

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

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM PACIENTES COM DEPRESSÃO
UNIPOLAR E DEPRESSÃO BIPOLAR

BIANCA WOLLENHAUPT DE AGUIAR

Porto Alegre

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM PACIENTES COM DEPRESSÃO

UNIPOLAR E DEPRESSÃO BIPOLAR

BIANCA WOLLENHAUPT DE AGUIAR

Orientador: Prof. Dr. Flávio Kapczinski

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, UFRGS, como requisito para obtenção do título de Mestre

Porto Alegre

2012

CIP - Catalogação na Publicação

Wollenhaupt de Aguiar, Bianca
AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM PACIENTES
COM DEPRESSÃO UNIPOLAR E DEPRESSÃO BIPOLAR / Bianca
Wollenhaupt de Aguiar. -- 2012.
82 f.

Orientador: Flávio Kapczinski.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto
Alegre, BR-RS, 2012.

1. Transtorno de Humor Bipolar. 2. Depressão
Unipolar. 3. Diagnóstico Diferencial. 4. Parâmetros
Bioquímicos. I. Kapczinski, Flávio, orient. II. Título.

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

... À minha família, aos meus pais Aguiar e Ineze, e ao meu irmão Bernardo pelo amor, compreensão e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Flávio Kapczinski pela oportunidade de realizar este trabalho, por sua constante orientação e confiança no meu trabalho.

A Márcia Kauer-Sant'Anna, Keila Mendes Ceresér e ao Maurício Kunz pelos momentos de discussão e troca de idéias que permitiram a conclusão desta dissertação.

Ao Prof. Fábio Klamt pelos conselhos e sua disposição constante a ajudar.

A Renan Kubiachi e Cenita Borges, pelo auxílio e o comprometimento para a coleta dos dados.

Aos integrantes do Programa de Humor (Prothum) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, principalmente ao Prof. Marcelo Fleck pela parceria que permitiu o contato com os pacientes com Depressão Maior.

Aos meus colegas e amigos do Laboratório de Psiquiatria Molecular, especialmente ao Gabriel Fries, Laura Stertz e a Gabriela Colpo pelo apoio, companheirismo e amizade. Aos bolsistas Pâmela Ferrari, Giovana Bristot, Emily Galvão e André Contri, a doutoranda Bruna Panizzutti e mestrandas Carol Gubert por tornarem os dias no laboratório sempre prazerosos.

As grandes amigas Bianca Pfaffenseller e Roberta Gorziza que estiveram sempre presentes durante a realização deste trabalho e nos momentos de descontração. Obrigada pela parceria e amizade.

A minha família pelo apoio, paciência e compreensão devido as minhas constantes ausências durante a realização deste trabalho. Agradeço a vocês por tudo.

"É do buscar e não do achar que nasce o que eu não conhecia."
Autora: Clarice Lispector

RESUMO

Introdução: Os mecanismos moleculares envolvidos na fisiopatologia dos Transtornos de Humor ainda não estão completamente elucidados. Nos últimos anos tem-se verificado um crescente reconhecimento de que alterações no sistema imune, no estresse oxidativo e de fatores neurotróficos poderiam contribuir para o desenvolvimento dos episódios de humor. O diagnóstico de Transtorno de Humor Bipolar é um desafio a ser reconhecido devido ao elevado grau de sobreposição de sintomas, que são apresentados por um paciente bipolar durante o episódio depressivo e se correlacionam com os critérios de diagnóstico para depressão maior. Neste contexto, a busca por marcadores periféricos para transtornos psiquiátricos segue há muitos anos, contudo permanece indefinida. **Objetivos:** Em vista disso, neste estudo avaliamos diferentes marcadores periféricos em pacientes com Depressão Unipolar e Depressão Bipolar, visando à busca de possíveis diferenças entre estes dois transtornos do humor. **Métodos:** Para este fim, medimos os níveis séricos de BDNF, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, IFN- γ , IL-17, danos a lipídios e proteínas em 54 pacientes ambulatoriais com depressão Bipolar e Unipolar pareados a 54 voluntários saudáveis. Episódio depressivo foi avaliado através da Escala Hamilton de Depressão (HAM-D). **Resultados:** Neste estudo encontramos aumento da IL-6 em ambos os grupos estudados comparados ao controles ($p = 0,020$ e $p = 0,001$, respectivamente), bem como o aumento do dano a proteínas em pacientes unipolares ($p = 0,003$). Não foram observadas alterações nos níveis de BDNF em ambos os grupos de pacientes ($p = 0,295$) e no conteúdo de peroxidação de lipídios ($p = 0,860$). Uma correlação positiva foi encontrada entre os valores de HAM-D e níveis de carbonilação ($r = 0,291$; $p = 0,036$) em pacientes bipolares. **Conclusão:** Nossos resultados indicam o envolvimento do estresse oxidativo e de uma alteração no sistema imune inflamatório em pacientes depressivos, contudo os marcadores aqui estudados não seriam ideais para diferenciação dos transtornos depressivos bipolares e unipolares, sendo necessários mais estudos, com uma amostra maior, para validação destes achados.

PALAVRAS-CHAVE

Depressão Bipolar; Depressão Unipolar; marcadores periféricos; estresse oxidativo; IL-6

ABSTRACT

Background: The molecular mechanisms linked to pathophysiology of mood disorders are not yet fully elucidated. In recent years there has been a growing recognition that changes in the immune system, oxidative stress and neurotrophic factors could contribute to the development of mood episodes. The diagnosis of Bipolar disorder is a challenge to be recognized due to the high degree of overlap of symptoms, which are presented by a patient during bipolar depressive episode and correlate with the diagnostic criteria for major depression. In this context, the search for peripheral markers for psychiatric disorders has followed for many years, yet remains undefined. **Objective:** As a result, this study aims to search for peripheral markers for use in aiding the differential diagnosis of unipolar and bipolar depression. **Methods:** To this end, we measured serum levels of BDNF; IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, IFN- γ , IL-17, damage to lipids and proteins in 54 depressive Bipolar and Unipolar outpatients matched to 54 healthy volunteers. Depressive episode was assessed using the Hamilton Depression Rating Scale (HDRS). **Results:** In this study we found increased interleukin-6 in both groups compared to controls ($p = 0.020$ and $p = 0.001$, respectively), as well as increased damage to proteins in unipolar patients ($p = 0.003$). There were no changes in BDNF levels in both groups of patients ($p = 0.295$) and the content of lipid peroxidation ($p = 0.860$). A positive correlation was found between the values of HDRS and protein carbonyl levels ($r = 0.291$, $p = 0.036$) in bipolar patients. **Conclusion:** Our results indicate the involvement of oxidative stress, for damage to proteins, and a change in the inflammatory immune system in depressed patients; however the markers evaluated here were not suitable for differentiation of unipolar and bipolar depressive disorders, more research is needed, with a larger sample to validate these findings.

KEYWORDS

Peripheral markers; Unipolar Depression, Bipolar depression, oxidative stress, interleukin-6

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estudo sobre atividade de enzimas antioxidantes, peroxidação lipídica (TBARS) e níveis de óxido nítrico em pacientes com Transtorno de Humor Bipolar.....	17
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo proposto para explicar o dano causado por múltiplos episódios. O estresse ambiental e os episódios de humor recorrentes estariam associados à diminuição dos níveis de neurotrofinas, como o BDNF. Esta alteração estaria associada a uma maior propensão ao dano celular, o que, por sua vez, levaria a um remodelamento cerebral e conseqüente alteração nas regiões criticamente envolvidas na regulação do humor.....	56
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

BDNF = Fator neurotrófico derivado do cérebro (do inglês, *brain-derived neurotrophic factor*)

ERO= Espécies Reativas do Oxigênio

HAM-D = Escala Hamilton de Depressão

IL-2 = Interleucina 2

IL-4 = Interleucina 4

IL-6 = Interleucina 6

IL-10 = Interleucina 10

IL-17 = Interleucina 17

TNF- α = Fator de Necrose Tumoral alfa

IFN- γ = Interferon gama

MDA = Malondialdeido

NT-3= Neurotrofina-3

NT 4/5= Neurotrofina 4/5

PCC = conteúdo de carbonil protéico (do inglês, *Protein Carbonyl Content*)

PET = Tomografia por emissão de pósitrons

RL = Radicais livres

THB = Transtorno de Humor Bipolar

TBA = Ácido tio-barbitúrico

TBARS = Espécies reativas do ácido tio-barbitúrico (do inglês, *thiobarbituric acid reactive species*)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Transtorno de Humor Bipolar	3
2.2 Depressão Maior ou Unipolar	5
2.3 Fisiopatologia da Depressão.....	7
2.4 Fator Neurotrófico derivado do Cérebro (BDNF).....	9
2.5 Sistema Imune	11
2.6 Estresse Oxidativo.....	13
3. MARCO TEÓRICO.....	15
4. JUSTIFICATIVA.....	18
5. OBJETIVOS.....	21
5.1 Objetivo principal.....	21
5.2 Objetivos secundários.....	21
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO	22
7. ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS.....	34
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55
9. ANEXOS	58
ANEXO A - Instruções para a submissão de manuscritos na revista <i>Journal of Psychiatric Research</i>	59
ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Pacientes.....	70

1. INTRODUÇÃO

A depressão é um transtorno altamente recorrente e segundo a Organização Mundial da Saúde, em 2020 será a maior causa mundial de incapacitação. Mais de 75% dos pacientes apresentam mais de um episódio depressivo, muitas vezes recorrentes no prazo de dois anos.

(1). A depressão é freqüentemente comórbida com outras dificuldades físicas e mentais, na maioria das vezes como distúrbios de ansiedade, mas também com problemas cardíacos e tabagismo (2).

Conforme estudo de Stensland et al (2010) que analisou 7981 pacientes que apresentaram critérios para diagnóstico de Transtorno de Humor Bipolar (THB), e os acompanhou por aproximadamente um ano, verificou que uma proporção significativa de indivíduos com diagnóstico de transtorno bipolar recebeu um diagnóstico incongruente de depressão unipolar posterior, o que resultou em aumento dos custos de tratamento (3). Este aumento é demonstrado pela taxa de internação que triplicou, enquanto as visitas a emergências psiquiátricas duplicaram, sugerindo fortemente que os indivíduos que recebem um diagnóstico incongruente de depressão unipolar estariam mais propensos a ter mais recaídas psiquiátricas.

O diagnóstico de Transtorno de Humor Bipolar é um desafio a ser reconhecido devido ao elevado grau de sobreposição de sintomas. Estes são apresentados por um paciente bipolar durante o episódio depressivo e se correlacionam com os critérios de diagnóstico para depressão maior, tendo como base para diferenciação apenas o histórico do paciente de sintomas maníacos ou hipomaníacos (4).

Neste contexto a busca por marcadores periféricos para transtornos da psiquiatria segue há muitos anos, mas, apesar desses esforços, um exame de sangue com base não-invasiva que poderia ser usado como auxílio para o diagnóstico, ou para ajudar a estratificar pacientes com base no subtipo da doença permanece indefinida (5). Estudos em pacientes

deprimidos têm testado biomarcadores específicos com base na hipótese de disfunção monoaminérgica, a hipótese de disfunção imuno-inflamatória, neuroendócrina e na hipótese de neuroplasticidade (6, 7). Estas investigações têm gerado uma série de supostos biomarcadores que ainda necessitam de replicação. Contudo até o momento, apenas um estudo aponta um possível biomarcador, a neurotrofina Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro, como possível biomarcador para diagnóstico diferencial da Depressão Bipolar e a Depressão Unipolar (6).

Com base nos dados acima e na complexidade da fisiopatologia, cresce a preocupação com o atraso do diagnóstico em pacientes com depressão bipolar. Estudos recentes têm indicado que o intervalo médio entre o início dos sintomas e o diagnóstico da doença seria de 7-10 anos, com a demora para o diagnóstico correto o paciente não recebe a medicação adequada para o controle e manejo dos episódios o que causa prejuízos na qualidade de vida, comprometimento da produtividade no trabalho (8, 9), encargos sociais e econômicos, bem como o aumento da taxa de suicídios (10).

Em vista disso, esta dissertação teve por objetivo a pesquisa de potenciais marcadores periféricos para serem avaliados como auxílio ao diagnóstico diferencial da depressão unipolar e depressão bipolar.

Considerando a sua alta prevalência na população e seu prejuízo na funcionalidade do paciente, bem como os gastos gerados ao sistema de saúde, estudos sobre o Transtorno de Humor Bipolar representam uma área de grande interesse para a comunidade científica, uma vez que pode ajudar no esclarecimento, pelo menos em parte, da fisiopatologia deste transtorno. Mais estudos são necessários para o esclarecimento dos mecanismos responsáveis pelos episódios depressivos, com o objetivo de fornecer ao paciente um tratamento adequado e evitar o dano que o THB provoca nestes. Por isso, estudos nesta área são muito importantes, tanto do ponto de vista clínico quanto social.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Transtorno de Humor Bipolar

O Transtorno de Humor Bipolar é uma doença crônica e grave caracterizada por episódios maníaco-depressivos. Afeta aproximadamente 1,6% da população (11) e segundo a Organização Mundial da Saúde representa uma das principais causas de incapacitação em todo o mundo (12), tendo, dentre as doenças mentais, altos índices de suicídio e desemprego, constituindo-se assim um problema de saúde pública (13).

O curso clínico do THB é usualmente identificado por períodos de exacerbação dos sintomas - episódios agudos - intercalados por períodos subsindrômicos e períodos de remissão, denominados eutímia.

O diagnóstico de Transtorno de Humor Bipolar é realizado com a ocorrência de pelo menos um episódio maníaco ou hipomaníaco durante a vida (14). O episódio maníaco é caracterizado segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (4) por uma elevação de humor ou euforia, expansivo ou irritável, com duração de no mínimo uma semana (e nos casos que requerem a hospitalização, independente da duração do episódio) associado ao menos a três dos seguintes critérios (quatro, se humor irritável): redução da necessidade de sono, distratibilidade, grandiosidade, pressão por falar, fuga de idéias, agitação psicomotora, comportamento excessivo voltado para atividades prazerosas com grande potencial para conseqüências dolorosas. Sendo a alteração de humor suficientemente grave a ponto de causar prejuízo tanto no âmbito ocupacional quanto social do indivíduo. E os sintomas não devem ser conseqüência de efeitos fisiológicos ou de uma condição médica geral.

O episódio hipomaníaco assemelha-se ao episódio maníaco pelos sintomas e critérios do humor elevado apresentados anteriormente, mas caracteriza-se como um episódio sem sintomas psicóticos ou sintomas que possam causar dano ou colocar em perigo a vida de um

indivíduo ou a do próprio paciente, difere-se também em relação à duração do episódio que se apresenta com uma duração mínima de quatro dias. Dependendo do diagnóstico clínico, o THB pode ser dividido em THB tipo I e THB tipo II, o primeiro quando o paciente apresentar episódios maníacos e o segundo quando o paciente apresentar episódios hipomaníacos (14).

Estudos mostram que indivíduos com THB possuem altas taxas de comorbidades, as quais chegam a mais de 60% ao longo da vida (15), tais como doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes melitus (16), o que está diretamente associado ao aumento da morbidade e mortalidade observadas nesta doença.

Em relação à neurobiologia, estudos de ressonância magnética e neurofuncionais sugerem alterações no circuito que compreende o córtex pré-frontal, o sistema límbico e os núcleos da base, os quais podem estar associados à fisiopatologia do THB, pois se pressupõem serem estas regiões as responsáveis pela modulação do comportamento. Achados mostram a diminuição no volume do córtex pré-frontal subgenua e córtex pré-frontal dorsolateral (17, 18), bem como um aumento no tamanho do terceiro ventrículo (19, 20) e do ventrículo lateral (21). Uma redução dos ventrículos também foi encontrada por Harvey (1994) e Hauser (2000) (22, 23). Estudos no hipocampo não mostraram evidências significativas de mudança no tamanho e volume deste em pacientes bipolares, assim como nos núcleos da base, onde estudos demonstraram um aumento do volume do estriado em pacientes bipolares comparados a controles saudáveis (24).

Bearden e colaboradores (2001) mostraram que pacientes bipolares apresentam resultados semelhantes ao de voluntários sadios em testes verbais ou de QI, entretanto pacientes bipolares apresentam um déficit significativo quando comparados a controles em testes de atenção, principalmente os que envolvem elementos de função executiva e uma diminuição em testes de memória de curta duração, incluindo memória declarativa e memória de trabalho (25). A função executiva, por exemplo, estaria localizada em regiões do Córtex Pré-frontal (CPF), que também seriam responsáveis pela atenção e a memória de trabalho

(26). O padrão de déficits de atenção em pacientes bipolares é mais consistente com uma disfunção no córtex orbitofrontal, estruturas temporais subcorticais e mediais, e porções do córtex parietal posterior. Déficits na memória de trabalho também sugerem anormalidades no córtex orbitofrontal, córtex cingulado anterior, estriado, tálamo e estruturas temporais mediais (26). Estas mudanças morfológicas sugerem uma disfunção na plasticidade e resiliência celular seguindo um padrão neurodegenerativo. Neste contexto, aumentam as evidências que sistemas de sinalização neurotróficos, responsáveis pela regulação da plasticidade e sobrevivência celular, possam estar alterados em pacientes com transtornos de humor (27). Os mecanismos neuroquímicos envolvidos na patofisiologia do THB ainda não estão completamente entendidos, mas vários estudos têm sido feitos incluindo a função das monoaminas, ácido gama-aminobutírico (GABA), glutamato, vias de sinalização de segundo mensageiro, o estresse oxidativo e dano ao DNA.

2.2 Depressão Maior ou Unipolar

A depressão maior é uma doença mental comum e tratável; um estudo realizado durante o período 2001-2002 estimou que 6,6% da população adulta dos EUA apresentaram um episódio de transtorno depressivo maior durante os últimos 12 meses (28). Estudos recentes têm mostrado que a etiologia da depressão é multifatorial. Através do efeito cumulativo de três fatores distintos: ocorrência de trauma ou eventos estressores na infância, envolvimento genético, e eventos psicossociais estressores recentes ou atuais.

A presença dos sintomas mais comuns destes transtornos são coletivamente chamados "síndrome depressiva" e incluem um humor deprimido de longa duração, sentimentos de culpa, ansiedade e pensamentos recorrentes sobre morte e suicídio. O diagnóstico de episódio depressivo maior é caracterizado por uma diminuição do humor ou uma incapacidade de experimentar prazer (anedonia), ou ambos, combinada com sintomas cognitivos e vegetativos

e ocorrência de sofrimento ou prejuízo ao indivíduo. Um diagnóstico de transtorno depressivo maior pode ser feito se uma pessoa sofre, pelo menos, um episódio depressivo (sem nunca ter experimentado a mania, pois neste caso o diagnóstico seria de depressão bipolar) (29).

Segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, quarta edição (DSM-IV) (4), o diagnóstico do transtorno depressivo maior requer a experiência de episódios depressivos, que são definidos por pelo menos cinco dos seguintes sintomas e por pelo menos 2 semanas de duração: perda de interesse, humor deprimido, distúrbios de peso ou apetite, distúrbios do sono, alterações psicomotoras, perda de energia, inutilidade ou culpa, dificuldade de concentração, indecisão e pensamentos de morte e/ou suicídio. O humor deprimido ou perda de interesse deve ser um dos sintomas, mas com a inclusão de critérios compostos (por exemplo, inutilidade ou culpa), o diagnóstico de depressão pode ser satisfeito por diversas variantes, e os episódios podem ser qualificados por outras características associadas (por exemplo, pós-parto, padrão sazonal, com melancolia ou sintomas psicóticos).

A contribuição genética para a manifestação da depressão foi estimada em 40-50% (30). No entanto, as combinações de vários fatores genéticos podem estar envolvidos no desenvolvimento da depressão, além de fatores não-genéticos, como estresse, traumas afetivos, infecção viral e anormalidades no desenvolvimento neurológico. Assim, estudos extensivos têm levado a uma variedade de hipóteses para o mecanismo molecular da depressão, entretanto o mecanismo patogênico ainda não foi completamente elucidado (31).

É importante ressaltar que várias doenças, como diabetes, doenças cardíacas, desordens auto-imunes e dor são comorbidades presentes comuns. A relação entre o transtorno depressivo e essas condições crônicas e incapacitantes parece ser bidirecional, pois um parece influenciar o prognóstico do outro (2, 32, 33).

A Depressão Maior é caracterizada pela ocorrência de episódios depressivos, seguidos por períodos de humor estável, eufímico. No entanto, pacientes que apresentam sinais de

remissão clínica podem apresentar anormalidades neurobiológicas persistentes. Estudos têm demonstrado que essas anomalias podem piorar com o tempo, e alguns pacientes podem se tornar cronicamente deprimidos. Estudos de neuroimagem estruturais indicam que os indivíduos com episódios recorrentes de depressão maior podem ter o hipocampo relativamente menor, mesmo durante períodos de remissão clínica, quando comparados a indivíduos saudáveis. A redução progressiva do volume do hipocampo pode ser devido ao caráter recorrente ou persistente da doença, bem como pela falta de tratamento antidepressivo realmente eficaz, o que por sua vez, pode explicar os problemas de memória de alguns pacientes, bem como os vários outros sintomas da doença (34, 35).

Apesar de ter etiologia complexa e multifatorial, a Depressão Unipolar pode ter um estado neural comum. Acredita-se que há uma alteração generalizada na função de estruturas cerebrais durante um episódio depressivo, incluindo córtex motor pré-frontal, temporal e parietal, límbico, lateral do tálamo e hipotálamo áreas que modulam os gânglios da base, mesencéfalo e tronco cerebral (36).

2.3 Fisiopatologia da Depressão

A hipótese da monoamina, tem sido o foco principal na pesquisa para a causa da depressão por aproximadamente os últimos 50 anos. Esta hipótese sugere uma deficiência ou desequilíbrio nos neurotransmissores monoaminérgicos (como dopamina, serotonina e noradrenalina). Os estudos sobre a fisiopatologia do transtorno depressivo são de extrema importância para o melhor entendimento da patologia, mas os dados oriundos de tais estudos muitas vezes não nos permitem uma distinção clara entre causa e efeito. Exemplificando, a constatação de que a taxa de síntese de serotonina pode ser baixa em pacientes depressivos pode ser explicada de diferentes maneiras: uma redução na síntese de serotonina pode resultar em depressão, depressão pode resultar em uma redução nos níveis de síntese de serotonina, ou

um terceiro elemento pode ser responsável tanto pela redução na taxa de síntese de serotonina e desencadear a depressão (37).

Atualmente também tem sido tema de grande interesse na procura da etiologia deste transtorno, o eixo Hipotálamo – Pituitária – Adrenal (HPA) que corresponde ao circuito neuroendócrino principal para gerir o estresse no corpo. Pois transtornos psiquiátricos relacionados ao estresse, como a depressão, tem sido relatados estarem associados a disfunções neste eixo (38) .

Estressores de todos os tipos, tanto física como psicológica, ativam o eixo HPA, aumentando a produção e liberação de hormônio liberador de corticotropina (CRH) e arginina-vasopressina (AVP) a partir do núcleo paraventricular do hipotálamo. Aquele aumenta a secreção de adrenocorticotrofina (ACTH) pela pituitária e, posteriormente, o córtex da adrenal é estimulado pela corticotropina para produzir o hormônio do estresse - cortisol, que afeta funções neurocomportamentais de várias regiões do cérebro.

O eixo HPA forma um feedback via certas regiões do cérebro como o hipocampo e a amígdala. O hipocampo é um alvo importante do cortisol e a ativação local de receptores glicocorticóides no hipocampo auxilia no controle do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Receptores de glicocorticóides também são encontrados no hipotálamo e na hipófise. Sabe-se que o estresse crônico aumenta o nível do fator de liberação de corticotropina e de cortisol e diminui a expressão de receptores tipo 1 do liberador da corticotropina e dos receptores de glicocorticóides, o que pode causar prejuízo na neuroplasticidade e resistência celular (39). O desequilíbrio entre os receptores de glicocorticóides e mineralocorticóides na depressão, pode contribuir para a susceptibilidade do hipocampo para o dano neuronal (40). Mudanças associadas ao estresse e depressão ao nível do hipocampo, podem ser responsáveis pelas alterações vistas nesta região do cérebro, o que por sua vez, pode contribuir para a desinibição crônica do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (37).

Essas alterações funcionais dos neurônios do hipocampo causada pelo estresse crônico pode reduzir o tônus inibitório sobre o eixo HPA, o que resulta em hiperatividade deste eixo. A hiperatividade do eixo HPA tem sido verificada em cerca de metade dos pacientes com depressão crônica e estudos tem demonstrado que o tratamento com antidepressivos, tem auxiliado na reversão desta disfunção (41, 42).

Por isso, mais estudos são necessários e têm sido realizados avaliando possíveis marcadores e tratamentos focados na compreensão dos mecanismos biológicos envolvidos na depressão, e há uma grande promessa de que estes avanços, além de sua relevância para a medicina geral, possam ter grandes aplicações no diagnóstico e manejo dos episódios depressivos.

2.4 Fator Neurotrófico derivado do Cérebro (BDNF)

O Fator neurotrófico derivado do cérebro (*Brain derived neurotrophic factor*-BDNF) é o membro mais estudado da família das neurotrofinas, que consistem de pequenas proteínas secretadas que atuam no desenvolvimento do sistema nervoso (43, 44) e possuem uma função crucial no controle do número de neurônios e no crescimento dendrítico (45). É um polipeptídeo de 27kDa e está envolvido no suporte a sobrevivência e diferenciação de populações específicas de neurônios *in vivo* durante o desenvolvimento e aumentam as evidências de que o BDNF também atua na fase adulta, incluindo a homeostase e a plasticidade neuronal relacionada a processos como memória e aprendizado (46, 47).

A família dos fatores neurotróficos possui uma variedade de funções biológicas, relacionadas a interação com receptores, distribuição local e transporte no sistema nervoso central. Além do fator neurotrófico derivado do cérebro, acredita-se que outras neurotrofinas possam estar alteradas no THB. Walz e colaboradores mostraram diferenças em outros dois fatores tróficos: Neurotrofina-3 (NT-3) que se observou ter expressão aumentada em bipolares

em episódios maníaco e depressivo comparado a pacientes eutímicos e controles saudáveis(48). E a neurotrofina 4/5 (NT-4/5), que mostrou estar aumentada em pacientes comparado a controles, independente do estado sintomático (49).

Estudos têm sugerido que uma desregulação no BDNF ocorre sob condições de estresse crônico e depressão (50). Como os estudos com polimorfismos do gene do BDNF, em pacientes bipolares, que têm demonstrado estar relacionado com a gravidade dos episódios nestes indivíduos. Por outro lado, o tratamento crônico com antidepressivos não apenas aumenta o nível de BDNF, mas também aumenta a resistência ao estresse em animais (51-53).

Há vários estudos mostrando que alterações na expressão do BDNF em subpopulações neuronais específicas contribuiriam para diferentes patologias, incluindo depressão, epilepsia, doença de Parkinson, Alzheimer, Huntington (43, 54-57); bem como em transtornos psiquiátricos como o THB e a esquizofrenia, tendo sido evidenciado em estudos recentes de Kapczinski e colaboradores, nos quais durante os episódios maníacos e depressivos os pacientes com THB mostraram apresentar níveis mais baixos de BDNF comparados a controles saudáveis enquanto que em períodos de remissão (eutimia) seus níveis se apresentam similares ao dos controles (58).

Estas observações serviram de base para a teoria neurotrófica afirmando que a depressão seria causada por um déficit de fatores neurotróficos e que os antidepressivos seriam capazes de reverter esta diminuição.

Neste contexto é importante ressaltar o estudo de Fernandes BS et al (2009) que avaliou os níveis desta neurotrofina em 40 pacientes bipolares e 10 pacientes com depressão maior durante o episódio depressivo, demonstrando que os pacientes com THB apresentavam valores de BDNF mais baixos do que os pacientes com Depressão Maior (6). Este foi um dos primeiros trabalhos a sugerir a existência de um possível biomarcador para diferenciação do diagnóstico depressivo Bipolar e Unipolar.

2.5 Sistema Imune

Na fisiopatologia da doença além dos sistemas citados, nos últimos anos tem-se verificado um crescente reconhecimento de que a ativação do sistema imune inflamatório, especialmente a liberação das moléculas de sinalização (citocinas), poderia influenciar muitas das alterações neuroquímicas provocadas pelo estresse e contribuir com isso para o desenvolvimento da depressão. Sabe-se que as citocinas podem interagir com o sistema neuroendócrino e em vias específicas envolvidas no humor (59). Neste contexto, muitos estudos têm demonstrado uma clara relação entre a inflamação e o desenvolvimento de diferentes doenças, tais como: doenças cardiovasculares, diabetes, câncer, bem como doenças neuropsiquiátricas, como a depressão (60-62).

Segundo estudos recentes, alterações nos níveis de citocinas pró-inflamatórias estão associados com aumento do risco de desenvolvimento de depressão, de alterações cognitivas e reduzida capacidade de resposta ao tratamento. Citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1 β , IL-6 e TNF- α , que são induzidas por lesões e infecções, bem como do estresse psicológico tem sido implicadas em comportamentos depressivos tanto em modelos animais quanto em pacientes com depressão (63-66).

O estudo recente de Gimeno e colaboradores (2009) acompanhou por 12 anos pacientes com depressão e verificou associação entre elevados níveis de Proteína C reativa e Interleucina 6 no soro destes pacientes e os sintomas cognitivos da depressão(65). Os dados encontrados sugerem que, pelo menos no que diz respeito aos sintomas cognitivos da depressão, a direção da associação seria predominantemente dos marcadores inflamatórios aos sintomas cognitivos da depressão.

Estudos relataram aumento de citocinas pró-inflamatórias em pacientes com Transtorno de Humor Bipolar e com Depressão Unipolar demonstrando que durante o episódio depressivo a produção de TNF-alfa estaria significativamente aumentada quando comparados

a indivíduos saudáveis (67) enquanto que os níveis de TNF-alfa decaem durante o tratamento (68).

Há um crescente corpo de evidências sugerindo o envolvimento de citocinas nos transtornos psiquiátricos, e os resultados sugerem uma associação dos episódios maníacos e depressivos com um estado pró-inflamatório, no Transtorno de Humor Bipolar. No entanto, estes achados apresentam algumas inconsistências, o que poderia estar relacionado tanto à heterogeneidade da amostra quanto a sintomas de humor, duração da doença e efeito de medicamentos.

Estudos relataram aumento da concentração de Interleucina-6 (IL-6) e TNF- α durante mania e entre esses pacientes, os níveis de IL-6 voltou à linha de base após 6 semanas de tratamento com estabilizadores de humor, mas TNF- α continuou elevado (69). Entretanto outro estudo recente descreveu que ambos tanto a mania quanto a depressão bipolar estariam associados com aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias IL-6, IL-8 e TNF- α , mesmo com o uso de estabilizadores do humor ou antipsicóticos (70). Em outro achado, a análise de diferentes citocinas (TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 e IFN- γ) em pacientes bipolares nos três estados, mania, depressão e eutimia, verificou que na depressão a IL-6 apresentou níveis elevados quando comparados a controles; os autores sugerem então que a depressão estaria associada a um estado pró-inflamatório e que essas mudanças parecem estar relacionadas com estado de humor, pois as alterações no perfil de citocinas foram mais pronunciadas durante os episódios agudos do que em eutimia; estes achados fornecem mais apoio para investigação do sistema imunológico como um alvo futuro para o manejo dos episódios e melhora do tratamento (71).

Neste contexto, é de extrema relevância que cada vez mais estudos sejam realizados na tentativa de estabelecermos o real envolvimento das alterações do sistema imune no mecanismo da depressão.

2.6 Estresse Oxidativo

Em condições fisiológicas há um equilíbrio entre os sistemas oxidativo e antioxidante no organismo. O estresse oxidativo representa o desequilíbrio entre esses sistemas em favor do primeiro e tem sido cada vez mais implicado na patogênese de diversas doenças, principalmente em doenças neurológicas e transtornos psiquiátricos, como os transtornos de humor (72, 73) e esquizofrenia (74).

Aumento nos níveis de estresse oxidativo neuronal demonstrou causar disfunção na transdução de sinal, plasticidade e resistência celular, devido principalmente a dano lipídico por indução de peroxidação de membranas e proteínas (75, 76). As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), como o Malondialdeído, e os níveis de carbonilação de proteínas são considerados um índice direto de peroxidação lipídica e proteica celular, respectivamente.

Estudos em amostras de sangue periférico de indivíduos com depressão têm demonstrado aumento de peroxidação lipídica ocorrendo como resultado de um estresse oxidativo, no plasma e eritrócitos, através da dosagem de Malondialdeído quando comparados a indivíduos saudáveis (77-79). A metanálise realizada por Andreatza (2008) mostrou que pacientes com THB apresentam elevado estresse oxidativo, através de um aumento na peroxidação lipídica (TBARS) e de óxido nítrico (80).

Além disso, aumento dos níveis de peroxidação lipídica foram encontrados no córtex cingulado de pacientes com BD (72). E os achados de Shao L. et al (2005) em cultura primária de células corticais de modelo animal demonstraram que o tratamento crônico com estabilizadores de humor, lítio e valproato, inibe os danos oxidativos a proteínas (pela técnica de determinação de grupos carbonil) e por sua vez produz um efeito neuroprotetor contra a excitotoxicidade (81), dando suporte a teoria que o dano oxidativo estaria aumentado em pacientes com transtorno de humor. É importante ressaltar que a região

cortical desempenha um papel fundamental nos processos de controle do humor, cognição e funções motoras comportamentais (82, 83). Como demonstrado por Rajkowska et al (2001) onde pacientes com transtorno bipolar teriam perda celular e atrofia nesta região cerebral (84).

O acúmulo de dano oxidativo pode levar à morte celular neuronal por apoptose ou como consequência da agregação de proteínas oxidadas, o que pode resultar na insuficiência de mecanismos estabilizadores do humor. (75).

Estudos recentes demonstraram aumento das espécies reativas ao oxigênio (EROS) em plasma de pacientes com depressão, sugerindo dano induzido por estresse oxidativo, bem como aumento do estado oxidante total no soro de pacientes com transtorno depressivo maior (85, 86). Quando as EROs causam oxidação dos resíduos de lisina, prolina, arginina e treonina, ocorre a formação de grupo carbonil nas proteínas (87). Este dano as proteínas pode levar a alterações funcionais ou a inativação de proteínas e enzimas.

Além da quantificação dos grupos carbonil formados, há diferentes métodos para dosagem de dano a proteínas, como a nitração do resíduo tirosina, com consequente formação da 3-nitrotirosina, que ocorre via peroxinitrito. Contudo, a técnica proposta por Levine e Stadtman (1990) onde a reação com 2,4-dinitrofenilidrazina reage com os grupos carbonil formados, se tornou a medida mais amplamente utilizada de oxidação de proteínas (88).

Outros estudos que demonstraram o envolvimento do estresse oxidativo na patogênese do THB apresentaram alterações em hemácias (89-91) e no soro (73, 92, 93) da atividade das enzimas antioxidantes: superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase; e de uma alta taxa de peroxidação lipídica e de carbonilação (89-91).

3. MARCO TEÓRICO

Com base na revisão da literatura, podemos verificar que ao longo dos últimos anos tem se aumentado o interesse na busca pelos mecanismos neurobiológicos envolvidos nos transtornos psiquiátricos, para que conhecendo a fisiopatologia da doença seja possível fornecer ao paciente um tratamento cada vez mais adequado, buscar novas medicações e evitar os danos que os episódios de humor causam ao indivíduo. Apesar de todos esses esforços, ainda não temos estes mecanismos completamente esclarecidos, muitos dados ainda são conflitantes ou inconsistentes, sendo necessários mais estudos nesta área, para podermos validar estes achados. Como exemplo, na tabela 1, temos os dados apresentados em uma meta análise sobre os principais achados referente aos danos oxidativos presentes nos pacientes com THB (80).

Os estudos científicos avançam, contudo no que diz respeito ao diagnóstico do Transtorno de Humor Bipolar ainda temos muito que avançar. Como demonstrado, na revisão dos dados da literatura, ainda é muito comum e alto o índice de pacientes que recebem o diagnóstico de depressão maior (também chamada Unipolar), para anos mais tarde serem então diagnosticados como pacientes com Transtorno de Humor Bipolar. Contudo, muito tem se feito na procura de possíveis diferenças neurobioquímicas e sintomáticas entre estas desordens para tentar diminuir o atraso ao diagnóstico correto, mas não temos uma definição até o momento. Por isso, trabalhos como o que realizamos são muito importantes para tentarmos estabelecer as diferenças entre estas duas patologias, agregando dados da literatura, de forma que se possa, no futuro, auxiliar na melhora do diagnóstico. Muito tem se visto sobre diferenças bioquímicas durante os episódios depressivos, e são estes estudos que quando analisados em conjunto podem auxiliar no real entendimento dos transtornos psiquiátricos, como o Transtorno de Humor Bipolar.

Estudos em nível de Sistema Nervoso Central, por Ressonância Magnética Funcional e Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET) têm mostrado que o Transtorno de Humor Bipolar e a Depressão Unipolar apresentam certas similaridade e diferenças, quanto a sua neurobiologia, por aumento ou diminuição do volume de regiões cerebrais relacionadas, principalmente, à emoção, ao comportamento e a memória, como amígdala, córtex e hipocampo (17, 37, 94-96).

Em nível periférico tem se avaliado em soro ou plasma diferentes parâmetros bioquímicos, tais como: o estresse oxidativo, por dosagem de danos a lipídeos, proteínas, concentração de enzimas com função antioxidante; disfunção imune, por avaliação da liberação de citocinas; fatores neurotróficos, através da sua concentração sérica. Também tem se avaliado parâmetros moleculares, por análise de genes relacionados à suscetibilidade a doença e a polimorfismos que possam estar associados tanto a gravidade dos sintomas quanto ao prognóstico do transtorno (48, 49, 58, 65, 66).

Dentro desse contexto nosso interesse foi avaliar, em pacientes com diagnóstico de Transtorno de Humor Bipolar e com Depressão Maior, diferentes parâmetros bioquímicos com o objetivo de analisar como estes se comportam nestas duas patologias quando comparadas ao grupo controle.

Os pacientes foram recrutados em ambulatórios do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, o ambulatório de Transtorno de Humor (PROTHUM) onde foram abordados os pacientes com depressão maior, e o ambulatório do Transtorno de Humor Bipolar (PROTAHBI) para os pacientes bipolares. Os controles foram obtidos a partir do banco de sangue do referido hospital.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, sob nº 11-0176.

Tabela 1: Estudos sobre atividade de enzimas antioxidantes, peroxidação lipídica (TBARS) e níveis de óxido nítrico em pacientes com transtorno bipolar.

Reference	Pacientes/Controles	Pacientes Bipolares				Fumo ²	Amostra	Técnica	Resultados ⁴
		Maniacos	Deprimidos	Eutímicos					
Superoxido Dismutase									
Andreazza et al, 2007a	85/32	32	21	32	0/85 (P) 0/32 (C)	Soro	Adrenochrome	aumentado em pacientes deprimidos e maniacos	
Machado-Vieira et al,2007	30/30	30	0	0	NA	Soro	Adrenochrome	aumentado em pacientes livres de medicação	
Gergerlioglu et al, 2007	29/30	29	0	0	16/13 (P) 14/16 (C)	Soro	Nitroblue tetrazolium	diminuído	
Selek et al, 2007	30/30	0	30	0	15/14 (P) 14/16 (C)	Soro	Nitroblue tetrazolium	diminuído	
Savas et al, 2006	27/20	0	0	27	NA	Soro	Nitroblue tetrazolium	diminuído	
Ozcan et al, 2004 ¹	30/21	16	2	0	9/21 (P) 9/21 (C)	RBC ³	Nitroblue tetrazolium	NS**	
Ranjekar et al, 2003	10/31	NA*	NA	NA	NA	RBC	Nitroblue tetrazolium	NS	
Kuloglu et al, 2002	23/20	NA	NA	NA	NA	RBC	Nitroblue tetrazolium	aumentado	
Abdalla et al, 1986	20/58	NA	NA	NA	NA	RBC	Nitroblue tetrazolium	aumentado	
Catalase									
Andreazza et al, 2007a	85/32	32	21	32	0/85 (P) 0/32 (C)	Soro	µmol of H ₂ O ₂ consumed / min	diminuído em pacientes eutímicos e maníacos	
Machado-Vieira et al,2007	30/30	45	0	0	NA	Soro	µmol of H ₂ O ₂ consumed / min	aumentado	
Ozcan et al, 2004 ¹	30/21	16	2	0	9/21 (P) 9/21 (C)	RBC ³	µmol of H ₂ O ₂ consumed / min	diminuído nos grupos pré e pós-tratamento	
Ranjekar et al, 2003	10/31	NA	NA	NA	NA	RBC	µmol of H ₂ O ₂ consumed / min	diminuído	
Glutathione peroxidase									
Andreazza et al, 2007a	85/32	32	21	32	0/85 (P) 0/32 (C)	Soro	nmolNADPH oxidized / mim	aumentado em pacientes eutímicos	
Ozcan et al, 2004 ¹	30/21	16	2	0	9/21 (P) 9/21 (C)	RBC	nmolNADPH oxidized / mim	diminuído no grupo pré-tratamento	
Ranjekar et al, 2003	10/31	NA	NA	NA	NA	RBC ³	nmolNADPH oxidized / mim	NS	
Kuloglu et al, 2002	23/20	NA	NA	NA	NA	RBC	nmolNADPH oxidized / mim	NS	
Abdalla et al, 1986	20/58	NA	NA	NA	NA	RBC	nmolNADPH oxidized / mim	NS	
TBARS									
Andreazza et al, 2007a	85/32	32	21	32	0/85 (P) 0/32 (C)	Soro	TBARS	aumentado maníacos, deprimidos e eutímicos	
Machado-Vieira et al,2007	45/30	45	0	0	NA	Soro	TBARS	aumentados em pacientes livres de medicação	
Savas et al, 2005	22/22	0	0	22	13/9 (P) 12/10 (C)	Soro	TBARS	aumentado	
Ozcan et al, 2004 ¹	30/21	16	2	0	9/21 (P) 9/21 (C)	Soro	TBARS	aumentado no pré e pós-tratamento	
Ranjekar et al, 2003	10/31	NA	NA	NA	NA	Plasma	TBARS	NS	
Kuloglu et al, 2002	23/20	NA	NA	NA	NA	Plasma	TBARS	aumentado	
Oxido Nítrico									
Gergerlioglu et al, 2007	29/30	29	0	0	16/13 (P) 14/16 (C)	Soro	Greiss reaction	aumentado	
Selek et al, 2007	30/30	0	30	0	15/14 (P) 14/16 (C)	Soro	Greiss reaction	aumentado	
Savas et al, 2006	27/20	0	0	27	NA	Soro	Greiss reaction	aumentado	
Savas et al, 2005	22/22	0	0	22	13/9 (P) 12/10 (C)	Soro	Greiss reaction	aumentado	
Ozcan et al, 2004 ¹	30/21	16	2	0	9/21 (P) 9/21 (C)	plasma	Greiss reaction	diminuído no grupo de pré-tratamento	
Yanik et al, 2004	43/31	43	0	0	NA	plasma	Greiss reaction	aumentado	
Savas et al, 2002	44/21	44	0	0	NA	plasma	Greiss reaction	aumentado	
Dano ao DNA									
Andreazza et al, 2007b	32/32	0	0	32	0/32 (P) 0/32 (C)	linfocitos	Ensaio Cometa	aumentado	
Benes et al, 2006	10/18	0	0	10	NA	CPF***	Teste de Klenow	NS	
Butter et al, 2007	14/14	0	0	18	NA	NG [#]	Teste de Klenow	aumentado	

¹ Pacientes com transtornos afetivos: 16 maniacos-TB-1; 2 deprimidos TB-1; 6 pacientes com depressão maior; 6 pacientes com esquizofrenia

² Fumantes/ Não-fumantes - Pacientes (P) and Controles ©

³ Hemácias (RBC)

⁴ Diferenças referentes ao grupo controle

* NA - não se aplica

** Não significante

***CPF= cortex pre-frontal

NG= neurônios não-gabaérgicos

4. JUSTIFICATIVA

Os Transtornos de Humor, como a Depressão Maior e o Transtorno de Humor Bipolar são os distúrbios psiquiátricos mais comuns da sociedade moderna. Estima-se que cerca de 16% e 1% da população irá apresentar algum episódio de Depressão ou de Transtorno Bipolar, uma ou mais vezes durante a vida, respectivamente, conforme o *National Comorbidity Survey Replication* (97).

A depressão afeta negativamente a qualidade das relações interpessoais e, em particular, as relações com cônjuges e filhos. Estudos demonstram que a taxa de divórcio é mais elevada entre os deprimidos do que entre indivíduos saudáveis e filhos de pais deprimidos apresentam maior risco de apresentar um episódio depressivo do que filhos de pais saudáveis (98, 99). Além dos prejuízos sociais, há significativos custos econômicos da depressão. Estima-se que os custos anuais pela perda de produtividade relacionada com a depressão nos Estados Unidos ultrapassam US \$36 bilhões (100).

É importante ressaltar que 35% dos pacientes com Transtorno de Humor Bipolar apresentam um atraso de até 10 anos para a atribuição de um diagnóstico correto e o início do tratamento para o diagnóstico apropriado (3, 101). As razões para este atraso ao diagnóstico tem sido estudadas e já estão bem documentadas, sendo algumas delas o diagnóstico equivocado por causa da sobreposição dos sintomas com doenças como depressão e transtornos de personalidade; ou pelos pacientes não informarem, por negação ou por falta de conhecimento, os sintomas mais brandos que seriam uma indicação ao THB (102, 103).

O atraso no diagnóstico aumenta o risco de desenvolvimento de comorbidades associadas, agravando ainda mais as consequências psicológicas e sociais da doença (104). Entretanto, há dados como de Yung e colaboradores (2007) que sugerem que as primeiras fases dos transtornos psiquiátricos podem apresentar sobreposição de sintomas não-

específicos, e a expressão plena do distúrbio, muitas vezes só se manifestaria ao longo do tempo (105).

Com base nestes dados, fica clara a necessidade de um diagnóstico preciso para o THB. Contudo, estudos têm demonstrado que os pacientes passam a maior proporção de seu tempo doente em um episódio depressivo ou com sintomas depressivos (106). A relação entre os episódios depressivos e maníacos no Transtorno Bipolar tipo I seria de 3:1 e 47:1, para a depressão e hipomania em paciente Bipolar tipo II.

A maior questão a frustrar o sucesso do diagnóstico precoce de Transtorno Bipolar é o fato de a apresentação inicial da doença ser na maioria das vezes com sintomas depressivos (107). Isto leva a uma defasagem entre a apresentação inicial de depressão e a característica principal do Transtorno Bipolar, que segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, quarta edição (DSM-IV), corresponde à presença de um episódio maníaco ou hipomaniaco. Conseqüentemente, um diagnóstico inicial de Depressão Unipolar é altamente provável e, por isso os pacientes com THB são geralmente tratados com medicamentos potencialmente não-eficazes (108).

Por isso, estudos que procurem diferenças na manifestação dos sintomas depressivos são muito importantes para permitir uma intervenção ainda na fase inicial da doença, com tratamento adequado, evitando os maiores danos cognitivos, sociais e econômicos que o paciente possa experimentar quando não está sob tratamento adequado, como mostrado por Stensland e colaboradores (2010). Neste contexto, tem se investigado diferenças sintomáticas, e apesar de muitas semelhanças, tem se verificado que há também diferenças sutis entre as síndromes clínicas da Depressão Unipolar e Bipolar. Essas diferenças incluem sintomas como: maiores taxas de retardo psicomotor, maior dificuldade de pensamento, despertar matinal mais cedo, piora do humor pela manhã e sintomas psicóticos mais frequentes na Depressão Bipolar em relação à Depressão Unipolar (109-111).

Na procura por delimitações mais claras entre estas patologias também tem sido realizado a busca por marcadores periféricos, através de métodos não invasivos, como a coleta de sangue, para pesquisa de diferenças entre parâmetros bioquímicos que possam servir como auxílio no diagnóstico diferencial entre estas doenças. Dentro deste contexto, nosso trabalho justifica-se por sua relevância clínica, uma vez que o Transtorno de Humor Bipolar apresenta alta prevalência na população e o atraso no tratamento adequado causa sérios prejuízos na funcionalidade do paciente, além dos gastos gerados ao sistema de saúde. Estudos nesta área podem auxiliar, pelo menos em parte, no esclarecimento da fisiopatologia deste transtorno, bem como das alterações a nível periférico que possam estar envolvidas nos episódios depressivo Bipolar e Unipolar, com o objetivo de fornecer ao paciente um diagnóstico adequado, logo no início dos sintomas.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo principal

Pesquisar potenciais marcadores periféricos que possam auxiliar no diagnóstico diferencial dos Transtornos de Humor: Depressão Unipolar e Depressão Bipolar, visando o avanço das pesquisas nesta área e o aumento da qualidade de vida do paciente.

5.2 Objetivos secundários

- Análise do perfil da interleucina-2 (IL-2), Interleucina-4 (IL-4), Interleucina-6 (IL-6), Interleucina- 10 (IL-10), Fator de Necrose Tumoral (TNF), Interferon- γ (IFN- γ) e Interleucina-17A (IL-17A) em pacientes depressivos bipolares e unipolares, correlacionando com controles.

- Análise dos valores séricos de BDNF em pacientes depressivos bipolares e unipolares, correlacionando com controles.

- Análise dos danos a lipídeos e a proteínas nos três grupos estudados, para avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo.

- Comparação e análise dos parâmetros acima descritos para avaliação das diferenças de concentração nos grupos estudados, bem como avaliar estes parâmetros em relação à neurobiologia dos Transtornos depressivo Bipolar e Unipolar.

As dosagens e experimentos foram realizados no Laboratório de Psiquiatria Molecular, localizado no Centro de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO

1. Boland RJ, Keller MB. Course and outcome of depression. In: Gotlib IH, Hammen CL, editors. Handbook of Depression. 2 ed. New York; 2009. p. 23-43.
2. Carney RM, Freedland KE. Treatment-resistant depression and mortality after acute coronary syndrome. *Am J Psychiatry*. 2009 Apr;166(4):410-7.
3. Stensland MD, Schultz JF, Frytak JR. Depression diagnoses following the identification of bipolar disorder: costly incongruent diagnoses. *BMC Psychiatry*. 2010;10:39.
4. American Psychiatry Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Fourth, editor. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2000.
5. Connor TJ, Leonard BE. Biological markers for Depression. In: Preskorn SH, Feighner JP, Stanga C, Ross R, editors. Handbook of Experimental Pharmacology Antidepressants Past, Present and Future New York: Springer; 2004. p. 117–48.
6. Fernandes BS, Gama CS, Kauer-Sant'Anna M, Lobato MI, Belmonte-de-Abreu P, Kapczinski F. Serum brain-derived neurotrophic factor in bipolar and unipolar depression: a potential adjunctive tool for differential diagnosis. *J Psychiatr Res*. 2009 Oct;43(15):1200-4.
7. Domenici E, Muglia P. The search for peripheral disease markers in psychiatry by genomic and proteomic approaches. *Expert Opinion on Medical Diagnostics*. 2007;1(2):235-51.
8. Suppes T, Leverich GS, Keck PE, Nolen WA, Denicoff KD, Altshuler LL, et al. The Stanley Foundation Bipolar Treatment Outcome Network. II. Demographics and illness characteristics of the first 261 patients. *J Affect Disord*. 2001 Dec;67(1-3):45-59.
9. Cha B, Kim JH, Ha TH, Chang JS, Ha K. Polarity of the first episode and time to diagnosis of bipolar I disorder. *Psychiatry Investig*. 2009 Jun;6(2):96-101.

10. Baethge C, Smolka MN, Gruschka P, Berghofer A, Schlattmann P, Bauer M, et al. Does prophylaxis-delay in bipolar disorder influence outcome? Results from a long-term study of 147 patients. *Acta Psychiatr Scand*. 2003 Apr;107(4):260-7.
11. Blazer D. Mood disorders:epidemiology. In: Sadock B, Sadick V, editors. *Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry*. Seventh ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p. 1298-308.
12. Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 1997 May 17;349(9063):1436-42.
13. Weissman MM, Bland RC, Canino GJ, Faravelli C, Greenwald S, Hwu HG, et al. Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorder. *JAMA*. 1996 Jul 24-31;276(4):293-9.
14. Belmaker RH. Bipolar disorder. *N Engl J Med*. 2004 Jul 29;351(5):476-86.
15. Sasson Y, Chopra M, Harrari E, Amitai K, Zohar J. Bipolar comorbidity: from diagnostic dilemmas to therapeutic challenge. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2003 Jun;6(2):139-44.
16. Kupfer DJ. The increasing medical burden in bipolar disorder. *JAMA*. 2005 May 25;293(20):2528-30.
17. Brambilla P, Nicoletti MA, Harenski K, Sassi RB, Mallinger AG, Frank E, et al. Anatomical MRI study of subgenual prefrontal cortex in bipolar and unipolar subjects. *Neuropsychopharmacology*. 2002 Nov;27(5):792-9.
18. Lopez-Larson MP, DelBello MP, Zimmerman ME, Schwiers ML, Strakowski SM. Regional prefrontal gray and white matter abnormalities in bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2002 Jul 15;52(2):93-100.

19. Strakowski SM, Wilson DR, Tohen M, Woods BT, Douglass AW, Stoll AL. Structural brain abnormalities in first-episode mania. *Biol Psychiatry*. 1993 Apr 15-May 1;33(8-9):602-9.
20. Dewan MJ, Haldipur CV, Lane EE, Ispahani A, Boucher MF, Major LF. Bipolar affective disorder. I. Comprehensive quantitative computed tomography. *Acta Psychiatr Scand*. 1988 Jun;77(6):670-6.
21. Figiel GS, Krishnan KR, Rao VP, Doraiswamy M, Ellinwood EH, Jr., Nemeroff CB, et al. Subcortical hyperintensities on brain magnetic resonance imaging: a comparison of normal and bipolar subjects. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 1991 Winter;3(1):18-22.
22. Hauser P, Matochik J, Altshuler LL, Denicoff KD, Conrad A, Li X, et al. MRI-based measurements of temporal lobe and ventricular structures in patients with bipolar I and bipolar II disorders. *J Affect Disord*. 2000 Oct;60(1):25-32.
23. Harvey I, Persaud R, Ron MA, Baker G, Murray RM. Volumetric MRI measurements in bipolars compared with schizophrenics and healthy controls. *Psychol Med*. 1994 Aug;24(3):689-99.
24. Aylward EH, Roberts-Twillie JV, Barta PE, Kumar AJ, Harris GJ, Geer M, et al. Basal ganglia volumes and white matter hyperintensities in patients with bipolar disorder. *Am J Psychiatry*. 1994 May;151(5):687-93.
25. Bearden CE, Hoffman KM, Cannon TD. The neuropsychology and neuroanatomy of bipolar affective disorder: a critical review. *Bipolar Disord*. 2001 Jun;3(3):106-50; discussion 51-3.
26. Strakowski SM, Adler CM, Holland SK, Mills N, DelBello MP. A preliminary fMRI study of sustained attention in euthymic, unmedicated bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2004 Sep;29(9):1734-40.
27. Hashimoto K, Shimizu E, Iyo M. Critical role of brain-derived neurotrophic factor in mood disorders. *Brain Res Brain Res Rev*. 2004 May;45(2):104-14.

28. World Health Organization. The Global Burden of Disease: 2004 Update. Geneva: WHO Press; 2008 [cited].
29. Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. Neurobiology of depression. *Neuron*. 2002 Mar 28;34(1):13-25.
30. Fava M, Kendler KS. Major depressive disorder. *Neuron*. 2000 Nov;28(2):335-41.
31. Burmeister M. Basic concepts in the study of diseases with complex genetics. *Biol Psychiatry*. 1999 Mar 1;45(5):522-32.
32. Demyttenaere K, Bonnewyn A, Bruffaerts R, Brugha T, De Graaf R, Alonso J. Comorbid painful physical symptoms and depression: prevalence, work loss, and help seeking. *J Affect Disord*. 2006 Jun;92(2-3):185-93.
33. Barnes DE, Alexopoulos GS, Lopez OL, Williamson JD, Yaffe K. Depressive symptoms, vascular disease, and mild cognitive impairment: findings from the Cardiovascular Health Study. *Arch Gen Psychiatry*. 2006 Mar;63(3):273-9.
34. Campbell S, MacQueen G. An update on regional brain volume differences associated with mood disorders. *Curr Opin Psychiatry*. 2006 Jan;19(1):25-33.
35. Sheline YI, Gado MH, Kraemer HC. Untreated depression and hippocampal volume loss. *Am J Psychiatry*. 2003 Aug;160(8):1516-8.
36. Ressler KJ, Mayberg HS. Targeting abnormal neural circuits in mood and anxiety disorders: from the laboratory to the clinic. *Nat Neurosci*. 2007 Sep;10(9):1116-24.
37. aan het Rot M, Mathew SJ, Charney DS. Neurobiological mechanisms in major depressive disorder. *CMAJ*. 2009 Feb 3;180(3):305-13.
38. Holsboer F. The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology*. 2000 Nov;23(5):477-501.

39. Manji HK, Quiroz JA, Sporn J, Payne JL, Denicoff K, N AG, et al. Enhancing neuronal plasticity and cellular resilience to develop novel, improved therapeutics for difficult-to-treat depression. *Biol Psychiatry*. 2003 Apr 15;53(8):707-42.
40. de Kloet ER, Derijk RH, Meijer OC. Therapy Insight: is there an imbalanced response of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in depression? *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2007 Feb;3(2):168-79.
41. Parker KJ, Schatzberg AF, Lyons DM. Neuroendocrine aspects of hypercortisolism in major depression. *Horm Behav*. 2003 Jan;43(1):60-6.
42. Raison CL, Miller AH. When not enough is too much: the role of insufficient glucocorticoid signaling in the pathophysiology of stress-related disorders. *Am J Psychiatry*. 2003 Sep;160(9):1554-65.
43. Bibel M, Barde YA. Neurotrophins: key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system. *Genes Dev*. 2000 Dec 1;14(23):2919-37.
44. Chao MV, Rajagopal R, Lee FS. Neurotrophin signalling in health and disease. *Clin Sci (Lond)*. 2006 Feb;110(2):167-73.
45. Barde YA. The nerve growth factor family. *Prog Growth Factor Res*. 1990;2(4):237-48.
46. Tyler WJ, Alonso M, Bramham CR, Pozzo-Miller LD. From acquisition to consolidation: on the role of brain-derived neurotrophic factor signaling in hippocampal-dependent learning. *Learn Mem*. 2002 Sep-Oct;9(5):224-37.
47. Yamada K, Mizuno M, Nabeshima T. Role for brain-derived neurotrophic factor in learning and memory. *Life Sci*. 2002 Jan 4;70(7):735-44.
48. Walz JC, Andreazza AC, Frey BN, Cacilhas AA, Cereser KM, Cunha AB, et al. Serum neurotrophin-3 is increased during manic and depressive episodes in bipolar disorder. *Neurosci Lett*. 2007 Mar 19;415(1):87-9.

49. Walz JC, Magalhaes PV, Giglio LM, Cunha AB, Stertz L, Fries GR, et al. Increased serum neurotrophin-4/5 levels in bipolar disorder. *J Psychiatr Res.* 2009 Apr;43(7):721-3.
50. Sen S, Duman R, Sanacora G. Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. *Biol Psychiatry.* 2008 Sep 15;64(6):527-32.
51. Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry.* 2006 Jun 15;59(12):1116-27.
52. Shirayama Y, Chen AC, Nakagawa S, Russell DS, Duman RS. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *J Neurosci.* 2002 Apr 15;22(8):3251-61.
53. Lee HY, Kim YK. Plasma brain-derived neurotrophic factor as a peripheral marker for the action mechanism of antidepressants. *Neuropsychobiology.* 2008;57(4):194-9.
54. Murer MG, Yan Q, Raisman-Vozari R. Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Prog Neurobiol.* 2001 Jan;63(1):71-124.
55. Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors.* 2004 Sep;22(3):123-31.
56. Cattaneo E, Zuccato C, Tartari M. Normal huntingtin function: an alternative approach to Huntington's disease. *Nat Rev Neurosci.* 2005 Dec;6(12):919-30.
57. Russo-Neustadt AA, Chen MJ. Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant activity. *Curr Pharm Des.* 2005;11(12):1495-510.
58. Cunha AB, Frey BN, Andreazza AC, Goi JD, Rosa AR, Goncalves CA, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes. *Neurosci Lett.* 2006 May 8;398(3):215-9.

59. Irwin MR, Miller AH. Depressive disorders and immunity: 20 years of progress and discovery. *Brain Behav Immun*. 2007 May;21(4):374-83.
60. Aggarwal BB, Shishodia S, Sandur SK, Pandey MK, Sethi G. Inflammation and cancer: how hot is the link? *Biochem Pharmacol*. 2006 Nov 30;72(11):1605-21.
61. Ridker PM. Inflammatory biomarkers and risks of myocardial infarction, stroke, diabetes, and total mortality: implications for longevity. *Nutr Rev*. 2007 Dec;65(12 Pt 2):S253-9.
62. Miller AH, Maletic V, Raison CL. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol Psychiatry*. 2009 May 1;65(9):732-41.
63. Koo JW, Duman RS. IL-1beta is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Jan 15;105(2):751-6.
64. Koo JW, Russo SJ, Ferguson D, Nestler EJ, Duman RS. Nuclear factor-kappaB is a critical mediator of stress-impaired neurogenesis and depressive behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Feb 9;107(6):2669-74.
65. Gimeno D, Kivimaki M, Brunner EJ, Elovainio M, De Vogli R, Steptoe A, et al. Associations of C-reactive protein and interleukin-6 with cognitive symptoms of depression: 12-year follow-up of the Whitehall II study. *Psychol Med*. 2009 Mar;39(3):413-23.
66. Simon NM, McNamara K, Chow CW, Maser RS, Papakostas GI, Pollack MH, et al. A detailed examination of cytokine abnormalities in Major Depressive Disorder. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2008 Mar;18(3):230-3.
67. Ortiz-Dominguez A, Hernandez ME, Berlanga C, Gutierrez-Mora D, Moreno J, Heinze G, et al. Immune variations in bipolar disorder: phasic differences. *Bipolar Disord*. 2007 Sep;9(6):596-602.

68. Lanquillon S, Krieg JC, Bening-Abu-Shach U, Vedder H. Cytokine production and treatment response in major depressive disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2000 Apr;22(4):370-9.
69. Kim HJ, Rowe M, Ren M, Hong JS, Chen PS, Chuang DM. Histone deacetylase inhibitors exhibit anti-inflammatory and neuroprotective effects in a rat permanent ischemic model of stroke: multiple mechanisms of action. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007 Jun;321(3):892-901.
70. O'Brien SM, Scully P, Scott LV, Dinan TG. Cytokine profiles in bipolar affective disorder: focus on acutely ill patients. *J Affect Disord*. 2006 Feb;90(2-3):263-7.
71. Brietzke E, Stertz L, Fernandes BS, Kauer-Sant'anna M, Mascarenhas M, Escosteguy Vargas A, et al. Comparison of cytokine levels in depressed, manic and euthymic patients with bipolar disorder. *J Affect Disord*. 2009 Aug;116(3):214-7.
72. Wang JF, Shao L, Sun X, Young LT. Increased oxidative stress in the anterior cingulate cortex of subjects with bipolar disorder and schizophrenia. *Bipolar Disord*. 2009 Aug;11(5):523-9.
73. Andreazza AC, Cassini C, Rosa AR, Leite MC, de Almeida LM, Nardin P, et al. Serum S100B and antioxidant enzymes in bipolar patients. *J Psychiatr Res*. 2007 Sep;41(6):523-9.
74. Gama CS, Salvador M, Andreazza AC, Kapczinski F, Silva Belmonte-de-Abreu P. Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in schizophrenia: a study of patients treated with haloperidol or clozapine. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2006 May;30(3):512-5.
75. Mahadik SP, Evans D, Lal H. Oxidative stress and role of antioxidant and omega-3 essential fatty acid supplementation in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2001 Apr;25(3):463-93.

76. Mahadik SP, Mukherjee S, Scheffer R, Correnti EE, Mahadik JS. Elevated plasma lipid peroxides at the onset of nonaffective psychosis. *Biol Psychiatry*. 1998 May 1;43(9):674-9.
77. Bilici M, Efe H, Koroglu MA, Uydu HA, Bekaroglu M, Deger O. Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression: alterations by antidepressant treatments. *J Affect Disord*. 2001 Apr;64(1):43-51.
78. Sarandol A, Sarandol E, Eker SS, Erdinc S, Vatansever E, Kirli S. Major depressive disorder is accompanied with oxidative stress: short-term antidepressant treatment does not alter oxidative-antioxidative systems. *Hum Psychopharmacol*. 2007 Mar;22(2):67-73.
79. Machado-Vieira R, Andreazza AC, Viale CI, Zanatto V, Cereser V, Jr., da Silva Vargas R, et al. Oxidative stress parameters in unmedicated and treated bipolar subjects during initial manic episode: a possible role for lithium antioxidant effects. *Neurosci Lett*. 2007 Jun 21;421(1):33-6.
80. Andreazza AC, Kauer-Sant'anna M, Frey BN, Bond DJ, Kapczinski F, Young LT, et al. Oxidative stress markers in bipolar disorder: a meta-analysis. *J Affect Disord*. 2008 Dec;111(2-3):135-44.
81. Shao L, Young LT, Wang JF. Chronic treatment with mood stabilizers lithium and valproate prevents excitotoxicity by inhibiting oxidative stress in rat cerebral cortical cells. *Biol Psychiatry*. 2005 Dec 1;58(11):879-84.
82. Fuster JM. Frontal lobe and cognitive development. *J Neurocytol*. 2002 Mar-Jun;31(3-5):373-85.
83. Heilman KM, Gilmore RL. Cortical influences in emotion. *J Clin Neurophysiol*. 1998 Sep;15(5):409-23.
84. Rajkowska G, Halaris A, Selemon LD. Reductions in neuronal and glial density characterize the dorsolateral prefrontal cortex in bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2001 May 1;49(9):741-52.

85. Ng F, Berk M, Dean O, Bush AI. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2008 Sep;11(6):851-76.
86. Cumurcu BE, Ozyurt H, Etikan I, Demir S, Karlidag R. Total antioxidant capacity and total oxidant status in patients with major depression: impact of antidepressant treatment. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2009 Oct;63(5):639-45.
87. Berlett BS, Levine RL, Stadtman ER. Carbon dioxide stimulates peroxynitrite-mediated nitration of tyrosine residues and inhibits oxidation of methionine residues of glutamine synthetase: both modifications mimic effects of adenylation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Mar 17;95(6):2784-9.
88. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*. 1990;186:464-78.
89. Ozcan ME, Gulec M, Ozerol E, Polat R, Akyol O. Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. *Int Clin Psychopharmacol*. 2004 Mar;19(2):89-95.
90. Ranjekar PK, Hinge A, Hegde MV, Ghate M, Kale A, Sitasawad S, et al. Decreased antioxidant enzymes and membrane essential polyunsaturated fatty acids in schizophrenic and bipolar mood disorder patients. *Psychiatry Res*. 2003 Dec 1;121(2):109-22.
91. Kuloglu M, Ustundag B, Atmaca M, Canatan H, Tezcan AE, Cinkilinc N. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Cell Biochem Funct*. 2002 Jun;20(2):171-5.
92. Kodydkova J, Vavrova L, Zeman M, Jirak R, Macasek J, Stankova B, et al. Antioxidative enzymes and increased oxidative stress in depressive women. *Clin Biochem*. 2009 Sep;42(13-14):1368-74.
93. Frey BN, Andreazza AC, Kunz M, Gomes FA, Quevedo J, Salvador M, et al. Increased oxidative stress and DNA damage in bipolar disorder: a twin-case report. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007 Jan 30;31(1):283-5.

94. Blumberg HP, Kaufman J, Martin A, Whiteman R, Zhang JH, Gore JC, et al. Amygdala and hippocampal volumes in adolescents and adults with bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2003 Dec;60(12):1201-8.
95. McDonald C, Marshall N, Sham PC, Bullmore ET, Schulze K, Chapple B, et al. Regional brain morphometry in patients with schizophrenia or bipolar disorder and their unaffected relatives. *Am J Psychiatry*. 2006 Mar;163(3):478-87.
96. Strakowski SM, Delbello MP, Adler CM. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimaging findings. *Mol Psychiatry*. 2005 Jan;10(1):105-16.
97. Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Merikangas KR, Walters EE. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry*. 2005 Jun;62(6):593-602.
98. Wade TJ, Cairney J. Major depressive disorder and marital transition among mothers: results from a national panel study. *J Nerv Ment Dis*. 2000 Nov;188(11):741-50.
99. Joormann J, Gotlib IH. Updating the contents of working memory in depression: interference from irrelevant negative material. *J Abnorm Psychol*. 2008 Feb;117(1):182-92.
100. Kessler RC, Akiskal HS, Ames M, Birnbaum H, Greenberg P, Hirschfeld RM, et al. Prevalence and effects of mood disorders on work performance in a nationally representative sample of U.S. workers. *Am J Psychiatry*. 2006 Sep;163(9):1561-8.
101. Hirschfeld RM, Calabrese JR, Weissman MM, Reed M, Davies MA, Frye MA, et al. Screening for bipolar disorder in the community. *J Clin Psychiatry*. 2003 Jan;64(1):53-9.
102. Cassano GB, Dell'Osso L, Frank E, Miniati M, Fagiolini A, Shear K, et al. The bipolar spectrum: a clinical reality in search of diagnostic criteria and an assessment methodology. *J Affect Disord*. 1999 Aug;54(3):319-28.
103. Evans DL. Bipolar disorder: diagnostic challenges and treatment considerations. *J Clin Psychiatry*. 2000;61 Supp 13:26-31.

104. Conus P, Ward J, Hallam KT, Lucas N, Macneil C, McGorry PD, et al. The proximal prodrome to first episode mania--a new target for early intervention. *Bipolar Disord*. 2008 Jul;10(5):555-65.
105. Yung AR, McGorry PD, Francey SM, Nelson B, Baker K, Phillips LJ, et al. PACE: a specialised service for young people at risk of psychotic disorders. *Med J Aust*. 2007 Oct 1;187(7 Suppl):S43-6.
106. Judd LL, Akiskal HS, Schettler PJ, Endicott J, Maser J, Solomon DA, et al. The long-term natural history of the weekly symptomatic status of bipolar I disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2002 Jun;59(6):530-7.
107. Perugi G, Micheli C, Akiskal HS, Madaro D, Socci C, Quilici C, et al. Polarity of the first episode, clinical characteristics, and course of manic depressive illness: a systematic retrospective investigation of 320 bipolar I patients. *Compr Psychiatry*. 2000 Jan-Feb;41(1):13-8.
108. Sachs GS, Nierenberg AA, Calabrese JR, Marangell LB, Wisniewski SR, Gyulai L, et al. Effectiveness of adjunctive antidepressant treatment for bipolar depression. *N Engl J Med*. 2007 Apr 26;356(17):1711-22.
109. Mitchell PB, Malhi GS. Bipolar depression: phenomenological overview and clinical characteristics. *Bipolar Disord*. 2004 Dec;6(6):530-9.
110. Moretti M, Valvassori SS, Varela RB, Ferreira CL, Rochi N, Benedet J, et al. Behavioral and neurochemical effects of sodium butyrate in an animal model of mania. *Behav Pharmacol*. 2011 Oct 10.
111. Forty L, Smith D, Jones L, Jones I, Caesar S, Cooper C, et al. Clinical differences between bipolar and unipolar depression. *Br J Psychiatry*. 2008 May;192(5):388-9.
112. Kapczinski F, Vieta E, Andreazza AC, Frey BN, Gomes FA, Tramontina J, et al. Allostatic load in bipolar disorder: implications for pathophysiology and treatment. *Neurosci Biobehav Rev*. 2008;32(4):675-92.

7. ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS

Evaluation of Peripheral Biomarkers in Bipolar and Unipolar Depression

Bianca Wollenhaupt de Aguiar^{1,2,5}, Renan Kubiachi Burque^{1,2}, Laura Stertz^{1,2,7}, Keila Mendes Ceresér^{1,2}, Lucas Spanemberg^{3,6}, Marco Antônio Knob Caldieraro^{3,6}, Marcelo Pio de Almeida Fleck^{3,4}, Maurício Kunz^{1,2}, Márcia Kauer-Sant'Anna^{1,2}, Flávio Kapczinski^{1,2,4}.

Artigo submetido ao Journal of Psychiatric Research

Evaluation of Peripheral Biomarkers in Bipolar and Unipolar Depression

Bianca Wollenhaupt de Aguiar^{1,2,5}, Renan Kubiachi Burque^{1,2}, Laura Stertz^{1,2,7}, Keila Mendes Ceresér^{1,2}, Lucas Spanemberg^{3,6}, Marco Antônio Knob Caldieraro^{3,6}, Marcelo Pio de Almeida Fleck^{3,4}, Maurício Kunz^{1,2}, Márcia Kauer-Sant'Anna^{1,2}, Flávio Kapczinski^{1,2,4},

¹INCT Translational Medicine, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

²Bipolar Disorders Program and Laboratory of Molecular Psychiatry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

³ Mood Disorders Program, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

⁴Department of Legal Medicine and Psychiatry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

⁵Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

⁶Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

⁷Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

Corresponding Author:

Bianca Wollenhaupt de Aguiar

Laboratory of Molecular Psychiatry, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Ramiro Barcelos, 2350, Prédio Anexo

Telephone number: +55 51 33598845

Fax number: +55 51 33598846

Email: biancawaguiar@gmail.com

CEP 90035-903, Porto Alegre, RS, Brazil

Word count of the abstract: 240

Word count of the body of the manuscript: 1976

Abstract

Recent studies have suggested that oxidative stress, neurotrophic factors and the immune system are involved in the pathophysiology of mood disorders. However, few studies have compared these biomarkers in different disorders. In order to investigate the involvement of peripheral markers in patients with unipolar and bipolar depression, we measured serum levels of BDNF, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, IFN- γ , IL-17A, damage to lipids and proteins in 54 outpatients with bipolar disorder, 54 outpatients with unipolar depression and 54 healthy controls. Depressive symptoms were assessed using the Hamilton Depression Rating Scale (HDRS). We found increased levels of interleukin-6 in both groups compared to controls ($p = 0.020$ and $p = 0.001$, respectively), as well as increased damage to proteins in unipolar patients ($p = 0.003$). There were no changes in BDNF levels in both groups of patients ($p = 0.295$) as well as no changes in the content of lipid peroxidation ($p = 0.860$). A positive correlation was found between the values of HDRS and protein carbonyl levels ($r = 0.291$, $p = 0.036$) in bipolar patients. To our knowledge, this is one of the first studies to evaluate different peripheral markers between patients with unipolar and bipolar depression. Our results indicate the involvement of oxidative stress and an immune system dysfunction in depressed patients; however, the markers evaluated here were not suitable to differentiate unipolar and bipolar depressive disorders. More studies with larger samples are warranted to validate these findings.

Key Words: unipolar depression, bipolar depression, damage to proteins, IL-6, peripheral biomarkers.

Introduction

Mood disorders such as major depression and bipolar disorder are among the main contributors to the global burden of illness according to the World Health Organization (Collins, P Y et al., 2011). The National Comorbidity Survey Replication estimates that about 16% of the population will experience a depressive episode at least once during their lifetime (Kessler, R C et al., 2005), and other studies have shown that most of them will present high recurrence rates (Boland, R J & Keller, M B, 2009).

Differential diagnosis of bipolar depression and unipolar depression often represents a challenge due to the high degree of overlapping symptoms and difficulty in obtaining clinical information about previous hypomanic/manic symptoms. According to a study of Stensland et al in 2010, a significant proportion of individuals diagnosed with bipolar disorder will also receive an incongruent diagnosis of unipolar depression, resulting in increased treatment costs (Stensland, M D et al., 2010).

Currently available data on the neurobiology of mood disorders suggests the occurrence of not only overlapping abnormalities between unipolar and bipolar disorders, but also different patterns between them (Konarski, J Z et al., 2008). Studies in depressed patients have looked into several biomarkers based on different assumptions about the pathophysiology of these disorders, such as immune and inflammatory dysfunction, as well as alterations in oxidative stress and neuroplasticity (Domenici, E & Muglia, P, 2007; Fernandes, B S et al., 2009). However, a peripheral biomarker that could assist in the differential diagnosis between patients has not yet been established (Connor, T J & Leonard, B E, 2004).

Therefore, this study aims to compare different biochemical parameters, including inflammatory markers, markers of oxidative stress and neurotrophins, in the serum of bipolar and unipolar depressed patients in order to elucidate the possible differences between unipolar and bipolar depression.

Methods

Patients

We selected a total of 54 patients with bipolar depression and 54 patients with unipolar depression. Subjects with bipolar depression were recruited at the Bipolar Disorders Program (PROTAHBI) and patients with unipolar depression at the Mood Disorders Program (PROTHUM), both outpatient programs of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Brazil. We also recruited a total of 54 healthy controls with no previous history of psychiatric illness as well as no history of psychiatric or neurologic disorders in first degree relatives. All three groups were paired according to age and gender. Exclusion criteria included history of autoimmune diseases or a history of chronic infection/inflammatory disorders, as well as any severe systemic disease or use of immunosuppressive therapy.

The diagnosis of bipolar disorder and unipolar depression were performed according to the diagnostic criteria of DSM-IV-Axis I (SCID-I). Depressive symptoms were evaluated using the Hamilton Depression Rating Scale - HDRS (Hamilton, M, 1960).

The ethics committee of HCPA approved this protocol and all subjects provided their written informed consent before inclusion in the study. All experiments were performed at the Laboratory of Molecular Psychiatry, HCPA.

Collection and processing of blood

Ten milliliters of blood were collected from each patient and control included in the study by venipuncture into a free-anticoagulant vacuum tube. Immediately after the withdrawal, the blood was centrifuged at 4000rpm for 10 minutes and serum was aliquoted, labeled and stored at -80°C until assayed.

Cytokine assay

The concentration of serum cytokines was determined by flow cytometry using the BD™ Cytometric Bead Array (CBA) Th1/Th2/Th17 Human Cytokine kit (BD Biosciences, San Diego, CA). The CBA kit employed allows the discrimination of the following cytokines: interleukin-2 (IL-2), interleukin-4 (IL-4), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interferon- γ (IFN- γ) and interleukin-17A (IL-17A). Sample processing and data analysis were performed following the manufacturer's guidelines. Briefly, serum samples were incubated with the seven cytokine capture beads for 1.5 h, then washed and incubated for more 1.5 h with PE-conjugated detection antibodies, both incubations at room temperature and protected from light. Afterwards, samples were washed and sample data were acquired using a FACSCalibur flow cytometer (BD Biosciences, San Diego, CA). Results were generated in graphical and tabular format using the BD CBA Analysis Software FCAP Array™ (BD Biosciences, San Diego, CA).

BDNF measurement

Serum concentrations of BDNF were measured by sandwich-ELISA assay using monoclonal antibodies specific for BDNF from R&D Systems (Minneapolis, Minnesota). Human BDNF MAb (Clone 37129), a mouse IgG2a, was used as the capture antibody, and the human BDNF biotinylated MAb (Clone 37141), a mouse IgG2a, was used as the detection antibody. Briefly, microtiter plates (96-well flat-bottom) were coated overnight at room temperature (RT) with the monoclonal anti-BDNF antibody at 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in PBS. Then, plates were washed with wash buffer (PBS, pH 7.4, with 0.05% Tween 20) and were blocked for 1 hour at RT with PBS containing 5% nonfat milk powder. After washing, plates were coated for 2 hours with the samples diluted 1:200 in sample diluent (PBS with 1% bovine serum albumin) and standard curve ranged from 7.8 to 500 pg/mL of BDNF. Plates were washed and a biotinylated anti-BDNF antibody (0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$) was added, which was incubated for 2

hours. After washing, incubation with streptavidin-peroxidase conjugate (diluted 1:200 in sample diluent) for 20 min at room temperature was performed. Afterwards, plates were washed and incubated with a substrate solution, followed by stop solution (H₂SO₄ 1M). After 20min of incubation, the amount of BDNF was determined by absorbance at 450 nm with correction at 540 nm. The standard curve demonstrated a direct relationship between optical density (OD) and BDNF concentration.

Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) assay

The levels of lipid peroxidation were measured by the method of TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) using the TBARS assay kit (Cayman Chemical Company, Ann Arbor), according to the manufacturer's instructions. In this method, the quantification of lipid peroxidation products is performed by plasma formation of substances reacting to thiobarbituric acid, which is the analysis of the final products of lipid peroxidation (lipid peroxides, malondialdehyde and other aldehydes of low molecular weight) that the react with 2-thiobarbituric acid (TBA) form Schiff bases. These complexes exhibit color and its concentration can be determined spectrophotometrically at 535 nm. The results are expressed in μ M of MDA.

Protein Carbonyl Content (PCC)

Oxidative damage to proteins were analyzed by the determination of carbonyl groups (PCC method - carbonyl content in proteins), as previously described by Levine and colleagues (Levine, R L et al., 1990). This method is based on the reaction of carbonyl groups of proteins with dinitrophenylhydrazine reagent (DNPH) to form Schiff bases that absorb at 380nm wavelength. Analyses were performed in serum samples and the values expressed in nmol/mg of protein.

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using Statistical Product and Service Solutions (SPSS) Version 18.0. The normality of data distribution was assessed with the Shapiro-Wilk test (Shapiro, S S & Wilk, M B, 1965). One-way ANOVA followed by Tukey post-hoc test was used for comparison of parametric variables, and the Kruskal-Wallis test was used for non-parametric variables.

The quantitative variables were expressed as mean \pm standard deviation or median and interquartiles [25-75 percentiles] according to the samples' distribution. In all experiments, p values less than 0.05 were considered to indicate statistical significance.

Results

A total of 54 patients with bipolar depression and 54 patients with unipolar depression were enrolled and matched with 54 healthy controls. Demographic and clinical variables are presented in Table 1. There were no significant differences regarding degree of depressive symptoms (HDRS scores) and duration of illness between the two groups of patients. All patients were in use of psychiatric medications (mood stabilizers, antipsychotics, benzodiazepines and/or antidepressants). More than 50% of individuals with bipolar depression were using the mood stabilizer lithium, while over 90% of patients with unipolar depression were taking antidepressants.

We found a significant increment of IL-6 serum levels (Figure 1) in both groups of patients, bipolar depression and unipolar depression, when compared to the control group ($p=0,020$ and $p=0,001$, respectively). We also found increased levels of IL-4 in patients with bipolar depression when compared to control groups (Figure 2, $p=0,012$). All other inflammatory markers (IL-2, IL-10, TNF- α , IFN- γ and IL-17A) presented no significant differences, see table 2 for serum levels according the groups.

Protein carbonyl levels were increased in unipolar patients when compared to controls ($p=0,003$, figure 3). However, the content of lipids peroxidation (TBARS) did not significantly differ between groups ($p=0,860$, Figure 4). In addition, there were no significant differences in BDNF levels in either group of patients, $p=0,295$ (figure 5). We also investigated correlations between biochemical markers and certain clinical variables (age of onset; time of illness; HDRS; number of previous depressive episodes). There was a positive correlation between HDRS and carbonyl levels ($r=0,291$; $p=0,036$) in bipolar depression patients (figure 6). All other correlations were not significant.

Discussion

In this study we analyzed different biochemical parameters in a sample of bipolar depressed patients and patients with major depression compared to healthy subjects. We found that damage to proteins, measured by the protein carbonyl levels, is increased in patients with unipolar depression, confirming previous data that suggest the involvement of oxidative stress in the pathophysiology of depression (Ng, F et al., 2008). The positive correlation between depressive symptoms and protein damage in patients with bipolar depression also supports this idea. However, lipid peroxidation levels showed no significant differences when compared to controls.

Our results also demonstrate that increased levels of IL-6 are present in both bipolar and unipolar depression. IL-6 is part of the group of pro-inflammatory cytokines and has been associated with depressive behavior in animal models and in patients with depression (Gimeno, D et al., 2009; Simon, N M et al., 2008). The concentration of IL-4, an anti-inflammatory cytokine, was also elevated in patients with bipolar disorder, which is consistent with studies that suggest an imbalance between the pro-inflammatory and anti-inflammatory state in bipolar disorder (Ortiz-Dominguez, A et al., 2007). Other inflammatory cytokines, however, were not significantly different among the three groups. BDNF levels were also not different in comparison to controls and bipolar and unipolar depression.

Our study presents some limitations. First, the sample size may have restricted the ability to detect smaller effect sizes. In addition, its design does not allow an assessment of the impact of different treatments on peripheral markers due to the fact that all patients were chronically medicated, and medications significantly differed between groups.

According to the studies, the chronic use of antidepressants and mood stabilizers may upregulate the expression of different neurotrophic factors such as BDNF, both in humans and in animal models (Frey, B N, Andreazza, A C et al., 2006; Shimizu, E et al., 2003), and decrease damage by lipid peroxidation in patients with mood disorders (Frey, B N et al., 2007; Frey, B N, Valvassori, S S et al., 2006), leading to a normalization of TBARS after treatment with mood stabilizers. In this context it is important to note that patients enrolled in our study are patients from tertiary care, chronically medicated, which could be associated with the lack of significant differences in the lipid peroxidation and BDNF levels observed in these patients.

Our data suggest that symptoms of depression in unipolar and bipolar disorders may have certain similarities at the peripheral level. As far as we can estimate, the markers evaluated here do not represent a possibility of differentiating between these diagnoses. Therefore, more studies should be conducted with a larger sample to clarify these differences.

Finally, our study supports the notion that increased damage to proteins due to oxidative damage and increased levels of pro-inflammatory IL-6 are related to the pathophysiology of mood disorders. However, we did not find significant differences between bipolar and unipolar depression for any of the examined peripheral biomarkers. Nonetheless, this one of the few studies that directly compared biomarkers of inflammation, neuroplasticity and oxidative stress between the two disorders. Other studies are necessary to clarify potential differences, given the important implications these might bring for the treatment and clinical management of depressive syndromes.

References

- Boland RJ, Keller MB. Course and outcome of depression. In I. H. Gotlib, & C. L. Hammen (Eds.), *Handbook of Depression*. New York, 2009. p. 23-43.
- Collins PY, Patel V, Joestl SS, March D, Insel TR, Daar AS, Anderson W, Dhansay MA, Phillips A, Shurin S, Walport M, Ewart W, Savill SJ, Bordin IA, Costello EJ, Durkin M, Fairburn C, Glass RI, Hall W, Huang Y, Hyman SE, Jamison K, Kaaya S, Kapur S, Kleinman A, Ogunniyi A, Otero-Ojeda A, Poo MM, Ravindranath V, Sahakian BJ, Saxena S, Singer PA, Stein DJ. Grand challenges in global mental health. *Nature* 2011; 475:27-30.
- Connor TJ, Leonard BE. Biological markers for Depression. In Preskorn SH, Feighner JP, Stanga C, Ross R (Eds.). *Handbook of Experimental Pharmacology. Antidepressants. Past, Present and Future* New York: Springer, 2004. p. 117–148.
- Domenici E, Muglia P. The search for peripheral disease markers in psychiatry by genomic and proteomic approaches. *Expert Opinion on Medical Diagnostics* 2007; 1:235-251.
- Fernandes BS, Gama CS, Kauer-Sant'Anna M, Lobato MI, Belmonte-de-Abreu P, Kapczinski F. Serum brain-derived neurotrophic factor in bipolar and unipolar depression: a potential adjunctive tool for differential diagnosis. *Journal of Psychiatric Research* 2009; 43:1200-1204.
- Frey BN, Andreazza AC, Cereser KM, Martins MR, Valvassori SS, Reus GZ, Quevedo J, Kapczinski F. Effects of mood stabilizers on hippocampus BDNF levels in an animal model of mania. *Life Sciences* 2006; 79:281-286.
- Frey BN, Andreazza AC, Kunz M, Gomes FA, Quevedo J, Salvador M, Goncalves CA, Kapczinski F. Increased oxidative stress and DNA damage in bipolar disorder: a twin-case report. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry* 2007; 31:283-285.

- Frey BN, Valvassori SS, Reus GZ, Martins MR, Petronilho FC, Bardini K, Dal-Pizzol F, Kapczinski F, Quevedo J. Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 2006; 31:326-332.
- Gimeno D, Kivimaki M, Brunner EJ, Elovainio M, De Vogli R, Steptoe A, Kumari M, Lowe GD, Rumley A, Marmot MG, Ferrie JE. Associations of C-reactive protein and interleukin-6 with cognitive symptoms of depression: 12-year follow-up of the Whitehall II study. *Psychological Medicine* 2009; 39:413-423.
- Hamilton M. A rating scale for depression. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 1960; 23:56–62.
- Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Merikangas KR, Walters EE. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Archives of General Psychiatry* 2005; 62:593-602.
- Konarski JZ, McIntyre RS, Kennedy SH, Rafi-Tari S, Soczynska JK, Ketter T. A. Volumetric neuroimaging investigations in mood disorders: bipolar disorder versus major depressive disorder. *Bipolar Disorders* 2008; 10:1-37.
- Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology* 1990; 186:464-478.
- Ng F, Berk M, Dean O, Bush AI. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 2008; 11:851-876.
- Ortiz-Dominguez A, Hernandez ME, Berlanga C, Gutierrez-Mora D, Moreno J, Heinze G, Pavon L. Immune variations in bipolar disorder: phasic differences. *Bipolar Disorders* 2007; 9:596-602.

- Shapiro SS, Wilk MB. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 1965; 52:591-611.
- Shimizu E, Hashimoto K, Okamura N, Koike K, Komatsu N, Kumakiri C, Nakazato M, Watanabe H, Shinoda N, Okada S, Iyo M. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biological Psychiatry* 2003; 54:70-75.
- Simon NM, McNamara K, Chow CW, Maser RS, Papakostas GI, Pollack MH, Nierenberg AA, Fava M, Wong KK. A detailed examination of cytokine abnormalities in Major Depressive Disorder. *European Neuropsychopharmacology* 2008; 18: 230-233.
- Stensland MD, Schultz JF, Frytak JR. Depression diagnoses following the identification of bipolar disorder: costly incongruent diagnoses. *BMC Psychiatry* 2010; 10:39.

Table 1. Sociodemographic and Clinical Variables of the Bipolar, Unipolar and control groups

	Control n=54	Bipolar Depression n=54	Unipolar Depression n=54	p value
Age (years)	48(42; 53.25)	50(41.75;53.25)	49 (43; 53.25)	.882 ^a
Female sex	40	41	42	.904 ^b
HDRS score	n/a	21 (15.75; 24.25)	19 (15; 23)	.150 ^a
Time of illness (years)	n/a	16 (7.75; 30.25)	11 (5; 28)	.176 ^a
Proportion on				
Lithium	0	55,5%	14,8%	<0.001 ^b
Other mood stabilizers	0	48,1%	40,7%	.164 ^b
Antipsychotics	0	37%	22,22%	.130 ^b
Antidepressants	0	18,5%	90%	<0.001 ^b
Benzodiazepines	0	38,8%	0%	<0.001 ^b

* HDRS - Hamilton Depression Rating Scale; MAOIs- Monoamine oxidase inhibitors; TCAs- Tricyclic antidepressants, SSRI- Selective serotonin re-uptake inhibitors ^a= Kruskal-Wallis, ^b= Fisher's exact test. Columns show median ± interquartile range (25th and 75th percentiles) for all categories except female sex and medications. Data is presented % (N) for categorical variables.

Table 2. Serum markers according to the groups

	Control	Bipolar Depression	Unipolar Depression	P Value
BDNF	25.1±7.7	25.9±8.5	27.4±7.1	.295
TBARS	10.27 (8.27; 12.27)	10.27(7.27; 14.9)	10.27(8.7; 12.9)	.860
PCC	0.04(0.02; 0.06) ^b	0.05(0.03; 0.07) ^{ab}	0.06(0.03; 0.08) ^a	.005
IL-2	0.26 (0.21;0.3)	0.26(0.22; 0.29)	0.26(0.23; 0.33)	.530
IL-4	0.64(0.57; 0.78) ^b	0.78(0.65; 0.86) ^a	0.66(0.55; 0.81) ^{ab}	.012
IL-6	0.87(0.53; 1.23) ^b	1.13(0.8; 1.76) ^a	1.34(0.89; 1.91) ^a	.001
IL-10	0.37(0.25; 0.5)	0.4(0.3; 0.5)	0.35(0.23; 0.52)	.379
TNFα	0.98(0.88;1.2)	0.98(0.9; 1.12)	0.94(0.84; 1.10)	.204
IFN	1.64(1.5; 1.8)	1.62(1.44; 1.88)	1.66(1.5; 1.9)	.672
IL-17	12.8(6.2; 23.3)	8.6(5.89; 15.7)	8.13(4.8; 16.8)	.172

BDNF=Displayed as mean \pm standard deviation; other variables displayed as median and interquartile range. Different letters in the same row indicates significant difference between groups at $P < 0.05$ according one-way ANOVA test (for BDNF) or Kruskal Wallis test, for others variables. BDNF - brain derived neurotrophic factor; TBARS - thiobarbituric acid reactive substances; PCC - protein carbonyl content; IL-2 - interleukin 2; IL-4 - interleukin 4; IL-6 - interleukin 6; IL-10 - interleukin 10, IL-17 - interleukin 17; TNF α - tumor necrosis factor α .

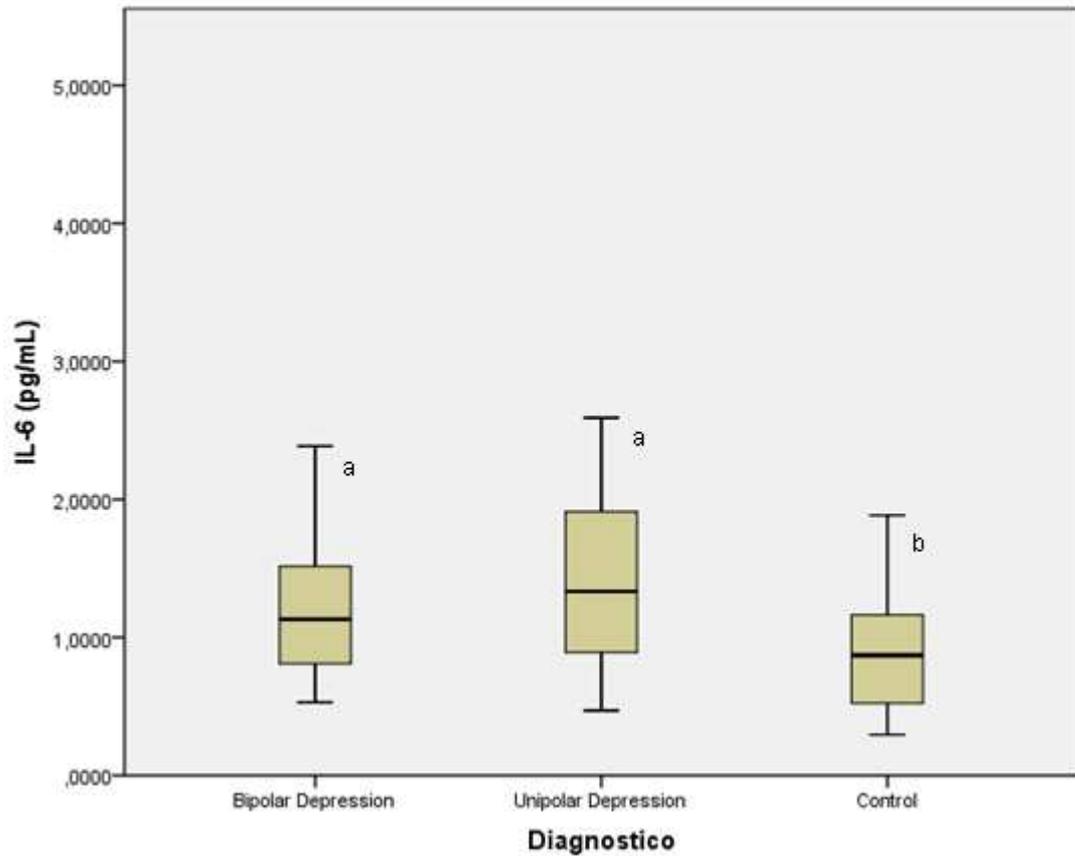


Figure 1. Serum levels of IL-6 in bipolar and unipolar patients compared to the control group. Different letters indicate significant difference between groups at $p < 0.05$ according Kruskal Wallis test. Patients with bipolar depression and controls ($p= 0,020$). Patients with unipolar depression and the control group ($p=0,001$)

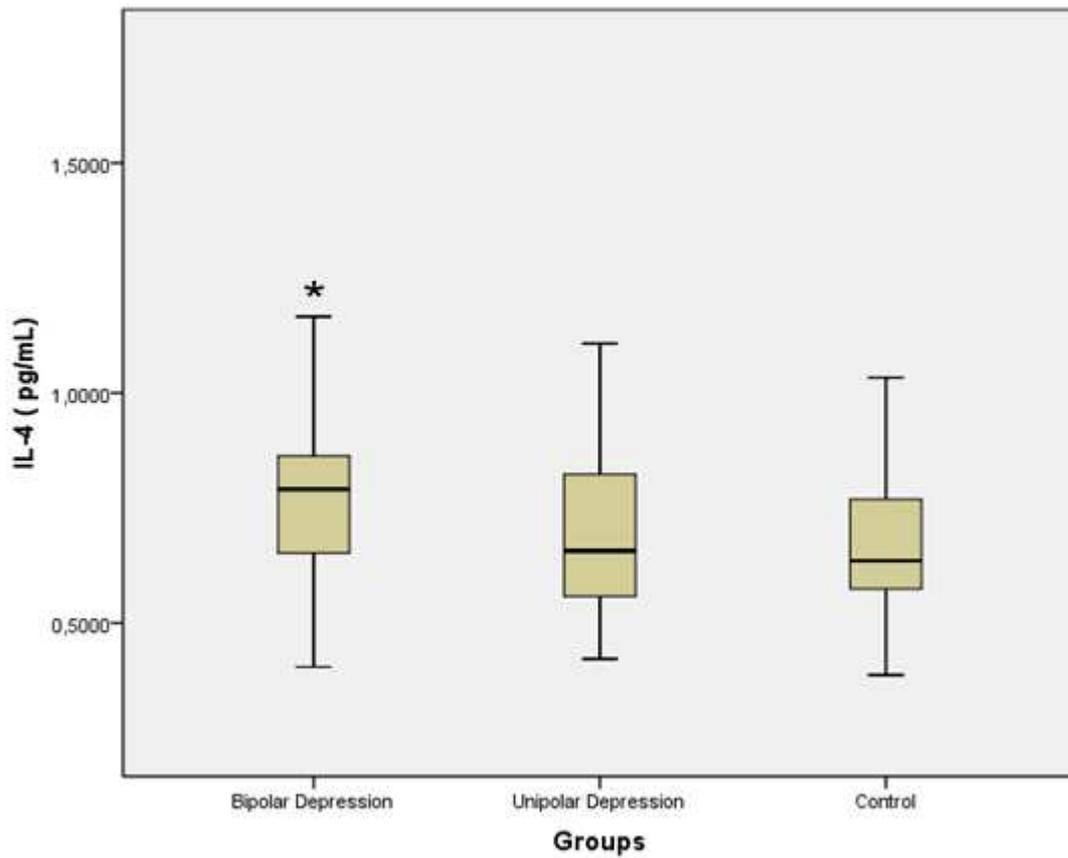


Figure 2. Serum levels of Interleukin-4 in bipolar patients compared to the control group and to the unipolar group. * =Significative difference between patients with bipolar depression and controls ($p=0,012$). Kruskal-Wallis test.

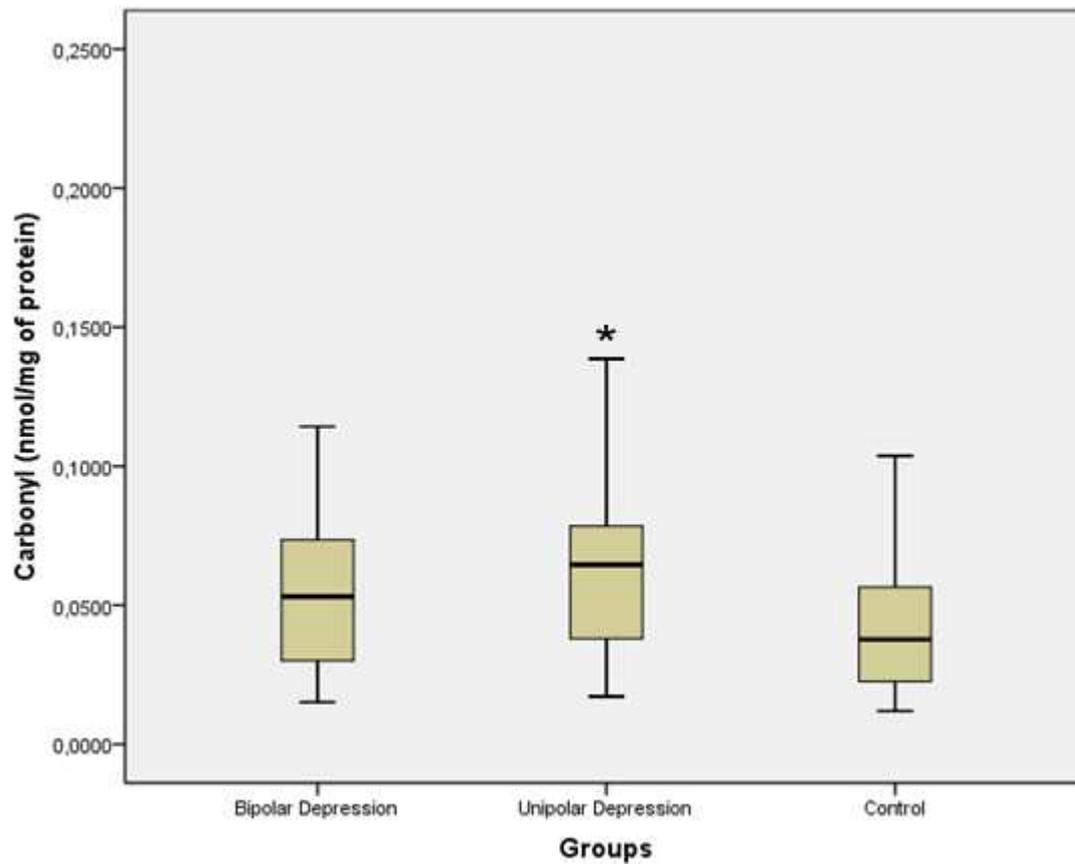


Figure 3. Serum levels of protein carbonyl content in unipolar patients compared to the control group and to the bipolar group. * = Significant Difference between patients with unipolar depression and controls ($p= 0,003$). Kruskal-Wallis test.

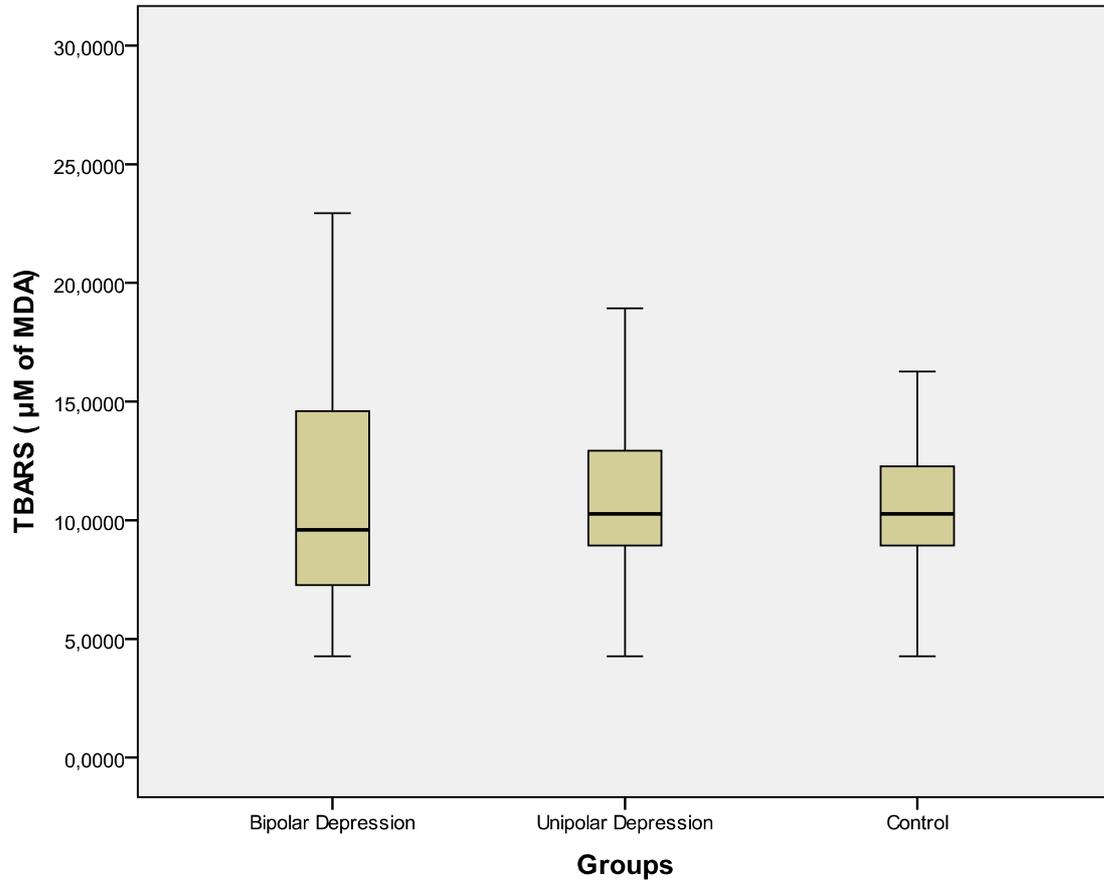


Figure 4. Serum levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in unipolar and bipolar patients compared to the control group. In the TBARS assay were no significant difference between groups ($p=0.860$).

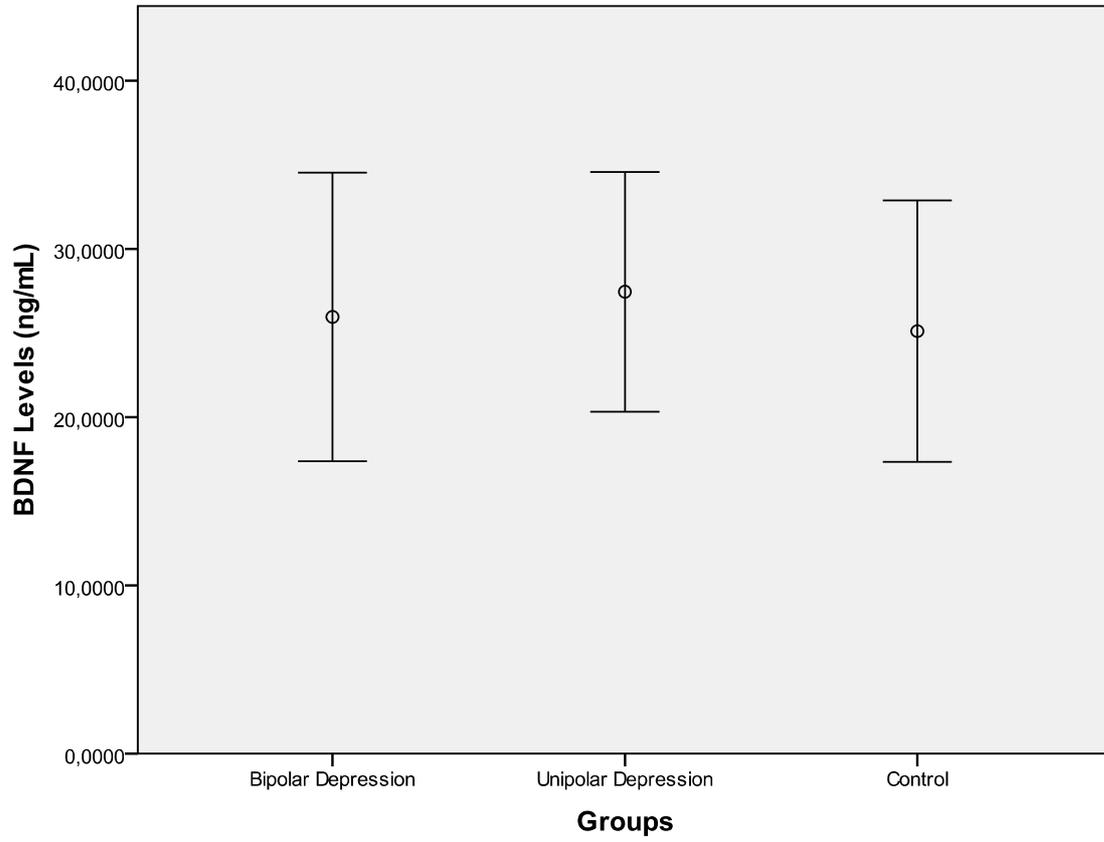


Figure 5. Serum levels of BDNF in patients compared to the control group. Data are expressed as mean \pm SD. Groups were compared by one-way ANOVA ($p=0.295$).

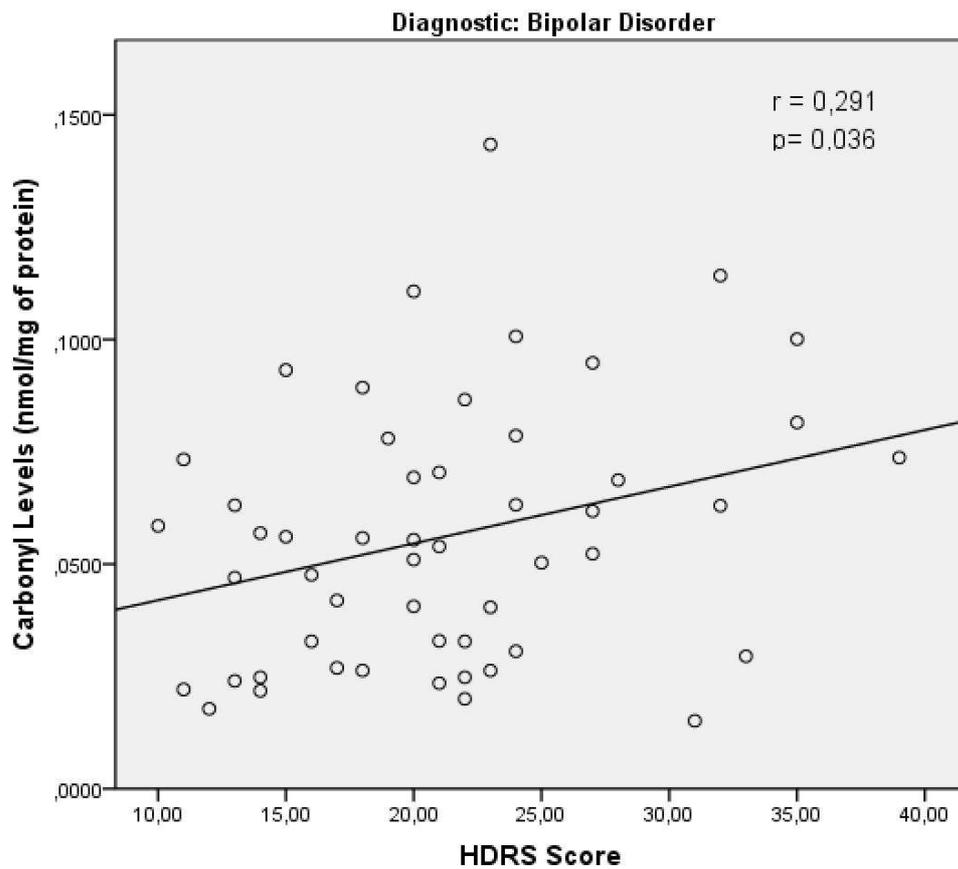


Figure 6. Correlation between HDRS and Protein Carbonyl levels in bipolar depression patients. We found a positive correlation in HDRS score and carbonyl levels in the bipolar group ($r=0,291, p=0,036$)

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho analisamos diferentes parâmetros bioquímicos, a nível sérico, de pacientes com Depressão Unipolar e Depressão Bipolar. Dentre os nossos achados, verificamos o aumento da concentração de IL-6 em ambos os grupos quando comparados ao grupo controle.

Também verificamos o aumento do dano protéico em pacientes unipolares comparados aos controles, e uma correlação positiva entre os valores de HAM-D e os níveis de carbonil entre os pacientes bipolares. O dano oxidativo a proteínas como visto neste trabalho é um processo extremamente relevante, pois presença de grupos carbonil pode levar a inativação da atividade enzimática e de vias de sinalização. Com isso, o achado de dano oxidativo em transtornos psiquiátricos levanta a possibilidade de que os antioxidantes poderiam ser utilizados de forma terapêutica no retardo a progressão destas doenças. O fato de termos encontrado uma correlação positiva entre os valores da escala de HAM-D e os valores de carbonil nos pacientes bipolares, nos atenta ao fato que embora não se tenha encontrado diferenças significativas entre os valores de carbonil neste grupo comparado aos controles, há uma relação entre aumento da gravidade dos sintomas e aumento do dano protéico.

É importante ressaltar que, diferente do que foi proposto por Fernandes e colaboradores (2009), nosso trabalho não encontrou diferenças em relação aos valores de BDNF nos dois grupos estudados, sendo relevante citar que, comparado a este, o nosso trabalho foi realizado com uma amostra maior de pacientes com depressão maior. Contudo, apresenta como limitação o uso de medicação pelos pacientes estudados, o que reforça a necessidade de mais estudos nessa área para que possamos verificar se o BDNF poderia ser uma ferramenta de diferenciação entre estes transtornos psiquiátricos.

Recentemente o nosso grupo tem sugerido o envolvimento da carga alostática no THB (112) . O termo alostase quer dizer “estabilidade através da mudança”, e se refere a um

esforço que o organismo emprega na adaptação dos sistemas fisiológicos as diversas situações de estresse (tanto agudos quanto crônicos). O modelo proposto por Kapczinski e colaboradores baseia-se na complexa interação entre alterações genéticas e ambientais que induziriam as mudanças observadas no eixo hipotálamo-hipofise-adrenal, no sistema imunológico, no aumento do estresse oxidativo e nas alterações em neurotrofinas. Devido a uma constante ativação deste mecanismo de resgate, gera-se um desgaste cumulativo. Estas alterações culminariam em disfunções na transmissão entre a conexão Córtex Pré Frontal-sistema límbico cerebral, com conseqüente aparecimento e/ou piora dos sintomas cognitivos e do humor (Figura 1).

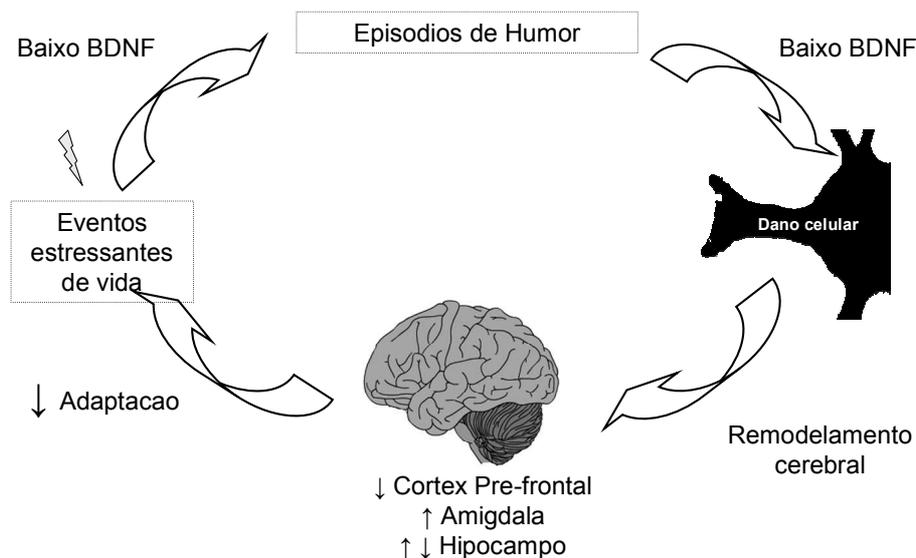


Figura 1. Ciclo proposto para explicar o dano causado por múltiplos episódios. O estresse ambiental e os episódios de humor recorrentes estariam associados à diminuição dos níveis de neurotrofinas, como o BDNF. Esta alteração estaria associada a uma maior propensão ao dano celular, o que, por sua vez, levaria a um remodelamento cerebral e conseqüente alteração nas regiões criticamente envolvidas na regulação do humor. Tais alterações diminuiriam a capacidade de adaptação ao estresse e o ciclo se instala.

Analisando os achados deste estudo juntamente com o modelo de dano cumulativo, reforçamos a idéia de que o tratamento eficaz poderia evitar o dano cumulativo nos pacientes com Transtorno de Humor, e que estudos futuros que associem uma avaliação clínica e

farmacológica com marcadores biológicos são de extrema relevância para a melhora da qualidade de vida destes pacientes.

Como perspectiva, se faz necessário a análise em pacientes não medicados, para verificação das alterações neurotróficas, do balanço na resposta imune, e de marcadores de estresse oxidativo em pacientes sem a interferência da medicação, para assim inferirmos sobre a fisiopatologia dos sintomas depressivos em pacientes bipolares e unipolares. Estudos de biologia molecular, para análise da expressão gênica e de polimorfismos dos diferentes genes que podem estar associados aos sintomas depressivos são um próximo passo deste estudo para verificação em nível molecular do comportamento dos parâmetros analisados. Estudos com uma amostra maior, mais representativa, são necessários para validação destes achados.

9. ANEXOS

Anexo A

Instruções para a submissão de manuscritos na revista *Journal of Psychiatric Research*

Anexo B

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Pacientes

Instruções para a submissão de manuscritos na revista *Journal of Psychiatric*

Research

Guide for Authors

Description

Founded in 1961 to report on the latest work in psychiatry and cognate disciplines, the *Journal of Psychiatric Research* is dedicated to innovative and timely studies of four important areas of research:

(1) clinical studies of all disciplines relating to psychiatric illness, as well as normal human behaviour, including biochemical, physiological, genetic, environmental, social, psychological and epidemiological factors;

(2) basic studies pertaining to psychiatry in such fields as neuropsychopharmacology, neuroendocrinology, electrophysiology, genetics, experimental psychology and epidemiology;

(3) the growing application of clinical laboratory techniques in psychiatry, including imagery and spectroscopy of the brain, molecular biology and computer sciences;

(4) advances in basic and clinical research methodology, including the process of "bench-to-bedside" transfer of new research findings.

The Editors-in-Chief will accept papers of high scientific caliber, if necessary after appropriate revision, and will aim for their rapid publication.

In addition, the *Journal* will be enhanced by the inclusion of commissioned reviews, news items, book notices and letters to the Editors.

Submission of Manuscripts

The *Journal of Psychiatric Research* now proceeds totally online via an electronic submission system. Mail submissions will in principle no longer be accepted. By accessing the online submission system <http://ees.elsevier.com/jpsychiatrres> you will be guided

stepwise through the creation and uploading of the various files. When submitting a manuscript online, authors need to provide an electronic version of their manuscript and any accompanying figures and tables. The author should select from a list of scientific classifications, which will be used to help the editors select reviewers with appropriate expertise, and an article type for their manuscript (Original article, review article, clinical Practice and Service Development, letter to Editor. Once the uploading is done, the system automatically generates an electronic (PDF) proof, which is then used for reviewing. All correspondence, including the Editor's decision and request for revisions, will be processed through the system and will reach the corresponding author by e-mail.

Submission of a paper to the *Journal of Psychiatric Research* is understood to imply that it is an original paper which has not previously been published, and is not being considered for publication elsewhere. Prior publication in abstract form should be indicated. Furthermore, authors should upload copies of any related manuscript that has been recently published, is in press or under consideration elsewhere. The following circumstances indicate that a paper is related to the manuscript submitted to the Journal: a) any overlap in the results presented; b) any overlap in the subjects, patients or materials the results are based on.

Once a manuscript has successfully been submitted via the online submission system authors may track the status of their manuscript using the online submission system (details will be provided by e-mail). If your manuscript is accepted by the journal, subsequent tracking facilities are available on Elsevier's Author Gateway, using the unique reference number provided by Elsevier and corresponding author name (details will be provided by e-mail). See Tracking Accepted Manuscript section.

Authors may send queries concerning the submission process or journal procedures to the Editorial Offices at rwysse@stanford.edu (for authors coming from the United States, Canada or Latin America) or jpr@mpipsykl.mpg.de (all other authors). For further details on

how to submit online, please refer to the online EES Tutorial for authors or contact Elsevier's Author Support Team at authorsupport@elsevier.com.

Manuscript Submission Requirements

Papers must be written in the English language.

Manuscript Length

Original reports are limited to 4,000 words (text body excluding abstracts, references, legends, acknowledgement and disclosures); review articles should not exceed 6,000 words; letters to the editor are limited to 1,000 words.

Structure of the Manuscript

1. **Addresses** for all of the authors as they should appear in the publication and full contact details for the corresponding author (address, phone, FAX and e-mail).

2. **An abstract** of no more than 250 words should be provided in single paragraph format.

3. Up to **six (6) keywords** should be given for indexing.

4. State the **objectives of the study** and give concise, but sufficient information on the background.

5. **Materials and Methods** Give detailed information on the study population you investigated and the methods you have used. Studies reporting results obtained in humans must include a statement that the investigation was carried out in accordance with the latest version of the Declaration of Helsinki, that the study design was reviewed by an appropriate ethical committee and that informed consent of the participants was obtained after the nature of the procedures had been fully explained. Statistical procedures should be explained. Studies

reporting experiments on animals should include a statement that the researchers followed relevant institutional and national guidelines for both the care and use of laboratory animals.

6. **Results** may be represented verbally, in tables or figures, as appropriate. However, do not duplicate presentation (e.g. do not repeat numerical data from tables in the text). It is not appropriate to present means or medians exclusively; please also provide measures of the distribution of values.

7. **Discussion** The results of your study should be placed in the appropriate context of knowledge, with discussion of its limitations and implications for future work.

8. **Author Disclosure**

a. **Ethical Considerations.** Authors of reports on human studies, especially those involving placebo, symptom provocation, drug discontinuation, or patients with disorders that may impair decision-making capability, should consider the ethical issues related to the work presented and include (in the Methods and Materials section of their manuscript) detailed information on the informed consent process, including the method or methods used to assess the subject's capacity to give informed consent, and safeguards included in the study design for protection of human subjects. Specifically, authors should consider all ethical issues relevant to their research, and briefly address each of these in their reports. When relevant patient follow-up data are available, this should also be reported. Specifically, investigators reporting on research involving human subjects or animals must have prior approval from an institutional review board. This approval should be mentioned in the methods section of the manuscript. In countries where institutional review boards are not available; the authors must include a statement that research was conducted in accordance with the Helsinki Declaration as revised 1989. All studies involving animals must state that the authors followed the guidelines for the use and care of laboratory animals of the author's institution or the National Research Council or any national law pertaining to animal research care.

b. **Funding body agreements and policies.** Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodiesRole>

The second aspect of the Journal's new policy concerns the **Conflict of Interest**. ALL authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three (3) years of beginning the work submitted that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work.

Examples of potential conflicts of interest which should be disclosed include employment, consultancies, stock ownership (except for personal investment purposes equal to the lesser of one percent (1%) or USD 5000), honoraria, paid expert testimony, patent applications, registrations, and grants. If there are no conflicts of interest, authors should state that there are none.

e.g., Author Y owns shares in pharma company A. Author X and Z have consulted for pharma company B. All other authors declare that they have no conflicts of interest.

Finally, before the references, the Journal will publish **Acknowledgements**, in a separate section, and not as a footnote on the title page.

e.g., We thank Mr A, who kindly provided the data necessary for our analysis, and Miss B, who assisted with the preparation and proof-reading of the manuscript.

The submitting author is also required to make a brief statement concerning each named author's contributions to the paper under the heading **Contributors**. This statement is for editorial purposes only and will not be published with the article.

e.g., Author X designed the study and wrote the protocol. Author Y managed the literature searches and analyses. Authors X and Z undertook the statistical analysis, and author

W wrote the first draft of the manuscript. All authors contributed to and have approved the final manuscript.

c. NB. During the online submission process the author will be prompted to upload these four mandatory author disclosures as separate items. They will be automatically incorporated in the PDF builder of the online submission system. Please do not include in the main manuscripts.

9. **References** should be arranged in alphabetical order with authors' names, article title, and journal spelt out in full. Follow the citation style of the Journal e.g.

Jones SH, Gray JA, Hemsley DR. Loss of the Kamin blocking effect in acute but not chronic schizophrenics. *Biological Psychiatry* 1992; 32:739-755.

Bowlby J. *Attachment*. New York: Basic Books, 1969.

Brown, B. Interviewing styles. In: Jones A., Smith S., editors. *Techniques of assessment*. Oxford: Pergamon Press, 1980. p. 197-208.

10. **Citations** in the text should appear in parentheses: for publications with only one or two authors, list them in full with the names separated by an "&," followed by the year; for publications with more than two authors list the name of the first author only, followed by "et al" and the year.

11. **Tables** are to be uploaded, numbered consecutively with Arabic numbers. Each table should include a header. Do not use vertical bars. For every variable, the units of measurement should be clearly identified.

12. **Figures** of good quality should be submitted online as a separate file and numbered consecutively with Arabic numbers. Please use a lettering that remains clearly readable even after reduction to about 66%. For every figure, a legend should be provided.

Please refer to the generic Elsevier artwork instructions: <http://authors.elsevier.com/artwork/jpsychires>.

Submission of Letters to the Editor

Letters to the Editor may be considered for publication if they include important comments on previous papers in the Journal or preliminary findings of importance. The text should not exceed 1,000 words. One figure or one table may be included.

Review Process

Papers, except invited reviews, will be evaluated by at least two external experts. The authors are invited to propose three potential referees by providing their names, postal and E-mail addresses, phone and fax numbers. However, the choice of reviewers is made by the Editors exclusively. The authors will be notified as soon as possible whether a contribution is accepted for publication in the form that it was submitted, acceptable after a revision (which, in general, will be reviewed again), or rejected.

Supplementary Material

Elsevier now accepts electronic supplementary material (e-components) to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the Author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data is provided in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file.

For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at the Author Gateway at: <http://authors.elsevier.com/artwork/jpsychires>. Files can be stored on 3 inch diskette, ZIP-disk or CD (either MS-DOS or Macintosh).

The paper in the journal must be complete and fully comprehensible without reference to the Supplementary Material. The purpose of Supplementary Material is to provide additional and usually more detailed information for readers who are particularly interested in the study. Supplementary Material is not an integral part of a published paper; the suitability of the Supplementary Material is assessed by the editor but it is not subject to the peer review procedure as applied to papers in the journal. Supplementary Material may either accompany the first version of a Paper submitted to the journal or in response to a request from an editor.

Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The DOI will never change. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly Articles in Press because they have not yet received their full bibliographic information. The DOI can also be used to create an URL hyperlink to supplementary material associated to an article.

When you use the DOI to create URL hyperlinks to documents on the web, they are guaranteed never to change.

Complete the following steps to resolve a DOI:

Open the following DOI site with your browser: <http://dx.doi.org>

Enter the entire DOI citation in the text box provided, and then click Go

The article or supplementary material that matches the DOI citation appears in your browser window. The DOI scheme is administered by the [International DOI Foundation](#).

Many of the world's leading learned publishers have come together to build a DOI-based article linking scheme known as CrossRef

Colour Reproduction

The Journal of Psychiatric Research is now also included in a new initiative from Elsevier: 'Colourful e-Products'. Through this initiative, figures that appear in black & white in print can appear in colour, online, in ScienceDirect at <http://www.sciencedirect.com>. There is no extra charge for authors who participate. For colour reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for colour in print or on the Web only. Because of technical complications which can arise by converting colour figures to "grey scale" (for the printed version should you not opt for colour in print) please submit in addition usable black and white versions of all the colour illustrations. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://authors.elsevier.com/artwork/jpsychires>

Changes in Authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

Before the accepted manuscript is published in an online issue: Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author

will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above.

Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed. After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Copyright Transfer

Upon acceptance of an article, you will be asked to transfer copyright (for more information on copyright see <http://authors.elsevier.com/journal/jpsychires>). This transfer will ensure the widest possible dissemination of information. If excerpts from other copyrighted works are included in the submission, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: contact Elsevier's Rights Department, Philadelphia, PA, USA: phone (+1) 215 238 7869, fax (+1) 215 238 2239, e-mail healthpermissions@elsevier.com.

Requests for materials from other Elsevier publications may also be completed on-line via the Elsevier homepage <http://www.elsevier.com/locate/permissions>

Proofs

One set of proofs will be sent to the corresponding author. A form with queries from the copyeditor may accompany your proofs. Please answer all queries and make any corrections within two days of receipt. No alteration of the substance of the text, tables or figures will be allowed at this stage. Should there be no corrections, please confirm this. Elsevier will do everything possible to get your article corrected and published as quickly and accurate as possible. In order to do this we need your help. When you receive the (PDF) proof

of your article for correction it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication. Subsequent corrections will not be possible, so please ensure your first sending is complete.

Tracking Accepted Manuscripts

After acceptance of your article by the journal, and following receipt of the files at Elsevier, authors can keep track of the progress of their accepted article, and set up e-mail alerts informing them of changes in their manuscript's status using the 'Track Your Paper' feature of Elsevier's Author Gateway (<http://authors.elsevier.com/journal/jpsychires>). You will receive a unique reference code together with the acknowledgement e-mail from Elsevier sent upon receipt of your manuscript files in the Elsevier production system.

English-Language Support

Elsevier Language Editing Services offer English language editing for researchers preparing articles for publication. Features of this service include:

- Native English speakers from top universities
- Expert input from Ph.D.s or Ph.D candidates matched to your field of study
- Manuscript edited to correct scientific English (US or UK)
- Self-service website with easy article upload and retrieval
- Pricing starting from USD 225 / Euro 160 / Yen 23375
- Secure payment

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Pacientes

Avaliação de potenciais biomarcadores para diagnóstico diferencial da Depressão Unipolar e Depressão Bipolar

Nome do sujeito:

Data de nascimento:

Estamos convidando você para este estudo devido a sua participação no projeto: Tianeptina como tratamento adjuntivo na depressão bipolar: um ensaio clínico randomizado controlado por placebo (nº de aprovação pelo comitê de ética 08-145). Com este novo termo de consentimento gostaria de solicitar o uso da sua amostra de sangue já coletada ou se necessário, realizar uma nova coleta.

Antes de participar deste estudo, gostaríamos que você tomasse conhecimento do que ele envolve. Damos abaixo alguns esclarecimentos sobre dúvidas que você possa ter. Em caso de qualquer outra dúvida quanto ao estudo e o que ele envolve e sobre os seus direitos, você deverá contatar a pesquisadora Bianca Wollenhaupt de Aguiar ou o Dr. Flávio Kapczinski pelos telefones (51) 3359 8845 ou (51) 33598021.

1 Qual o objetivo desta pesquisa?

Esta é uma pesquisa realizada por pesquisadores do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, para identificar os níveis de algumas proteínas do sangue que podem estar alteradas nos indivíduos com Transtorno de Humor Bipolar (THB) e Depressão Unipolar. O objetivo de verificar as possíveis alterações nestas proteínas de pacientes com THB é aumentar o conhecimento sobre a doença e auxiliar no diagnóstico e no desenvolvimento de novas medicações para um melhor tratamento dos pacientes bipolares.

A participação envolve o preenchimento de algumas questões e a assinatura deste termo permitindo assim o uso de sua amostra já coletada para o projeto 08-145 ou, se for necessário, uma nova coleta de sangue, que será utilizada para fins de pesquisa. Essas proteínas serão avaliadas em conjunto com os dados coletados dos pacientes unipolares e controles para descobrir se há diferenças entre pessoas com estes transtornos e sem estas doenças. Assim, o benefício de participar desta pesquisa é nos auxiliar a melhor compreender como o Transtorno Bipolar afeta o organismo, no que se diferencia da Depressão Unipolar, tendo como objetivo melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

2 Quais são os riscos em participar?

Os riscos da coleta, se houver, são um mal-estar passageiro ou mancha roxa no local. O procedimento será feito com material esterilizado e descartável por profissionais da área de saúde com competência técnica para tal. A coleta será feita para que sejam analisadas algumas substâncias que poderão estar alteradas em função do transtorno bipolar. Você não terá despesas para participar deste estudo. Caso seja solicitado que você venha ao hospital fora do horário de suas consultas habituais, os pesquisadores irão reembolsar o valor das passagens.

3 O que eu ganho com este estudo?

A sua participação neste estudo poderá proporcionar, no aspecto pessoal, a identificação de algum problema não antes conhecido, sendo assim tratado de maneira mais específica e adequada, e no aspecto coletivo, poderá ajudar no desenvolvimento de um melhor plano de atendimento aos demais pacientes.

4 Quais são os meus direitos?

Os pesquisadores podem necessitar examinar os seus registros a fim de verificar as informações para o objetivo deste estudo. No entanto, os seus registros médicos serão sempre tratados com sigilo. Os resultados deste estudo poderão ser publicados em jornais científicos ou submetidos à autoridade de medicamento competente, mas você não será identificado por nome. Sua participação neste estudo é voluntária, tendo a liberdade de desistir do estudo a qualquer momento, sem fornecer um motivo, assim como pedir maiores informações sobre o estudo e o procedimento a ser feito. Isto de maneira alguma irá influenciar na qualidade de seu atendimento neste ambulatório.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi elaborado em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador e a outra ficará com o participante. Nela consta o telefone e o endereço institucional do pesquisador principal e do Comitê de Ética em Pesquisa, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação agora ou a qualquer momento.

DECLARAÇÃO

1. Recebi uma explicação completa do objetivo do estudo, dos procedimentos envolvidos e o que se espera de minha pessoa.
2. Estou ciente de que tenho total liberdade de desistir do estudo a qualquer momento e que esta desistência não irá, de forma alguma, afetar meu tratamento ou administração médica futura na instituição.
3. Estou ciente de que a informação nos meus registros médicos é essencial para a avaliação dos resultados do estudo. Concordo em liberar esta informação sob o entendimento de que ela será tratada confidencialmente, ou seja, não serei referido por nome em qualquer relatório relacionado a este estudo.
4. Da minha parte, não devo restringir, de forma alguma, o uso dos resultados que possam surgir deste estudo.
5. Concordo total e voluntariamente em fazer parte deste estudo.
6. Tenho mais de 18 anos.

Assinatura do paciente ou responsável legal

Assinatura do investigador

Data:

Pesquisador Responsável:

Dr. Flávio Kapczinski

Fone: (51) 33598845

Pesquisadora Executora:

Bianca Wollenhaupt de Aguiar

Fone: (51) 81279697

Pesquisador Responsável: Flávio Kapczinski MD PhD

Endereço na instituição: Laboratório de Psiquiatria Molecular - Hospital de Clínicas de Porto Alegre / Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Rua Ramiro Barcelos, 2350 – CPE – 1º andar – Porto Alegre – RS – Brasil - CEP 90035-903

Fone: 33598845

Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Endereço: Rua Ramiro Barcelos, 2350 – Porto Alegre – RS – Brasil - CEP 90035-903

Fone: 33598304