir do estudo comparativo entre 30 pacientes esquizofrênicos, com doença crônica, em surto no momento do exame e sem uso de medicamentos há pelo menos 90 dias, e 30 indivíduos saudáveis, concluímos que:

1. Os doentes não apresentam alterações nos monócitos em relação à taxa de fagocitose, produção de superóxido e óxido nítrico, interleucina-12 ou interferon-gama (dados no artigo 2).
2. Os doentes apresentam níveis mais altos de leucócitos totais, neutrófilos e monócitos absolutos (dados no artigo 3).
3. Existe uma correlação positiva entre a escala de sintomas positivos e negativos (PANSS) – dados no artigo 2 - no grupo dos doentes no que concerne a:
 - a. Produção de óxido nítrico estimulado por lipopolissacarídeo e sub-escala de sintomas positivos.
 - b. Valores absolutos e relativos de monócitos e sub-escala de sintomas positivos.
 - c. Dosagem sérica de prolactina e pontuações na PANSS total e suas sub-escalas de sintomas positivos e de psicopatologia geral.
4. Os doentes apresentam prejuízos no funcionamento e integração psicossocial com (dados no artigo 4):
 - a. Baixa escolaridade.
 - b. Ausência de profissão definida.
 - c. Desemprego.
 - d. Ausência de envolvimento afetivo.

Anexos

Anexo A
Autorização do Comitê de Ética



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. Nº **057/2005-CEP/CCS**

Recife, 06 de abril de 2005.

Ret. Protocolo de Pesquisa n.o *105/2005-CEP/CCS*

Título: "Função microbicida de monócitos de pacientes com esquizofrenia."

Senhor (a) Pesquisador (a):

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco CEP/CCS/UFPE registrou e analisou, de acordo com a Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe aprovando-o e liberando-o para início da coleta de dados em 06 de abril de 2005.

Ressaltamos que ao pesquisador responsável deverá apresentar relatório final, em 30/10/2005.

Ao

Prot. Antonio Medeiros Peregrino da Silva

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

Av. Prof. Momes Rego, s/o Cid. Universitária, 5<X>70-90], F

fpe.br

Atenciosamente,

Prof. Maria Clara Albuquerque
Coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa CCS/UFPE

ANEXO B

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Nome do Estudo: Função Microbicida de Monócitos em Pacientes com Esquizofrenia

Pesquisador: Prof. Antonio Peregrino

Orientador: Profa. Célia Castro

Co-Orientador: Prof. Othon Bastos

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde
da Universidade Federal de Pernambuco

1. O senhor (ou senhora) está sendo convidado para participar de uma pesquisa clínica. É uma pesquisa para estudar alguns aspectos da imunidade do organismo de pessoas adultas que estejam acometidas por esquizofrenia (doença na qual existem sintomas como ouvir vozes, ter idéias negativas de perseguição, sentir-se agitado e com insônia). Nessas situações, pode haver alterações na imunidade (nas defesas) do organismo e é isto que pretendemos estudar.
2. Caso você concorde em participar, será feita a coleta de 36 ml de sangue em uma veia periférica do seu braço (como normalmente acontece nos chamados “exames de sangue”) e o material será analisado em laboratórios da Universidade Federal de Pernambuco e da Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco. Serão anotados os resultados de algumas funções imunológicas. Também serão feitas perguntas sobre você e sua saúde como por exemplo: seu nome, sua profissão, se você fuma ou não, se já teve doenças infecciosas etc.
3. Além das dosagens imunológicas, serão feitos mais dois exames:
 - a. Dosagem de Prolactina – a prolactina é um hormônio que todos nós temos. Se estiver alta pode alterar a imunidade;

- b. Teste Anti-HIV (teste de AIDS) – não poderão ser incluídos pacientes que tenham resultado positivo.
4. Tanto os resultados dos exames quanto as anotações dos questionários terão fins científicos e serão analisados com o máximo rigor acadêmico (ou seja, será destinado apenas ao estudo científico; os relatórios e publicações decorrentes do mesmo conterão os resultados de forma sumarizada e, portanto, sua identidade será mantida em sigilo; não haverá forma de você ser identificado(a)).
 5. Esta não é uma pesquisa sobre o efeito de medicamentos novos ou antigos a serem tomados por você. Dessa forma, as medicações que você usará para o tratamento do seu estado de saúde atual serão prescritas normalmente pelo seu médico assistente.
 6. Não haverá qualquer despesa para você ou para os seus familiares pela sua participação na pesquisa. Também não haverá pagamento. Em outras palavras a sua colaboração é uma contribuição voluntária para um melhor entendimento científico sobre a doença esquizofrenia.
 7. O risco que você corre ao participar deste estudo está relacionado ao local da punção, como por exemplo, dolorimento/formigamento ou mancha arroxada que são minimizados com cuidados higiênicos e pressão local após a coleta do sangue. Se for necessário pode-se usar anestésico tópico (no local da “furada”). Muito raramente são observadas infecções decorrentes da punção, mas, se houver, você será adequadamente tratado sem qualquer despesa.
 8. O projeto desse estudo foi avaliado por um Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) que segue padrões internacionais de aprovação de estudos que envolvem seres humanos.
 9. Você deve saber, ainda, que a sua participação é absolutamente voluntária. Você está livre para aceitar ou não a sua inclusão sem que isso altere em nada o seu tratamento e vínculo com o seu

médico e com a instituição (ambulatório ou hospital) que você procurou para tratar-se.

10. Após ter lido este documento e tirado todas as dúvidas com o pesquisador, caso você aceite participar do estudo, deve assinar abaixo (se você não souber escrever deve colocar a sua impressão digital).

Recife, ____ de _____ de ____.

a. Nome do Paciente: _____

b. Assinatura do Paciente: _____

ou Impressão Digital do paciente, em caso de
analfabetismo:



a. Nome do Pesquisador: _____

b. Assinatura do Pesquisador: _____

Em caso de impossibilidade de assinatura do paciente, abaixo se encontram nome e assinatura de responsável legal e motivo da não assinatura pelo próprio paciente.

a. Nome do Responsável: _____

b. Grau de parentesco: _____

c. Assinatura: _____ ou
impressão digital em caso de analfabetismo:



d. Motivo da não assinatura por parte do paciente:

Anexo C

Critérios operacionais do Manual Diagnóstico e Estatístico das Doenças Mentais da Associação Americana de Psiquiatria, 4ª edição, Texto Revisado (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2000; , 2003)

- a. Sintomas característicos: no mínimo dois dos seguintes quesitos, cada qual presente por uma porção significativa de tempo durante o período de pelo menos 1 mês (ou menos, se tratados com sucesso):
 - a. Delírios;
 - b. Alucinações;
 - c. Discurso desorganizado (por exemplo, freqüente descarrilamento ou incoerência);
 - d. Comportamento amplamente desorganizado ou catatônico;
 - e. Sintomas negativos, isto é, embotamento afetivo, alogia ou abulia.
 - f. Nota: apenas um sintoma do critério A é necessário quando os delírios são bizarros ou as alucinações consistem em vozes que comentam o comportamento ou os pensamentos da pessoa, ou duas ou mais vozes conversando entre si.
- b. Disfunção social/ocupacional: por uma porção significativa de tempo desde o início da perturbação, uma ou mais áreas de *funcionamento*, tais como trabalho, relações interpessoais ou cuidados pessoais estão acentuadamente abaixo do nível alcançado antes do início (ou quando o início se dá na infância ou adolescência, incapacidade de atingir o nível esperado de realização interpessoal, acadêmica ou profissional);
- c. Duração: sinais contínuos da perturbação persistem pelo período mínimo de 6 meses. Esse período de 6 meses deve incluir pelo menos 1 mês de sintomas (ou menos, se tratado com sucesso) que satisfazem o critério em “a” (isto é, sintomas de fase aguda) e

pode incluir períodos de sintomas prodrômicos ou residuais. Durante esses períodos prodrômicos ou residuais, os sinais da perturbação podem ser manifestados apenas por sintomas negativos ou por dois ou mais sintomas relacionados no critério “a” presente de uma forma atenuada (por exemplo: crenças estranhas, experiências perceptuais incomuns);

- d. Exclusão de Transtorno Esquizoafetivo e Transtorno do Humor: Transtorno Esquizoafetivo e Transtorno do Humor com Características Psicóticas foram descartados, porque (1) nenhum Episódio Depressivo Maior, Maníaco ou Misto ocorreu concomitantemente aos sintomas da fase ativa; ou (2) se os episódios de humor ocorreram durante os sintomas da fase ativa, sua duração total foi breve com relação à duração dos períodos ativo e residual.
- e. Exclusão de substância/condição médica geral: a perturbação não se deve aos efeitos fisiológicos diretos de uma substância (por exemplo, uma droga de abuso, um medicamento) ou a uma condição médica geral;
- f. Relação com um Transtorno Global de Desenvolvimento: se existe um histórico de Transtorno Autista ou outro Transtorno Global de Desenvolvimento, o diagnóstico adicional de esquizofrenia é feito apenas se delírios ou alucinações proeminentes também estão presentes pelo período mínimo de 1 mês (ou menos, se tratado com sucesso).
 - a. Subtipos de esquizofrenia:
 - i. Paranóide: um tipo de esquizofrenia no qual são satisfeitos os seguintes critérios:
 - a. Preocupação com um ou mais delírios ou alucinações auditivas freqüentes;
 - b. Nenhum dos seguintes sintomas é proeminente: discurso desorganizado, comportamento desorganizado ou catatônico ou afeto embotado ou inadequado.

- ii. Tipo desorganizado: um tipo de esquizofrenia no qual são satisfeitos os seguintes critérios:
 - a. Todos dos seguintes sintomas são proeminentes:
 - a. Discurso desorganizado;
 - b. Comportamento desorganizado;
 - c. Afeto embotado ou inadequado.
 - b. Não são satisfeitos os critérios para o tipo catatônico.
- iii. Tipo catatônico: um tipo de esquizofrenia em cujo quadro clínico ocorre predomínio de, no mínimo, dois dos seguintes sintomas:
 - a. Imobilidade motora evidenciada por cataplexia (incluindo flexibilidade cêrea ou estupor);
 - b. Atividade motora excessiva (aparentemente desprovida de propósito e não influenciada por estímulos externos);
 - c. Extremo negativismo (uma resistência aparentemente sem motivo a toda e qualquer instrução, ou manutenção de uma postura rígida contra tentativas de mobilização) ou mutismo;
 - d. Peculiaridades dos movimentos voluntários evidenciadas por posturas (adoção voluntária de posturas inadequadas ou bizarras, movimentos estereotipados, maneirismos ou trejeitos faciais proeminentes);
 - e. Ecolalia ou ecopraxia.
- iv. Tipo indiferenciado: um tipo de esquizofrenia no qual os sintomas que satisfazem os critérios em “a” estão presentes, mas não são satisfeitos os critérios para os tipos paranóide, desorganizado ou catatônico.

- v. Tipo residual: um tipo de esquizofrenia no qual são satisfeitos os seguintes critérios:
 - a. Ausência de delírios e alucinações, discurso desorganizado e comportamento amplamente desorganizado ou catatônico proeminentes;
 - b. Existem evidências contínuas da perturbação, indicadas pela presença de sintomas negativos ou por dois ou mais sintomas relacionados no critério “a” para Esquizofrenia, presentes de forma atenuada (por exemplo: crenças estranhas, experiências perceptuais incomuns).

Anexo D

Escala das Síndromes Positiva e Negativa – PANSS(CHAVES; SHIRAKAWA, 2000)

Positive and Negative Syndrome Scale – PANSS (Kay et al., 1987) – versão traduzida por A.L.N. Vessoni (1993)

Escala Positiva

P1 – Delírios.....	1	2	3	4	5	6	7
P2 – Desorganização conceitual	1	2	3	4	5	6	7
P3 – Comportamento alucinatório ...	1	2	3	4	5	6	7
P4 – Excitação.....	1	2	3	4	5	6	7
P5 – grandeza.....	1	2	3	4	5	6	7
P6 – Desconfiança.....	1	2	3	4	5	6	7
P7 – hostilidade.....	1	2	3	4	5	6	7

Escore da Escala Positiva: _____

Número de sintomas avaliados >3 _____

Escala Negativa

N1 – Afetividade embotada	1	2	3	4	5	6	7
N2 – Retraimento emocional.....	1	2	3	4	5	6	7
N3 – Contato pobre	1	2	3	4	5	6	7
N4 – Retraimento social passivo/apático ..	1	2	3	4	5	6	7
N5 – Dificuldade pensamento abstrato. 1	2	3	4	5	6	7	
N6 – Falta de espontaneidade e fluência 1	2	3	4	5	6	7	
N7 – Pensamento estereotipado.....	1	2	3	4	5	6	7

Escore da Escala Negativa: _____

Número de sintomas avaliado >3 _____

Escala de Psicopatologia Geral

G1 – Preocupação somática.....	1	2	3	4	5	6	7
G2 – Ansiedade	1	2	3	4	5	6	7
G3 – Culpa.....	1	2	3	4	5	6	7
G4 – Tensão	1	2	3	4	5	6	7
G5 – Maneirismo/postura	1	2	3	4	5	6	7
G6 – Depressão	1	2	3	4	5	6	7
G7 – Retardo motor.....	1	2	3	4	5	6	7
G8 – Falta de cooperação	1	2	3	4	5	6	7
G9 – Conteúdo incomum do pensamento... 1	2	3	4	5	6	7	
G10 – Desorientação	1	2	3	4	5	6	7
G11 – Déficit de atenção	1	2	3	4	5	6	7
G12 – Juízo e crítica	1	2	3	4	5	6	7
G13 – Distúrbio de volição	1	2	3	4	5	6	7
G14 – Mau controle de impulso.....	1	2	3	4	5	6	7
G15 – Preocupação	1	2	3	4	5	6	7
G16 – Esquiva social ativa	1	2	3	4	5	6	7

Escala de Psicopatologia Geral: _____

Tipo sintomatológico:

Positivo (3 ou mais sintomas com o escore > ou = 4 na escala positiva e menos de 3 sintomas com escore > ou = a 4 na escala negativa);

Negativo (3 ou mais sintomas com o escore > ou = 4 na escala negativa e menos de 3 sintomas com escore > ou = a 4 na escala positiva);

Misto (3 ou mais sintomas com escore > ou = em ambas as escalas);

Nenhum tipo (quando não se aplicam os critérios anteriores).

ANEXO E

Critérios de inclusão/exclusão

1. Critérios de inclusão:

a. Para o grupo de pacientes:

- 1) Idade entre 15 e 45 anos.
- 2) Diagnóstico de esquizofrenia, sem comorbidades com outros transtornos psiquiátricos.
- 3) Não estar em uso de psicofármacos ou outros medicamentos que possam provocar alterações no sistema imunológico há pelo menos 90 dias.
- 4) Não ser acometido por AIDS

b. Para o grupo controle:

- 1) Não ser acometido por transtornos mentais.
- 2) Idade entre 15 e 45 anos.
- 3) Não estar em uso de medicamentos que possam provocar alterações no sistema imunológico há pelo menos 90 dias.
- 4) Não ser acometido por AIDS

Anexo F

Esquizofrenia e função imunológica microbicida
Documento-fonte de dados demográficos, clínicos e laboratoriais

Número: _____

Data do Exame: ____/____/____.

Local de exame: ☐ HUP ☐ HUOC ☐ Outro local: _____

Registro: _____

1) Dados Demográficos

a) Nome: _____

b) Iniciais: _____

c) Sexo: ☐ Masculino ☐ Feminino

d) Data de Nascimento: ____/____/____

e) Idade (em anos): _____

f) Procedência (local de moradia): _____

g) Endereço: _____

h) Estado Civil:

- ☐ Casado ou coabitando
- ☐ Solteiro
- ☐ Separado/divorciado
 - ☐ Coabitando novamente
 - ☐ Morando só
 - ☐ Morando com familiares
- ☐ Viúvo
- ☐ Outro ou não informado

i) Escolaridade:

- ☐ Analfabeto
- ☐ 1º grau (ensino fundamental)
 - ☐ completo ☐ incompleto
- ☐ 2º grau (ensino médio)
 - ☐ completo ☐ incompleto
- ☐ Superior (universitário)

☐ completo ☐ incompleto

j) Profissão: _____

2) Dados Clínicos

a) Diagnóstico de Esquizofrenia:

☐ Sim ☐ Não

b) Em caso afirmativo, subtipo da doença

☐ Paranóide

☐ Desorganizada (hebefrênica)

☐ Catatônica

☐ Outro: _____

c) Tempo de duração do transtorno: _____

d) Você é fumante? ☐ Não ☐ Sim (quantos cigarros/dia? ____)

e) Você faz uso de bebidas alcoólicas? ☐ Não ☐ Sim
(como?_____)

f) Escala de Sintomas Positivos e Negativos

☐ Pontuação da subescala positiva: _____

☐ Pontuação da subescala negativa: _____

☐ Pontuação de psicopatologia geral: _____

☐ Pontuação geral: _____

g) Informações a respeito do sistema imunológico (por exemplo, se tem conhecimento de doenças imunológicas, primárias ou não, tais como alergias, infecções de repetição etc.). :

3) Resultados Laboratoriais

a) Objetivos Específicos do Trabalho

- ☐ Superóxido: ☐ 1ª hora _____ ☐ 2ª hora _____
- ☐ Óxido nítrico: _____
- ☐ Índice de fagocitose: _____
- ☐ Interleucina 12: _____
- ☐ Interferon-gama (IFN- γ): _____
- ☐ Prolactina: _____

b) Objetivos Secundários do Trabalho

- ☐ Hemácias: _____ HB: _____
- ☐ Hematócrito: _____
- ☐ Leucócitos: _____
- ☐ Bastonetes: _____
- ☐ Segmentados: _____
- ☐ Eosinófilos: _____
- ☐ Basófilos: _____
- ☐ Linfócitos Típicos: _____
- ☐ Linfócitos Atípicos: _____
- ☐ Monócitos: _____
- ☐ Observações: _____
- ☐ VSH: _____
- ☐ Prolactina: _____
- ☐ Teste Anti-HIV: ☐ Negativo ☐ Positivo