UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE NEUROCIÊNCIAS E CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO

Roberto Mascarenhas Souza

Efeito da adição de n-acetilcisteína ao tratamento com clozapina na perfusão cerebral de pacientes com esquizofrenia refratária

RIBEIRÃO PRETO
2019

Efeito da adição de n-acetilcisteína ao tratamento com clozapina na perfusão cerebral de pacientes com esquizofrenia refratária

Versão Corrigida. A versão original encontra-se disponível tanto na Biblioteca da Unidade que aloja o Programa, quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Mental da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Medicina.

Aluno: Roberto Mascarenhas Souza

Orientador: Prof. Dr. João Paulo Machado de Sousa

RIBEIRÃO PRETO
2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Souza, Roberto Mascarenhas

Efeito da adição de n-acetilcisteína ao tratamento com clozapina na perfusão cerebral de pacientes com esquizofrenia refratária./ Roberto Mascarenhas Souza, João Paulo Machado de Sousa. Ribeirão Preto – SP, 2019.

100 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Saúde Mental) – Programa de Pós-Graduação em Saúde Mental da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2019.

1. Esquizofrenia. 2. N-acetilcisteína. 3. *Arterial Spin Labeling*. 4. Perfusão Cerebral. 5. Imagem por ressonância magnética.

Nome: SOUZA, Roberto Mascarenhas

Título: Efeito da adição de n-acetilcisteína ao tratamento com clozapina na perfusão cerebral de pacientes com esquizofrenia refratária.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Mental da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Medicina.

Aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora

Dr._____Instituição:_____

Julgamento:_____Assinatura:_____

Dr._____Instituição:_____

Julgamento:_____Assinatura:_____

Dr._____Instituição:_____

Julgamento:_____Assinatura:_____

Dr._____Instituição:_____

Julgamento:_____Assinatura:_____

À minha esposa, Milena, por todo o apoio dado a mim nesses anos juntos, e ao nosso amado filho, Pedro, fruto da nossa união.

Agradecimentos

À minha esposa Milena, por todos esses anos que passamos juntos Ribeirão Preto, onde crescemos como casal, e vivenciamos muitas experiências importantes para as nossas vidas.

Aos meus familiares, por tudo que fizeram por mim, apoiando-me ao longo dessa jornada.

Ao meu orientador, Prof. Dr. João Paulo Machado de Sousa, pela disposição e paciência para ensinar, além de ter dado todo apoio ao longo desses anos de convivência.

Ao Prof. Dr. Jaime Hallak, pelo acolhimento no grupo de pesquisa e por todo o suporte dado para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos, pela colaboração e disponibilidade.

À Profª. Drª. Renata Leoni, pela contribuição e colaboração para a realização deste trabalho.

Agradecimento especial a Ícaro Oliveira, que realizou o processamento das imagens e mesmo distante, ainda foi bastante prestativo.

Aos amigos Tiago Guimarães e Mara Crisóstomo, pela amizade e convivência nesses anos em Ribeirão.

À amiga Juliana Mayumi, pelos ensinamentos durante todos esses anos e pela grande ajuda dada para que este trabalho fosse realizado.

A todos os amigos que fiz em Ribeirão Preto, por terem contribuído para meu crescimento pessoal.

Aos apoios do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – Translacional em Medicina (INCT-CNPq).

RESUMO

SOUZA, R.M. **Efeito da adição de n-acetilcisteína ao tratamento com clozapina na perfusão cerebral de pacientes com esquizofrenia refratária** Ribeirão Preto – SP, 2019. 76 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Saúde Mental da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2019.

A esquizofrenia é um dos transtornos mais desafiadores para a clínica psiquiátrica, apesar dos estudos atuais que tentam elucidar sua fisiopatologia e buscar novas opções de tratamento. A n-acetilcisteína (NAC) é uma droga utilizada há mais de 30 anos na clínica médica no tratamento da intoxicação por acetaminofeno e como mucolítico na DPOC, entre outros. Evidências recentes apoiam o seu uso no tratamento de diversos transtornos neuropsiquiátricos, como depressão, transtorno afetivo bipolar, dependência química e esquizofrenia. A droga tem como provável mecanismo de ação um aumento na atividade antioxidante através do aumento nos níveis de glutationa (GSH) e modulação da neurotransmissão glutamatérgica. Nas duas últimas décadas, o estudo dos mecanismos neurobiológicos subjacentes aos transtornos psiquiátricos, bem como a investigação dos possíveis mecanismos e regiões cerebrais influenciados por substâncias psicofarmacológicas, recebeu importante contribuição das técnicas de neuroimagem funcional. Apesar disto, até o momento existem poucos estudos que avaliaram os mecanismos centrais relacionados às propriedades antipsicóticas da NAC em humanos. Este estudo tem o objetivo de investigar os efeitos da NAC em indivíduos portadores de esquizofrenia refratária em uso exclusivo de clozapina através de medidas de sintomas positivos e negativos e da avaliação da perfusão cerebral através de ressonância magnética nuclear utilizando a técnica de *arterial spin labeling* (ASL). Foram avaliados 20 sujeitos com esquizofrenia refratária em uso de clozapina em um estudo com distribuição aleatória, duplo-cego e controlado por placebo, utilizando a dose de 2000mg por dia de NAC. Do total da amostra, 14 tiveram as imagens perfusão sanguínea cerebral analisadas. O estudo teve a duração de oito semanas, com avaliações a cada quatro semanas e realização das RMN no início e ao final do período. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos placebo e NAC nas escalas BPRS e PANSS-N. O grupo que recebeu NAC apresentou mais efeitos colaterais, porém

no geral a medicação foi bem tolerada. Também não se observou diferenças no FSC das diversas ROI analisadas. A NAC não produziu mudanças estatisticamente significativas nas escalas de sintomas e no FSC nesta amostra, apesar de outros estudos mostrarem diferenças significativas favorecendo a NAC. O presente estudo não mostrou alterações do FSC, mesmo após oito semanas, o que pode significar que nesta amostra não houve benefício com a droga e que fatores relacionados aos sujeitos da amostra podem ter contribuído para a ausência de alterações no FSC, uma vez que outros estudos mostraram que a técnica detecta alterações na perfusão.

Palavras-chave: Esquizofrenia, n-acetilcisteína, *Arterial Spin Labeling*, perfusão cerebral, imagem por ressonância magnética funcional.

ABSTRACT

SOUZA, R.M. **Effects of adjunct n-acetylcysteine to the treatment with clozapine in resting state cerebral perfusion of subjects with refractory schizophrenia.** Ribeirão Preto – SP, 2019. 76 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Saúde Mental da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2019.

Schizophrenia continues to be one of the most challenging psychiatric disorders in the clinical practice, despite recent studies that attempt to elucidate its pathophysiology and search for new treatment options. N-acetylcysteine (NAC) is a drug that has been used for more than 30 years in clinical medicine, in situations like acetaminophen intoxication and as mucolytic in COPD, among others. Recent studies support its therapeutic use in neuropsychiatric disorders such as depression, bipolar disorder, substance abuse and schizophrenia. The mechanism of action of NAC seems to occur in antioxidant activity, through the increase of glutathione levels (GSH) and in the modulation of glutamatergic neurotransmission. In the last two decades, the study of the neurobiological mechanisms underlying psychiatric disorders, as well as the investigation of the possible mechanisms and brain areas influenced by psychopharmacological substances received a significant contribution of functional neuroimaging techniques. Despite this, there are few studies that have evaluated the central mechanisms related to the antipsychotic properties of NAC in humans. This study aims to investigate the effects of NAC in subjects with refractory schizophrenia, exclusively on clozapine use, through measure of positive and negative symptoms and the evaluation of cerebral perfusion by magnetic resonance imaging, using the arterial spin labeling technique (ASL) . Twenty subjects with refractory schizophrenia were evaluated in a randomized, double-blind, placebo-controlled study using a dose of 2000mg per day of NAC. From the total sample, 14 had cerebral perfusion images analyzed. The study had a duration of eight weeks, with evaluations at each four weeks and MRI sessions before the beginning of NAC and at the end of the period. The results did not show statistically significant differences between placebo and NAC groups on the BPRS and PANSS-N scales. The NAC group presented more side effects, although the medication was well tolerated in general. There were also no differences in the cerebral blood flow (CBF) among the regions of interest analyzed.

Although there was no difference regarding symptoms scales the CBF in this sample, other studies found differences favoring NAC. The present study did not show changes of the CBF, which might mean that sample caracteristics might be related to the negative result of the study and other studies using ASL techinic showed differences in the rCBF.

Keywords: Schizophrenia, n-acetylcysteine, *Arterial Spin Labeling*, cerebral blood flow, functional magnetic resonance imaging.

LISTA DE FIGURAS:

Figura 1: Síntese de glutationa. O complexo enzimático GCLC/GCLM é o responsável pela etapa limitante da síntese de GSH..... 22

Figura 2: Havendo aumento da cisteína (C-C) extracelular, ocorre troca com glutamato (Glu) intracelular dos astrócitos por um mecanismo antiporte (chamado sistema x(c)), que aumenta o glutamato extracelular…….…24

Figura 3: Planos de marcação e de aquisição nos diferentes métodos de ASL..... 30

Figura 4: Áreas cerebrais com redução do FSC em comparação com voluntários saudáveis…...…….. 30

Figura 5: Mapas quantitativos de FSC de (A) portadores de esquizofrenia e (B) controles saudáveis (L: hemisfério esquerdo; R: hemisfério direito……...…35

Figura 6: Fluxograma de seleção dos sujeitos..... 39

Figura 7: Fluxograma dos sujeitos que participaram do estudo.....46

LISTA DE TABELAS:

Tabela 1: Ensaios clínicos randomizados com sujeitos portadores de esquizofrenia.....26

Tabela 2: Resumo dos estudos que evidenciam ação glutamatérgica da NAC.....27

Tabela 3: Estudos realizados em sujeitos com psicose de início recente.....28

Tabela 4: Estudos que utilizaram ASL em indivíduos portadores de esquizofrenia.....32

Tabela 5: Fluxograma dos procedimentos para coleta de dados……..……..….42

Tabela 6: Características clínicas e demográficas da amostra.....47

Tabela 7: Pontuação média BPRS dos grupos tratados com NAC e placebo medidos ao longo do ensaio clínico……... 48

Tabela 8: Pontuação média na subescala negativa da PANSS. Valores de médias, desvio padrão (entre parênteses) e teste t de amostras pareadas.....49

Tabela 9: Dados de perfusão cerebral na substância cinzenta total (ml/100 g/min) de cada sujeito dos grupos Placebo e NAC no início e ao final do ensaio clínico..... 50

LISTA DE GRÁFICOS:

Gráfico 1: Evolução dos escores de BPRS nos grupos placebo e NAC ao longo do ensaio clínico..... 48

Gráfico 2: Evolução dos escores da PANSS negativa nos grupos placebo e NAC ao longo do ensaio clínico..... 49

LISTA DE ABREVIAÇÕES:

ACC	Córtex cingulado anterior
APQE	Ambulatório de esquizofrenia
AREP	Ambulatório de reabilitação psicossocial
ASL	*Arterial spin labeling* – marcação de *spin* arterial
BPRS	Escala de Avaliação Psiquiátrica Breve (*Brief Psychiatric Rating Scale*)
CASL	ASL contínua
FSC	Fluxo sanguíneo cerebral
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
DSM-5	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, 5ª Edição
EO	Estresse oxidativo
GCLC	Glutamato-cisteína-ligase
GCLM	Subunidade modulatória da GCLC
GL	Graus de liberdade
GSH	Glutationa – γ-glutamil-cisteína-glicina
GSS	GSH sintetase
HCFMRP-USP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
NAC	N-acetilcisteína
NMDA	N-metil-d-aspartato
PANSS-N	Escala de Avaliação das Síndromes Positiva e Negativa da Esquizofrenia – Escala Negativa *(Positive and Negative Syndromes Scale)*
PASL	ASL pulsada
pCASL	ASL pseudocontínua
PCP	Fenciclidina
PLB	Placebo
rFSC	Fluxo sanguíneo cerebral regional
rmANOVA	Análise de variância de medidas repetidas
RMN	Ressonância magnética nuclear

RMNf	Ressonância magnética nuclear funcional
ROI	Região de interesse
SPM8	*Statistical parametric mapping*
SPSS	*Statistical Package for the Social Sciences*
t	Teste *t*
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TM	Transferência de magnetização

SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO..... 18

1.1- ESQUIZOFRENIA..... 18

1.2- ESTRESSE OXIDATIVO E ESQUIZOFRENIA..... 21

1.3- N-ACETILCISTEÍNA..... 23

1.4- *ARTERIAL SPIN LABELING*..... 29

2- OBJETIVOS DO ESTUDO..... 37

2.1- OBJETIVO GERAL..... 37

2.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... 37

3- MATERIAIS E MÉTODOS..... 38

3.1- SUJEITOS..... 38

3.2- INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO CLÌNICA..... 40

3.3- DROGAS..... 41

3.3.1- NAC..... 41

3.3.2- PLACEBO..... 42

3.4- PROCEDIMENTO..... 42

3.4.1- PROTOCOLO EXPERIMENTAL..... 42

3.4.2- AQUISIÇÃO DAS IMAGENS..... 43

3.4.3- PROCESSAMENTO E ANÁLISE DAS IMAGENS..... 43

3.4.4- RECRUTAMENTO..... 44

3.4.5- LOCAL DO ESTUDO..... 44

3.5- ANÁLISE ESTATÍSTICA..... 45

4- RESULTADOS..... 46

4.1- BPRS..... 48

4.2- PANSS NEGATIVA..... 49

4.3- FLUXO SANGUÍNEO CEREBRAL..... 50

4.4- EFEITOS COLATERAIS..... 51

5- DISCUSSÃO..... 52

6- CONCLUSÕES..... 55

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 56

APÊNDICE..... 69

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO..... 70

APÊNDICE B - ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO..... 74

ANEXOS..... 88

ANEXO A - BPRS..... 89

ANEXO B - PANSS NEGATIVA..... 93

ANEXO C - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA..... 94

1- INTRODUÇÃO

1.1- ESQUIZOFRENIA

Vista como um dos transtornos psiquiátricos mais graves, a esquizofrenia é um dos maiores desafios à psiquiatria clínica, apesar dos avanços nos últimos anos nas pesquisas em busca da compreensão de sua fisiopatologia e de novas abordagens terapêuticas. Tal gravidade fica evidente pela dificuldade no tratamento, refletida nas altas taxas de não resposta terapêutica (ELKIS & MELTZER, 2007). Porém, outros fatores contribuem para caracterização da esquizofrenia como um transtorno tão grave, como a intensidade e características dos seus sintomas, que acarretam um comprometimento do funcionamento social, ocupacional e individual intensos, levando a uma considerável queda da qualidade de vida e capacidade laboral (ANDREASEN, 2000). Atualmente, considera-se sua prevalência em torno de 0,7% na população mundial (MCGRATH et al., 2008), com uma expectativa de vida 68 anos para mulheres e de 60 anos para homens (HJORTHØJ et al., 2017). Como outros transtornos mentais, a esquizofrenia é responsável por uma importante parcela das causas de incapacidade para o trabalho, estando entre as dez maiores doenças causadoras de anos de vida perdidos (WHO, 2004; MURRAY&LOPEZ, 1996). Logo, a busca de novas opções terapêuticas é um dos principais focos da atual pesquisa em esquizofrenia.

A esquizofrenia é uma síndrome psiquiátrica heterogênea, que se manifesta através de sintomas positivos (delírios e alucinações), negativos (embotamento afetivo, avolição, anedonia, isolamento social e alogia), desorganizados e déficits cognitivos (CORBETT et al., 1999), sintomas estes, até o momento, sem completa explicação etiológica ou fisiopatológica. A abordagem psicofarmacológica mantém-se voltada ao controle puramente sintomático, o que foi relativamente atingido com os antipsicóticos disponíveis atualmente, no que diz respeito aos sintomas positivos. Porém, nas demais dimensões psicopatológicas, a esquizofrenia segue sem tratamento adequado, o que é bem ilustrado pelos sintomas negativos e cognitivos, que permanecem como um desafio terapêutico (POTKIN et al., 1999). Haja vista a baixa eficácia dos antipsicóticos antagonistas dopaminérgicos frente a tais sintomas, frequentemente ocorre a troca de medicamentos ou associações, acarretando maior risco para complicações devido aos

efeitos colaterais, bastante frequentes entre os antipsicóticos (ELKIS & MELTZER, 2007).

A esquizofrenia passa a ser classificada como refratária quando não há resposta a pelo menos dois antipsicóticos administrados em dose e tempo adequados, sendo pelo menos um deles um atípico. Estima-se que pelo menos 30% dos pacientes com tal diagnóstico não respondem adequadamente ao tratamento com antipsicóticos e, neste caso, a medicação de escolha seria a clozapina (ELKIS & MELTZER, 2007; HASAN et al., 2012). Entretanto, cerca de 10% do total de pacientes com esquizofrenia não respondem nem mesmo à clozapina e por isto são os ditos “respondedores parciais à clozapina", "resistentes" ou "super-refratários” (ELKIS & MELTZER, 2007). Várias tentativas têm sido feitas para se obter uma melhor resposta nestes casos, com outras medicações sendo utilizadas para potencializar a resposta da clozapina, destacando-se entre elas a lamotrigina, lítio, outros antipsicóticos e pregabalina, porém os resultados disponíveis ainda são pouco consistentes (ELKIS & MELTZER, 2007; HASAN et al., 2012).

Frente a tais dificuldades, segue-se numa busca constante por explicações etiológicas e fisiopatológicas mais adequadas aos sintomas da esquizofrenia para que, a partir deste entendimento mais profundo, tornem-se possíveis abordagens terapêuticas mais eficazes no controle sintomático e na interrupção da progressão da doença, que em alguns pacientes chega a ser catastrófica tal o grau de comprometimento cognitivo e funcional (LIEBERMAN, 1996). Daí a importância das teorias de alteração nos sistemas de neurotransmissores, como a dopamina, serotonina, ácido gama-aminobutírico (GABA) e o glutamato, que exemplificam bem as tentativas de explicações fisiopatológicas alternativas (YOSHIKAWA et al., 2009).

A hipótese dopaminérgica da esquizofrenia nasceu em 1963, após a demonstração de que drogas antipsicóticas alteram o nível de catecolaminas no cérebro (CARLSSON & LINDQVIST, 1963). Foi reforçada após a descoberta de que a eficácia e a potência dos antipsicóticos eram diretamente relacionadas à capacidade destas drogas antagonizarem os receptores dopaminérgicos D2 (CRESSE, BURT & SNYDER, 1976). Pensou-se, então, que a fisiopatologia da esquizofrenia se explicaria pela alteração no sistema dopaminérgico, porém logo foi visto que este sistema não poderia explicar todo o espectro

da esquizofrenia, tanto pela variável resposta terapêutica apresentada pelos pacientes, como pelo fato dos antagonistas dopaminérgicos (antipsicóticos típicos) terem efeitos limitados sobre sintomas negativos e sobre o prejuízo cognitivo (POTKIN et al., 1999). Logo, abriu-se espaço para a busca de outras vias pelas quais se explicasse as alterações presentes na esquizofrenia.

Uma dessas vias foca-se na neurotransmissão glutamatérgica, uma vez que o glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do cérebro e é essencial para a circuitaria sensório-motora e cognitiva, que participa no desenvolvimento, plasticidade sináptica, neuroproteção e comunicação glial-neuronal (GASPAR et al., 2009). A hipoatividade de um subtipo de receptores glutamatérgicos, os receptores tipo N-metil-D-aspartato (NMDA), pode estar envolvida na sintomatologia da esquizofrenia. Estes receptores estão localizados em vias neuronais que regulam a liberação de dopamina, sugerindo que a disfunção dopaminérgica encontrada na esquizofrenia pode estar relacionada a uma disfunção no sistema glutamatérgico. (DEAKIN; SIMPSON, 1997; LINDSLEY et al., 2006). Os receptores NMDA são essenciais para a plasticidade neuronal e para mecanismos de *long term potentiation* (LTP), sinaptogênese e excitotoxicidade (BLISS; COLLINGRIDGE, 1993).

A disfunção do sistema glutamatérgico na esquizofrenia é um fenômeno sugerido por algumas linhas de evidência. Primeiro, os efeitos psicotomiméticos dos antagonistas dos receptores NMDA, como a fenciclidina e a quetamina. que além de sintomas positivos, induzem sintomas negativos, transtorno da forma do pensamento e déficits cognitivos em voluntários saudáveis (LUBY et al., 1959; SIEGEL, 1978; THORNBERG; SAKLAD, 1996; TORU; KURUMAJI; ISHIMARU, 1994), como também pioram os sintomas já existentes em portadores de esquizofrenia. (JAVITT & ZUKIN, 1991; KRYSTAL et al.,1994).

Em segundo lugar, a disfunção dos receptores NMDA, ocasionando alterações na neurotransmissão dopaminérgica semelhantes às que ocorrem na esquizofrenia, foram observadas após a administração de quetamina, que produziu aumento da liberação subcortical de dopamina (KEGELES et al., 2002).

Em terceiro lugar, a descrição de que alguns genes como Neuregulina-1, GRM3 e DISC-1, que estão associados a um aumento do risco para esquizofrenia, parecem exercer

função modulatória nos receptores NMDA ou nas sinapses onde atuam o glutamato (MOGHADDAM, 2003; HAHN et al., 2006).

Quarto e último, em estudos post-mortem evidenciaram que no córtex pré-frontal, tálamo e hipocampo de indivíduos com esquizofrenia ocorrem alterações nos sítios de ligação do receptor de glutamato e na transcrição e expressão das subunidades do receptor (MEADOR-WOODRUFF & HEALY, 2000). Essas alterações amplas observadas na neurotransmissão glutamatérgica reforçam a participação desse sistema na fisiopatologia da esquizofrenia.

1.2- ESTRESSE OXIDATIVO E ESQUIZOFRENIA

O estresse oxidativo (EO) tem se mostrado um achado frequente na esquizofrenia (FLATOW et al., 2013). O EO é definido como um estado de desequilíbrio em que a oxidação excede a capacidade dos sistemas antioxidantes do organismo, o que desencadeia eventos deletérios, como danos ao DNA e peroxidação lipídica (YOSHIKAWA e NAITO, 2002). Os radicais livres, como as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, são oxidantes produzidos normalmente nas reações bioquímicas dos organismos e que devem ser prontamente neutralizados, para evitar os danos já descritos. Uma das substâncias antioxidantes que neutralizam esses radicais livres é a glutationa (GSH) (FLATOW et al., 2013).

Sendo a fisiopatologia da esquizofrenia bastante complexa, o estresse oxidativo pode sugerir uma via final para onde convergem os diversos fatores de risco. Há evidências de que, na esquizofrenia, existe uma redução nos níveis de glutationa (GSH) no líquido cefalorraquidiano, além de redução da GSH no córtex pré-frontal (DEAN et al., 2011; KULAK et al., 2013; BERK et al., 2013), sugerindo um aumento no estresse oxidativo.

Apesar da heterogeneidade de resultados e de resultados negativos, alguns achados dão suporte à associação entre estresse oxidativo e esquizofrenia: genes responsáveis por defesas antioxidantes estão relacionados com este transtorno; parâmetros de estresse oxidativo anormais no sangue, hemácias, neutrófilos, plaquetas, líquido cefalorraquidiano e em cérebros *post-mortem*, parecendo haver uma melhora parcial com o uso de antipsicóticos (FLATOW et al., 2013). E mesmo na presença de

outros fatores (ex.: tabagismo, baixa ingesta de substâncias antioxidantes) a dosagem de glutationa (GSH) parece estar reduzida nos pacientes com esquizofrenia (BALLESTEROS et al., 2013).

A GSH (γ-glutamil-cisteína-glicina) é uma substância sintetizada a partir de três aminoácidos: glutamato, cisteína e glicina, sendo essencial para a proteção celular contra as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e a neutralização de toxinas e metabólitos reativos. A síntese de GSH ocorre nas células gliais (astrócitos) e após o término, a molécula é disponibizada para os neurônios, os quais também sintetizam GSH, mas em menor proporção. A Figura 1 , abaixo, apresenta a sequência de reações na síntese de GSH. Inicialmente o glutamato é ligado à cisteína através da glutamato-cisteína-ligase (GCLC), formando um dipeptídeo (gama-glutamil-cisteína), e em seguida a glicina é ligada a este último através de GSH sintetase (GSS) formando o GSH. A etapa de síntese da gama-glutamil-cisteína é a etapa limitante na síntese do GSH. A GCLC possui acoplada a si uma subunidade modulatória, GCLM, que não participa diretamente da síntese, mas já foi demonstrado que ratos *knockout* para o gene da GCLM tem um nível 70-80% mais baixo de GSH que ratos normais (KULAK et al., 2013). Polimorfismos na GCLC e na GCLM estão associados a um aumento no risco de esquizofrenia (DEAN et al., 2011; KULAK et al., 2013; BERK et al., 2013).

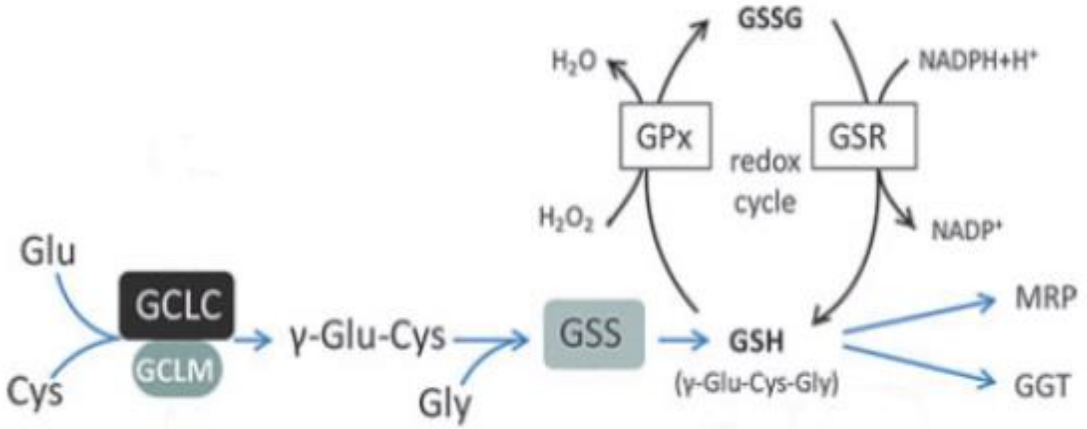


Figura 1: Síntese de glutationa. O complexo enzimático GCLC/GCLM é o responsável pela etapa limitante da síntese de GSH. Fonte: KULAK et al., 2013

Assim, percebe-se um novo rumo para o modo de se pensar sobre a fisiopatologia da esquizofrenia, não mais focalizado exclusivamente em um modelo monoaminérgico, e sim buscando a identificação de micro e macro-circuitos neuronais, envolvendo diferentes tipos de neurônios e diferentes neurotransmissores, em diferentes regiões cerebrais, os quais seriam responsáveis pela diversidade de apresentação clínica observada na esquizofrenia (BENES, 2009). Não somente a dopamina ou o glutamato seriam focos de atenção para tal explicação, podendo-se buscar alterações em outros sistemas intracelulares que podem agir diretamente sobre a neurotransmissão, modulando ou até mesmo revertendo alterações em macro e microcircuitos.

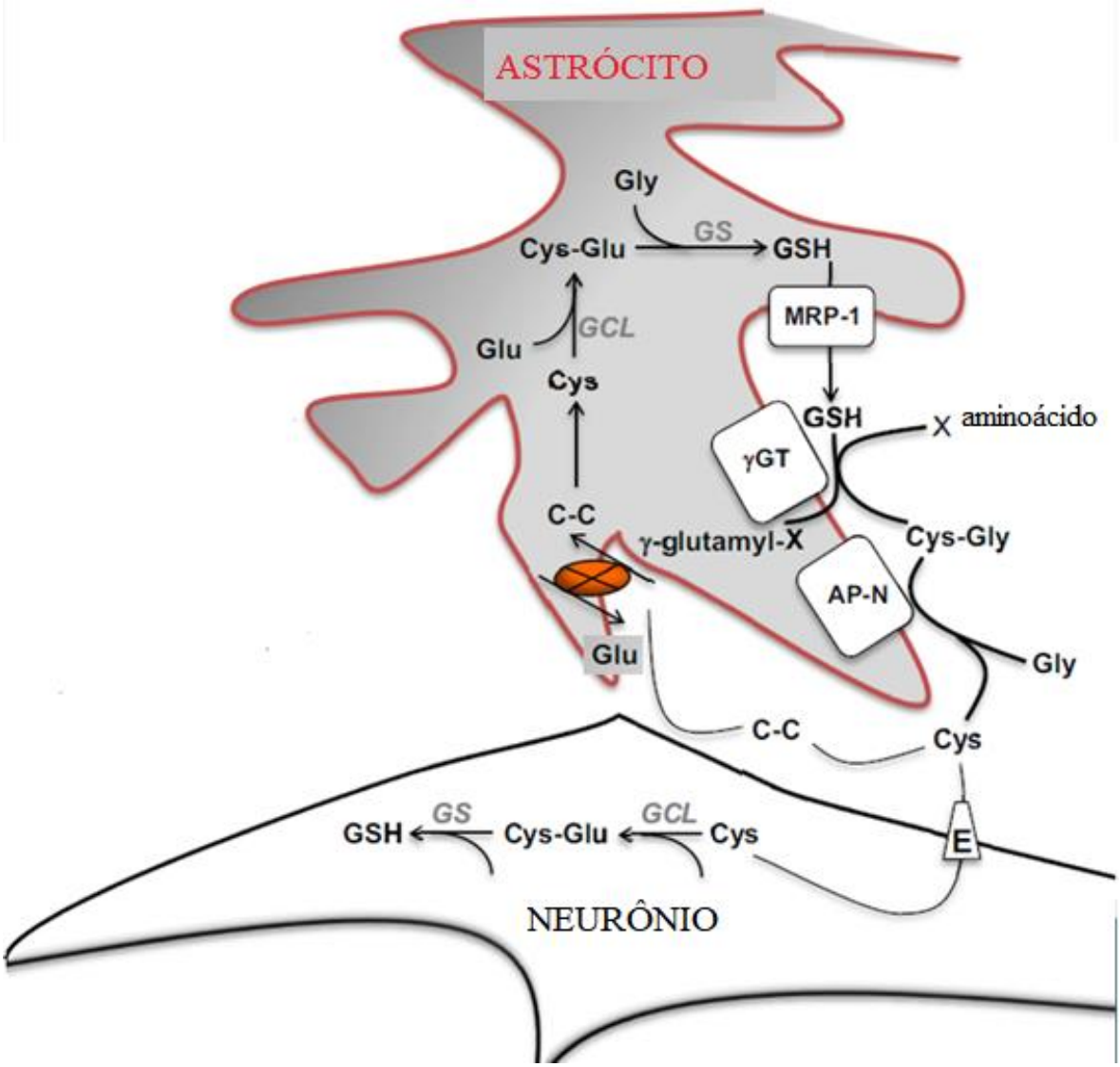
1.3- N-ACETILCISTEÍNA

A n-acetilcisteína (NAC) é uma droga já utilizada há mais de 30 anos na medicina, no tratamento da intoxicação por acetaminofeno, na prevenção de nefropatia por contraste radiológico, como mucolítico na DPOC e como agente terapêutico no manejo do HIV. Mais recentemente, surgiram estudos que suportam o uso da NAC no tratamento de diversos transtornos neuropsiquiátricos, como depressão, transtorno afetivo bipolar, dependência química e esquizofrenia, a maior parte com resultados favoráveis a este fármaco (DEAN et al., 2011, BERK et al., 2013).

A NAC, o precursor acetilado do aminoácido L-cisteína, é disponível nas apresentações intravenosa, oral e aerossol (SAMUNI et al., 2013), com meia vida de 5.6h após uma dose intravenosa, sendo 30% eliminados pela via renal. A relativa baixa biodisponibilidade pela via oral (5%) ocorre pela N-deacetilação na mucosa intestinal e pelo metabolismo de primeira passagem no fígado. No ambiente pró-oxidante do plasma, ocorrem reações entre a NAC, cistina (Cys) e cisteína (Cys-Cys), resultando em NAC-cisteína, NAC-NAC e cisteína. Esta última atravessa a membrana celular e irá participar das reações para a síntese de GSH (SAMUNI et al., 2013).

A GSH não pode ser oferecida diretamente, pois seria metabolizada pelo fígado na primeira passagem e a L-cisteína não atravessa a barreira hematoencefálica (DEAN et al., 2011; KULAK et al., 2013; BERK et al., 2013; SAMUNI et al., 2013). A NAC surge como um provedor de cisteína, aumentando os níveis cerebrais desta. A Figura 2 evidencia as relações entre a cisteína e o glutamato. Com o aumento da cisteína

extracelular, ocorre troca com glutamato intracelular dos astrócitos por um mecanismo antiporte (chamado sistema x(c)), que aumenta o glutamato extracelular (BERK et al., 2013; BRIDGES et al., 2012). Postula-se, então, que esta liberação não-vesicular modula a liberação vesicular de glutamato. Com a maior oferta de cisteína, segue-se um aumento na concentração de GSH.



,

Figura 2: Havendo aumento da cisteína (C-C) extracelular, ocorre troca com glutamato (Glu) intracelular dos astrócitos por um mecanismo antiporte (chamado sistema x(c)), que aumenta o glutamato extracelular.(Fonte: SAMUNI et al., 2013)

Em modelos animais de esquizofrenia, os estudos com a NAC tem mostrado resultados favoráveis, como por exemplo os estudos realizados com roedores *knockout*

para a subunidade GCLM, os quais apresentam menor quantidade de interneurônios parvalbumínicos (CABUNGCAL et al., 2013), essenciais para a coordenação da sincronia neuronal durante o processamento sensorial e cognitivo, estando disfuncionais na esquizofrenia, sendo este efeito prevenido pela NAC (CABUNGCAL et al., 2013). Outro estudo neste mesmo tipo de roedor mostrou que a NAC normalizou alterações neuroquímicas vistas principalmente em idade pré-puberal para modelos de esquizofrenia, como as elevações de glutamina (Gln), glutamato (Glu), Gln/Glu, N-metilaspartato, mioinositol, lactato e alanina (DAS NEVES DUARTE et al., 2012).

Outro estudo mostrou que a NAC bloqueou as alterações neuroquímicas resultantes da administração de fenciclidina e restaurou as alterações na memória de trabalho causadas pela PCP (BAKER et al., 2008). Outros estudos mostraram ainda atenuação dos efeitos da fenciclidina na inibição pré-pulso quando se administrou NAC (LUTGEN et al., 2013) e também melhora na inibição pré-pulso em roedores *knockout* para o receptor de glutamato tipo 5 (mGluR5) (CHEN et al., 2010). Ainda, a NAC mostrou ser eficaz na reversão da depleção de GSH em roedores tratados com 2-ciclohexeno-1 (CHX) (DEAN et al., 2011) e da disfunção causada pelo CHX na memória espacial de curta duração (CHOY et al., 2010).

Em um estudo anterior (BERK et al., 2008), verificou-se melhora dos sintomas negativos da esquizofrenia com a adição de NAC ao tratamento antipsicótico, utilizando uma dose de 2g/dia de NAC. Dessa amostra de 140 pacientes, 45% eram pacientes tratados com clozapina. Em 2013, FAROKHNIA et al. constataram, em portadores de esquizofrenia em uso de risperidona, que o grupo que utilizou NAC na dose 2g/dia durante oito semanas apresentou melhora de sintomas negativos importantes em relação ao placebo ($p<0,001$).

Mais recentemente, SEPEHRMANESH et al. (2018) mostraram que sujeitos portadores de esquizofrenia na fase crônica ($n=84$), utilizando NAC 1200mg/dia durante doze semanas, apresentaram melhora na PANSS positiva e negativa ($p<0,01$) em relação ao placebo, além de melhora nos domínios cognitivos como atenção, memórias de trabalho e de curto prazo e na velocidade de processamento ($p<0,01$). Em outro estudo avaliando a cognição, RAPADO-CASTRO et al. (2017) observaram que a adição de NAC 2g/dia por 24 semanas, em comparação ao placebo, melhora na performance da memória

de trabalho (p=0,027) em sujeitos com psicose (esquizofrenia e transtorno bipolar). A Tabela 1 resume os achado dos ensaios clínicos realizados até o momento.

Tabela 1: Ensaios clínicos randomizados com sujeitos portadores de esquizofrenia . (↓) redução nos escores estatisticamente significativa do grupo que utilizou NAC em relação ao placebo (*amostra incluiu sujeitos com transtorno bipolar).

Estudo	***N***	**Duração**	**Dose NAC**	**Achados significativos**
BERK et al., 2008	140	24 sem.	2000mg/dia	↓PANSS-T, ↓PANSS-N, ↓PANSS-G e ↓CGI
FAROKHNIA et al., 2013	42	8 sem.	2000mg/dia	↓PANSS-T, ↓PANSS-N
SEPEHRMANESH et al., 2018	84	12 sem.	1200mg/dia	↓PANSS-T, ↓PANSS-N, melhora cognitiva: atenção, memórias de trabalho e curto prazo e velocidade de processamento
RAPADO-CASTRO et al., 2017*	58	24 sem.	2000mg/dia	Melhora na performance da memória de trabalho

Como mencionado anteriormente, a NAC atua também na regulação da neurotransmissão glutamatérgica. Dois estudos (LAVOIE et al. 2008; CARMELI et al., 2012) utilizando a mesma amostra de sujeitos, observaram, respectivamente, melhora da sincronização no eletroencefalograma após a administração de NAC (CARMELI et al., 2012) e melhora das alterações no potencial evocado *mismatch negativity* com o uso de NAC, um potencial auditivo de longa latência que fornece uma medida objetiva das habilidades de discriminação e memória sensorial auditiva e parece ser mediado pela ativação de receptores NMDA (LAVOIE et al. 2008). Já DAVIS et al. (2017) não observou melhora dos sintomas avaliados através da PANSS, adicionando NAC 1200mg/dia ou placebo por oito semanas, porém observou efeitos eletroencefalográficos relacionados à cognição e à atividade glutamatérgica mediada por receptores NMDA. A Tabela 2 resume estes achados.

Tabela 2: Resumo dos estudos que evidenciam ação glutamatérgica da NAC.

Estudo	***N***	**Duração**	**Dose NAC**	**Achados significativos**
LAVOIE et al., 2008	11	16 sem.	2000mg/dia	Melhora no *mismatch negativity*
CARMELI et al., 2012	11	16 sem.	2000mg/dia	Sincronização do EEG
YANG et al., 2019	26	8 sem.	2400mg/dia	Melhora da sincronização neuronal medida pelo ASSR, não observou diferenças no MMN

Devido ao efeito da NAC sobre o estresse oxidativo, alguns autores tem discutido sobre o papel desta substância na fase inicial da psicose, ou seja, nos primeiros cinco anos, postulando-se que devido ao EO agir como um fator deletério logo no início da doença, haveria uma tendência a uma melhor resposta clínica em sujeitos em fase inicial. Um estudo recente realizado em sujeitos (n=60) na fase inicial de psicose (esquizofrenia e transtornos psicóticos relacionados), utilizando a dose de NAC de 3600mg/dia e com duração de 52 semanas, (BREIER et al., 2018) mostrou que a NAC melhorou significativamente em comparação ao placebo os escores na PANSS total ($F = 14.7$, $p<0.001$), PANSS negativa ($F = 5.1$, $p <0.024$) e o pensamento desorganizado ($F = 13.7$, $p<0.001$), porém não houve diferenças em relação ao placebo na PANSS positiva, na BACS (teste neurocognitivo) e na medição da volumetria cerebral através de RNM . Outro estudo realizado na fase inicial (CONUS et al., 2018) não observou melhora de sintomas negativos avaliados pela PANSS em sujeitos (n=63) na fase inicial da psicose (< 5 anos), adicionando NAC 2700mg/dia ou placebo por seis meses ao tratamento com antipsicóticos; porém, foi observada melhora na velocidade de processamento ($F=4,28$ e $p=0,022$) e na fluência verbal ($F= 5,75$ e $p=0,023$). Neste mesmo estudo, um subgrupo de sujeitos com estado oxidativo inicial elevado teve melhora significativa dos escores na PANSS positiva. Em outros dois estudos derivados dessa mesma amostra de CONUS et al. (RETSA et al., 2018 e KLAUSER et al., 2018) observou-se, respectivamente, melhora do componente N100 do potencial auditivo evocado, que está diminuído já na fase inicial da psicose, em sujeitos que utilizaram NAC em comparação ao placebo ($F = 5.11$, $p<0.05$) e melhora na integridade da substância branca, medida através da anisotropia fracional

generalizada (gFA), em que o grupo que utilizou NAC obteve um aumento de 11% em relação ao placebo. A tabela 3 apresenta os estudos realizados em psicose de início recente.

Tabela 3: Estudos realizados em sujeitos com psicose de início recente.* (↓) redução nos escores estatisticamente significativa do grupo que utilizou NAC em relação ao placebo.

Estudo	***N***	**Duração**	**Dose NAC**	**Achados significativos**	**Neuroimagem**
BREIER et al., 2018	60	52 sem.	3600mg/dia	↓PANSS-T, ↓PANSS-N e pensamento desorganizado	Não observou diferenças na volumetria
CONUS et al., 2018	63	24 sem.	2700mg/dia	Velocidade de processamento e fluência verbal	-
RETSA et al., 2018	15	24 sem.	2700mg/dia	Componente N100 do processamento auditivo	-
KLAUSER et al., 2018	20	24 sem.	2700mg/dia	-	Melhora na integridade da substância branca, medida através da anisotropia fracional generalizada (gFA)

Embora, nas últimas décadas, o estudo dos mecanismos neurobiológicos subjacentes aos transtornos psiquiátricos e os efeitos de manipulações farmacológicas tenham recebido importante contribuição das técnicas de neuroimagem funcional, há poucos estudos utilizando estas técnicas de investigação para avaliar os efeitos da NAC no cérebro saudável ou em amostras de pacientes com esquizofrenia.

1.4- *ARTERIAL SPIN LABELING*

A ressonância magnética nuclear (RMN) vem evoluindo nos últimos 30 anos, começando com a melhora da qualidade da RMN estrutural, passando pelo desenvolvimento da RMN funcional (RMNf), que fornece informações sobre o estado fisiológico do órgão estudado (GÜNTHER, 2013) e, mais recentemente, com novas técnicas que avaliam a perfusão cerebral, dentre elas destacando-se a *arterial spin labeling (ASL)*, com a clara vantagem de não precisar de meios de contraste ou radiofármacos para avaliar a perfusão cerebral (GÜNTHER,2013; WATTS et al., 2012). Trata-se de uma técnica que surgiu experimentalmente em 1992 e tem sido cada vez mais integrada a prática clínica, principalmente com o surgimento dos aparelhos de RMN de 3.0 Tesla (GÜNTHER, 2013). Nesta técnica, a água do sangue arterial é "marcada" com um spin diferente da água presente nos tecidos a serem avaliados, dessa forma servindo como um contraste endógeno e possibilitando a medição da perfusão tecidual (GÜNTHER, 2013; SHEEF et al., 2010) e, portanto, pode oferecer um potencial marcador de resposta terapêutica na esquizofrenia, através de mudanças no fluxo sanguíneo cerebral regional (rFSC) causado pelo fenômeno de acoplamento neurovascular (ALLEN et al. 2016). Logo, esta técnica constituiria uma boa opção para a investigação dos efeitos da NAC na perfusão de áreas cerebrais de interesse em pacientes portadores de esquizofrenia.

Existem basicamente três modos para se realizar a ASL (GÜNTHER, 2013; SHEEF et al., 2010): contínua (CASL) , pulsada (PASL) e pseudocontínua (pCASL) – tabela 3. Na CASL utilizam-se pulsos de inversão longos, que duram de 1-3s, combinado com um campo de gradiente constante que inverte o fluxo de spins que atravessa um plano de marcação estreito, que é normalmente perpendicular às artérias carótidas ao nível da junção ponto-medular (SHEEF et al., 2010). A PASL, por sua vez, utiliza pulsos de inversão curtos (1ms), em uma área de marcação mais espessa (pelo menos 10mm), para medir as mudanças na intensidade de sinal em uma área adjacente a área marcada(GÜNTHER, 2013; SHEEF et al., 2010). A PASL tem a vantagem de controlar melhor o efeito de transferência de magnetização (TM) (GÜNTHER, 2013). A TM resulta da ligação de prótons a macromoléculas, resultando na transferência de magnetização para a água, interferindo tanto para aumentar ou diminuir o sinal adquirido, sendo este efeito

mais difícil de ser controlado na CASL (GÜNTHER, 2013). Por sua vez, a técnica da pCASL permite tanto controlar melhor a TM quanto aumentar a eficiência da marcação, além de reduzir a demanda sobre a máquina de RMN. Por essa razão, a pCASL foi a técnica aplicada no estudo.

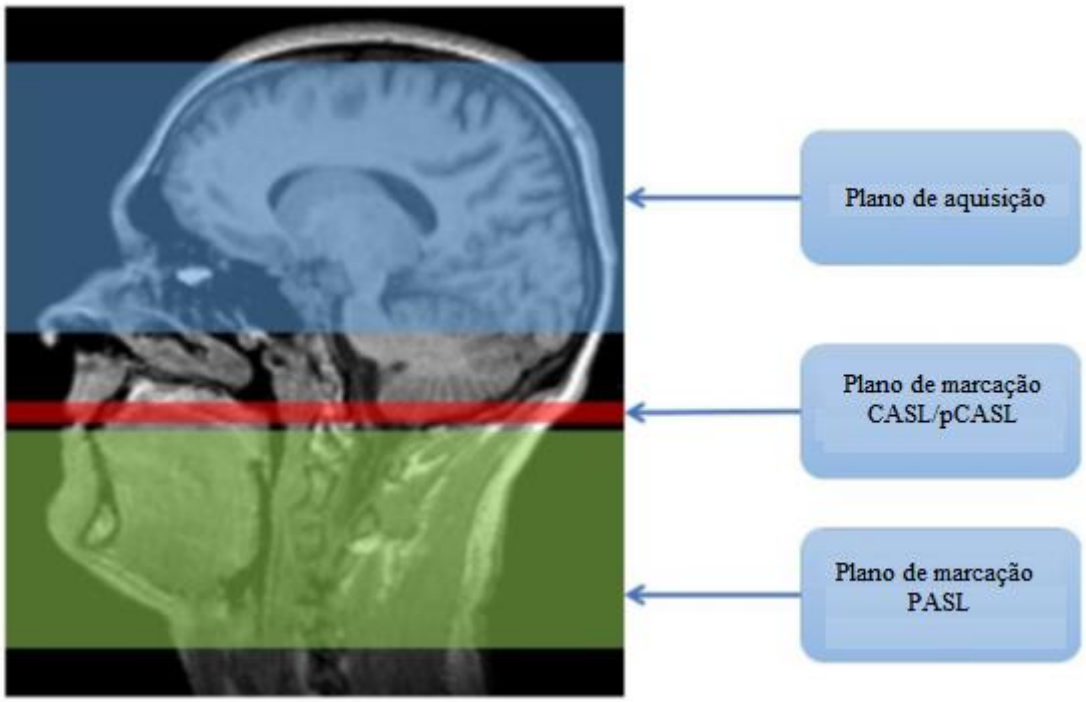


Figura 3: Planos de marcação e de aquisição nos diferentes métodos de ASL. Fonte: OLIVEIRA, 2017

Houve um aumento nos estudos que utilizaram ASL na esquizofrenia, nos últimos anos, os quais tem mostrado que os sujeitos portadores de esquizofrenia apresentam uma redução da perfusão em repouso em grandes áreas dos lobos frontais (LEGIND et al., 2019, OLIVEIRA et al., 2018, ZHU et al., 2015, KINDLER et al., 2015, PINKHAN et al., 2011, WALTHER et al., 2011 e SCHEEF et al., 2011), no giro do cíngulo (ZHU et al., 2015, PINKHAN et al., 2011 e SCHEEF et al., 2011) e nos lobos parietais (SCHEEF et al., 2010, PINKHAM et al., 2011). Observa-se, portanto, que a ASL tem corroborado os achados de outras técnicas de neuroimagem que sugerem uma disfunção de regiões frontais do cérebro, que se correlacionam principalmente com sintomas negativos e cognitivos.

Também foi observado em estudos com ASL conduzidos em esquizofrênicos com catatonia associada que houve aumento do FSC em áreas e pré-motoras (FOUCHER et al., 2018) e na área motora suplentar (WALTHER et al., 2016). Já PINKHAN et al. (2015) demonstrou aumento da perfusão da amgídala esquerda em sujeitos com ideação paranóide persistente. Em outro estudo interessante, HOMAN (2012) mostrou que sujeitos com alucinações auditivas persistentes apresentavam aumento do FSC mantido no giro temporal superior esquerdo em comparação aos que respondiam à estimulação magnética transcraniana.

Outros estudos mostraram redução da perfusão no tálamo e aumento da perfusão dos gânglios basais (LIU et al., 2012 e ZHU et al., 2015), sendo que o último resultado parece estar associado ao uso de antipsicóticos, conforme demonstrado por HANDLEY et al. (2013) em um estudo com administração de dose única de haloperidol e aripiprazol. Além disso, há relato de maior prejuízo no pensamento formal associado a menor perfusão nas áreas da linguagem frontal e temporo-parietal esquerdas (HORN et al., 2009). A Tabela 4 (pág. 32) resume os principais estudos sobre ASL na esquizofrenia.

Um estudo recente publicado pelo nosso grupo de pesquisa (OLIVEIRA et al., 2017) mostrou que sujeitos com esquizofrenia em comparação com controles saudáveis, utilizando a técnica ASL, apresentaram redução de FSC em estado de repouso em regiões bilaterais do polo frontal e giro frontal superior, giro frontal medial direito, partes triangular e opercular do giro frontal inferior direito, e na divisão posterior do giro supramarginal esquerdo (Figura 4, pág. 34), corroborando o achado de hipofrontalidade nesses sujeitos. A Figura 5 (pág. 35) mostra os mapas quantitativos de FSC de portadores de esquizofrenia e de controles saudáveis (OLIVEIRA et al., 2017).

Os efeitos da NAC também foram avaliados na RMNf utilizando a ASL, em portadores de esquizofrenia, pois um estudo recente (MCQUEEN et al., 2018) mostrou que a NAC, em dose única de 2400mg, não alterou a perfusão cerebral nestes sujeitos, em repouso e medida através da ASL, mostrando que a NAC parece não apresentar efeitos agudos no aumento perfusão cerebral, como foi observado em animais submetidos à lesão por isquemia-reperfusão (LEE et al., 2008), uma vez que poderia ser argumentado que os efeitos da NAC observados na ASL decorreriam de alterações agudas na vasodilatação.

Apesar de a neuroimagem ter contribuído para o maior entendimento dos efeitos centrais de medicações utilizadas para o tratamento da esquizofrenia, até o momento

existem poucos estudos que procuram avaliar os mecanismos centrais relacionados às propriedades antipsicóticas da NAC, e apenas um deles utilizando RMN com ASL, porém a droga foi administrada em dose única e as imagens de FSC antes e depois da administração foram obtidas no mesmo dia (MCQUEEN et al., 2018). Este estudo não mostrou diferenças no FSC entre voluntários com esquizofrenia e controles saudáveis.

Tabela 4: Estudos que utilizaram ASL em indivíduos portadores de esquizofrenia.

Estudo	***N***	**Técnica**	**Desenho**	**Achados Principais**
LEGIND et al., 2019	181	pCASL	FSC em pares de gêmeos com pelo menos 1 afetado em comparação com controles saudáveis, em estado de repouso.	Alterações no FSC nos lobos frontais, tálamo e putâmem.
FOUCHER et al., 2018	56	ASL	Comparação de FSC entre esquizofrênicos e controles saudáveis.	FSC aumentado nas áreas motoras e pré-motoras esquerdas no fenótipo Catatonia Periódica. Na Catatonia houve redução do FSC nas junções temporo-parietais.
CANTISANI et al., 2018	27	pCASL	Avaliação do FSC no início e após 6 meses, correlacionando-o com a capacidade functional.	O FSC nos giros frontais médio e superior correlacionou-se negativamente com a capacidade funcional: aumento do FSC por compensação a uma disruptura na conectividade?
OLIVEIRA et al., 2018	56	pCASL	Comparação de FSC entre esquizofrênicos e controles saudáveis.	Redução do FSC em estado de repouso em regiões bilaterais do polo frontal e giro frontal superior, giro frontal medial direito, partes triangular e opercular do giro frontal inferior direito, e na divisão posterior do giro supramarginal esquerdo.
CUI et al., 2017	75	pCASL	Comparação de FSC entre esquizofrênicos e controles saudáveis.	Portadores de esquizofrenia com alucinações auditivas persistentes apresentaram padrão de desconectividade maior entre as áreas relacionadas à linguagem.
WALTHER et al., 2016	83	pCASL	Comparação de FSC entre esquizofrênicos com e sem catatonia e controles saudáveis.	Aumento do FSC na área motora suplementar bilateralmente nos esquizofrênicos com catatonia. Os autores consideraram esse achado com marcador específico de catatonia na doença.
PINKHAN et al., 2015	57	pCASL	Comparação de FSC entre esquizofrênicos com e sem paranoia e controles saudáveis.	Aumento do FSC na amígdala esquerda.
ZHU et al., 2015	194	pCASL	Comparação de FSC entre esquizofrênicos e controles saudáveis.	Aumento do FSC no giro temporal inferior tálamo e putâmem. Redução do FSC na ínsula e giro frontal médio esquerdos, cíngulo anterior bilateral e no giro occipital médio.

KINDLER et al., 2015	61	pCASL	Comparação de FSC entre esquizofrênicos e controles saudáveis.	Diminuição do FSC em regiões frontais.
HOMAN et al., 2012	24	pCASL	Comparação de FSC entre esquizofrênicos com alucinações auditivas persistentes após estimulação magnética transcraniana.	Persistência do aumento no FSC do giro temporal superior esquerdo nos portadores de esquizofrenia que não responderam à estimulação magnética transcraniana.
LIU et al., 2012	39	ASL	Comparação de FSC entre esquizofrênicos e controles saudáveis.	Redução FSC no tálamo e aumento nos gânglios basais.
PINKHAN et al., 2011	57	PASL	Comparação de FSC entre esquizofrênicos e controles saudáveis.	Associação entre maior severidade dos sintomas negativos com a diminuição no FSC giro temporal superior bilateralmente, giro do cíngulo e giro frontal médio esquerdo. Associação entre maior severidade dos sintomas positivos com aumento do FSC no giro frontal superior e cingulado e diminuição do FSC no giros frontais pré-central e médio.
WALTHER et al., 2011	25	PASL	Comparação de FSC entre esquizofrênicos e controles saudáveis.	Redução do FSC no giro parahipocampal esquerdo, giro temporal médio esquerdo tálamo direito, e córtex pré-frontal esquerdo.
SCHEEF et al., 2011	36	CASL	Comparação de FSC entre esquizofrênicos e controles saudáveis.	Redução do FSC em lobos frontais bilateralmente, no giro do cíngulo anterior e médio e nos lobos parietais bilateralmente.
HORN et al., 2009	26	ASL	Comparação de FSC entre esquizofrênicos e controles saudáveis.	Associação de maior prejuízo no pensamento formal com redução no FSC nas áreas da linguagem frontal e temporo-parietal esquerdas.

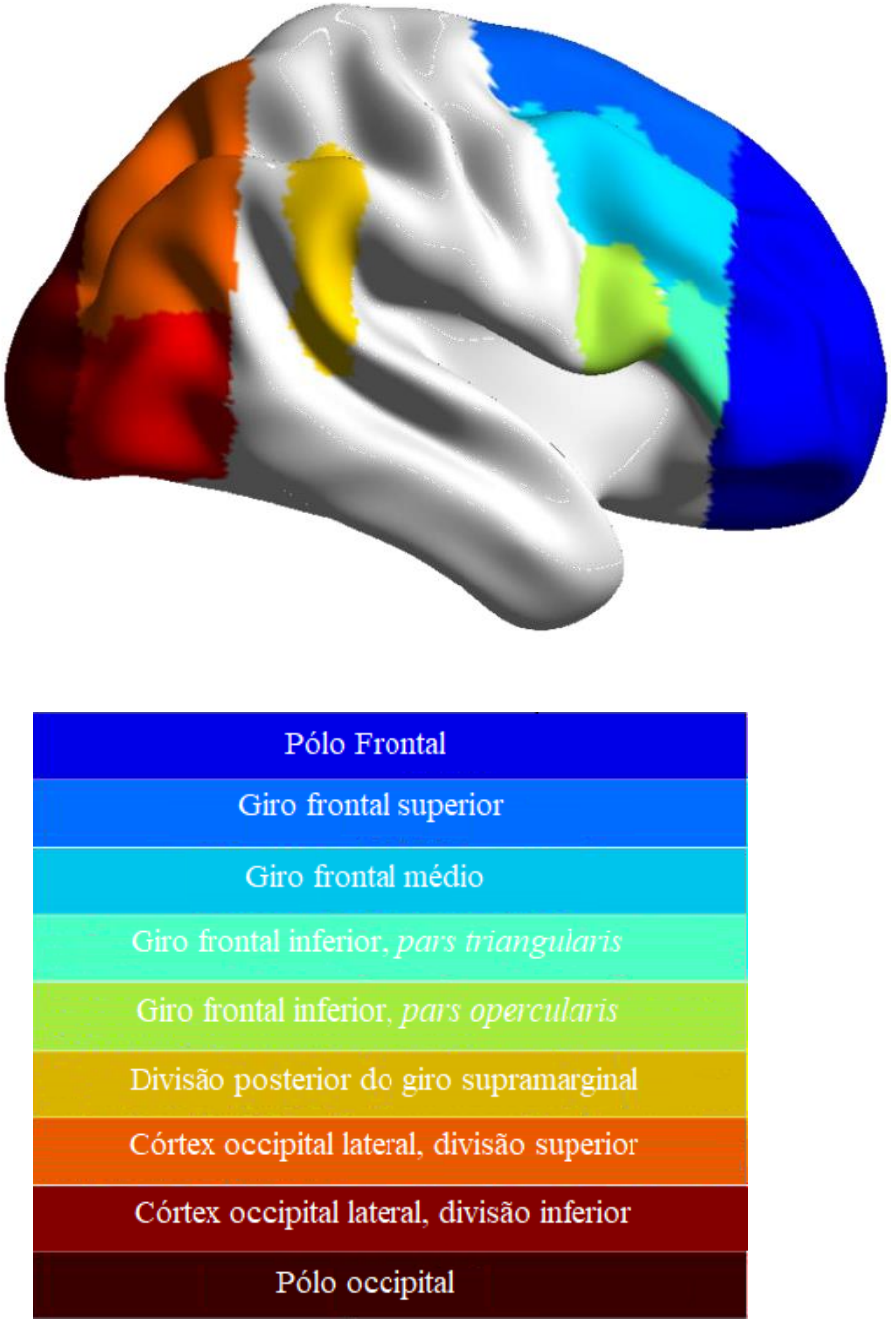


Figura 4: Áreas cerebrais com redução do FSC em comparação com voluntários saudáveis. Fonte: OLIVEIRA et al., 2017.

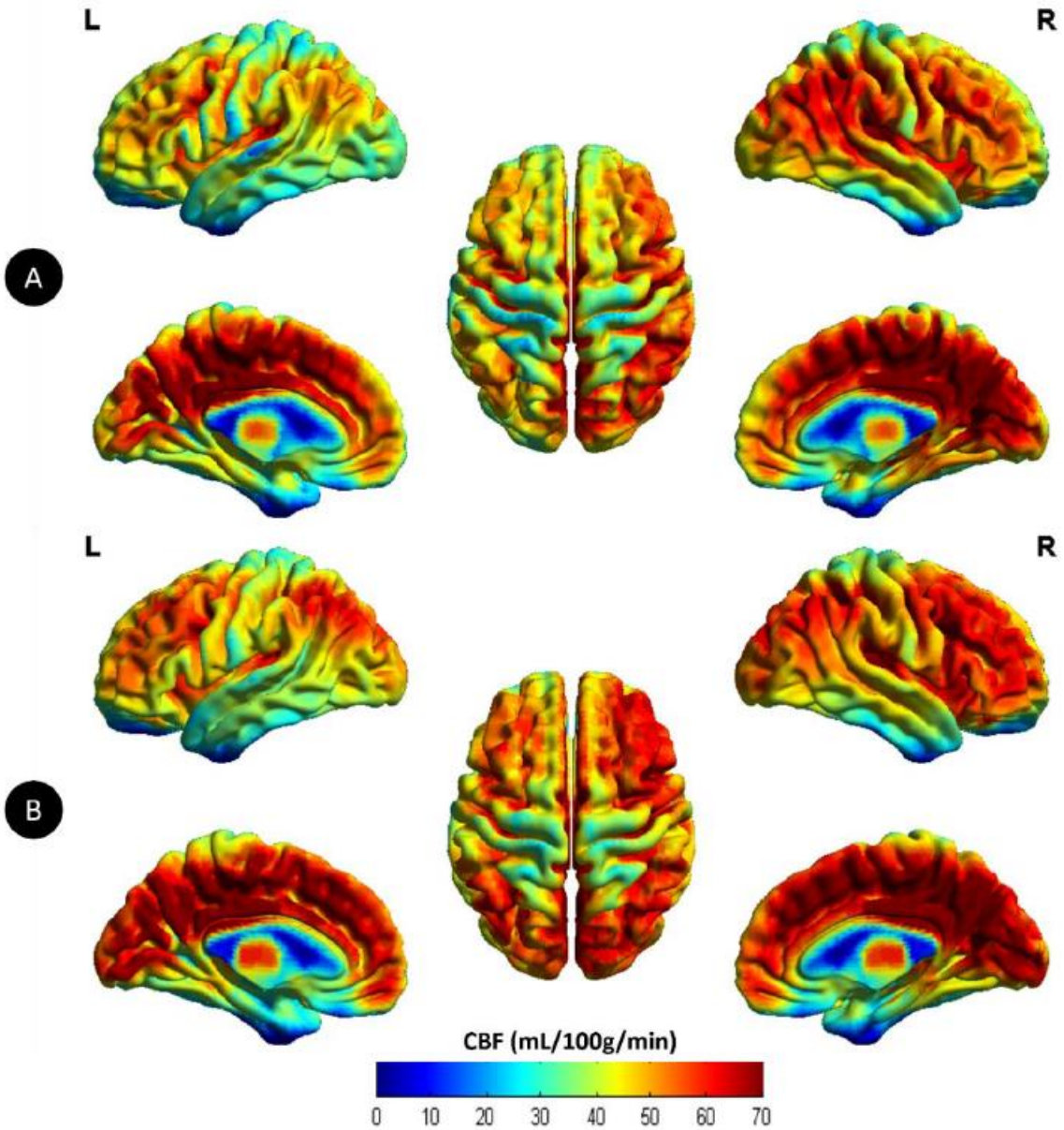


Figura 5: Mapas quantitativos de FSC de (A) portadores de esquizofrenia e (B) controles saudáveis (L: hemisfério esquerdo; R: hemisfério direito. Fonte: OLIVEIRA et al., 2017.

Estes trabalhos têm mostrado que a ASL é uma técnica de neuroimagem funcional promissora, que alcançou um desenvolvimento significativo na esquizofrenia, pois o número de estudos publicados tem aumentado a cada ano. Entretanto, tais achadosainda não foram transportados para a prática clínica, estando restritos ao campo experimental. Também dessa forma, a NAC tem sido mais pesquisada na esquizofrenia, com onze estudos publicados até o momento, realizados em portadores de esquizofrenia. Nos estudos publicados, este fármaco mostrou melhora de sintomas negativos em uma parte

dos estudos, além de melhora em alguns domínios cognitivos, como memória de trabalho e fluência verbal. Além disso, a ASL foi pouco utilizada em pacientes portadores de esquizofrenia para avaliar alterações na perfusão cerebral em regiões de interesse em ensaios clínicos com fármacos, e apenas um estudo avaliando efeito da NAC na perfusão cerebral por esta técnica até o presente. Tendo em vista o exposto, as hipóteses testadas neste estudo foram que a NAC teria efeitos sobre os sintomas da esquizofrenia, principalmente nos sintomas negativos, além de alterar o FSC nas regiões de interesse (ROI) que já se mostraram alteradas em sujeitos com esquizofrenia, tais como as áreas frontais.

2- OBJETIVOS

2.1- GERAL

Investigar os efeitos da NAC em pacientes portadores de esquizofrenia refratária tratados com clozapina em um estudo randomizado, desenho duplo-cego e controlado por placebo.

2.2- ESPECÍFICOS

Avaliar os efeitos do tratamento com NAC sobre:

1. Os sintomas positivos e negativos da esquizofrenia;
2. Avaliar a perfusão cerebral através de RMN com o protocolo ASL, durante o estado de repouso, em sujeitos com esquizofrenia refratária.

3- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1- SUJEITOS

Participaram do estudo 20 sujeitos portadores de esquizofrenia, diagnosticados pelos critérios do Manual Diagnóstico e Estatístico da Associação Psiquiátrica Americana – 5ª edição (*Diagnostic and Statistical Manual* – DSM-5) e classificados como refratários ao tratamento medicamentoso de acordo com os seguintes critérios: ausência de melhora significativa da psicopatologia e da impressão clínica global apesar do tratamento com pelo menos dois antipsicóticos diferentes de pelo menos duas classes diferentes, sendo pelo menos um deles um antipsicótico atípico, nas doses terapêuticas recomendadas, por um período de 4 a 8 semanas por droga (HASAN et al., 2012). O fluxograma (Figura 6, pág. 36) resume o processo de seleção da amostra do estudo.

Os pacientes foram selecionados dentre os pacientes em seguimento no Serviço de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP-USP) de acordo com os critérios de inclusão e exclusão descritos abaixo.

Critérios de inclusão:

- Idade mínima de 18 anos;
- Diagnóstico de esquizofrenia de acordo com os critérios do DSM-V;
- Ter feito uso apenas de clozapina no período de 3 meses anteriores ao estudo (qualquer outro psicotrópico não foi permitido);
- Estar em uso estável de clozapina, sem qualquer mudança posológica nas últimas 6 semanas.

Critérios de exclusão:

- Presença de condição médica geral relevante (doenças cardiovasculares, insuficiência renal, doenças neurológicas, doenças hepáticas, deficiência de vitamina B12 não controlada, hipotireoidismo não controlado);
- História de hipersensibilidade à NAC;
- Diagnóstico comórbido de abuso de substância (exceto nicotina e cafeína) ou dependência dentro dos últimos três meses de acordo com os critérios do DSM-5;

- Contraindicação à realização de RMN, como próteses metálicas ou marcapasso.

Os pacientes que preencheram os critérios descritos e forneceram consentimento formal para a participação no estudo foram divididos de forma aleatória em dois grupos, sendo um com pacientes esquizofrênicos refratários utilizando clozapina e placebo e outro com pacientes esquizofrênicos refratários medicados com clozapina e que utilizou NAC na dose 2000 mg/dia, cada um durante oito semanas. Os sujeitos distribuídos através de randomização simples para o tratamento com NAC ou placebo em um modelo duplo-cego. Uma funcionária do Laboratório de Psicofarmacologia do HCFMRP-USP, sem envolvimento na pesquisa, gerou a sequência de alocação. Os participantes foram recrutados pelo pesquisador, que permaneceu cego até o final do estudo.

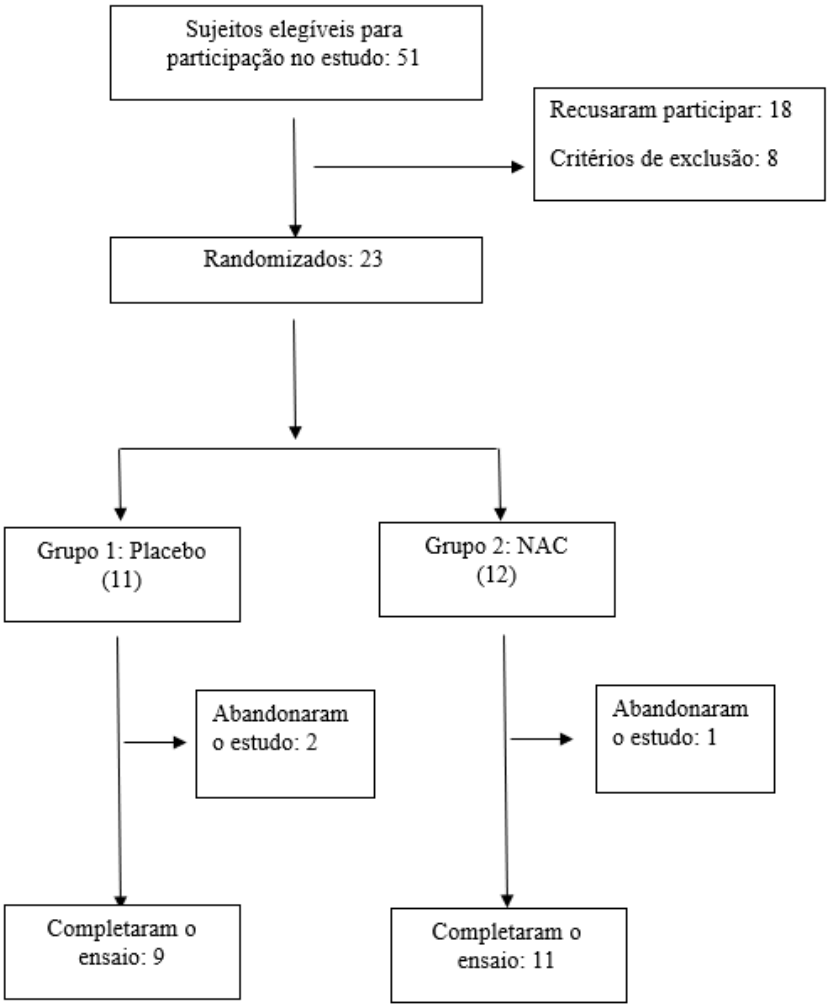


Figura 6: Fluxograma de seleção dos sujeitos.

3.2- INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO

1- Escala Breve de Avaliação Psiquiátrica (*Brief Psychiatric Rating Scale* – BPRS – Anexo II):

A Escala de Avaliação Psiquiátrica Breve (*Brief Psychiatric Rating Scale* - BPRS, OVERALL E GORHAM, 1962) modificada por BECH (1988) e traduzida e adaptada para o português (ZUARDI e col., 1994) foi utilizada para a avaliação de diferentes sintomas psiquiátricos nos dois grupos de pacientes, desde a inclusão (linha de base) até o final do ensaio clínico.

A versão utilizada é composta por 18 itens da escala original desenvolvida por OVERALL E GORHAM (1962). Cada item é pontuado por um entrevistador treinado no uso da mesma, com escore variando entre 0 (mínimo - ausente) e 4 (máximo – presente o tempo todo ou durante a maior parte do tempo).

2- Escala de Avaliação das Síndromes Positiva e Negativa da Esquizofrenia – Escala Negativa (*Positive and Negative Syndromes Scale* – PANSS – Anexo III):

A PANSS foi desenvolvida a partir da BPRS e da PRS (*Psychopathology Rating Scale*) com o intuito de se avaliarem os sintomas positivos e negativos da esquizofrenia. Ela é composta por 30 itens, sendo um grupo de 7 sintomas positivos da esquizofrenia e outro de 7 sintomas negativos, além de 16 itens que constituem uma escala de psicopatologia geral.

Dada a importância dos sintomas negativos na esquizofrenia refratária, apenas a sub-escala negativa, traduzida e adaptada para o português por VESSONI (1993) foi utilizada no estudo.

3.3- DROGAS

3.3.1- NAC

No Brasil, a NAC é comercializada nas doses de 600mg (pó granulado e comprimido efervescente) e 100 e 200mg em pó granulado em forma de xarope (20 e 40mg/ml). É bem absorvida por via oral, com pico plasmático entre 2-3h e meia-vida de eliminação de 5-6h.

Normalmente, o seu uso via oral é bem tolerado, com alguns pacientes apresentando ocasionalmente hipersensibilidade a NAC manifestada através de epigastralgia, náuseas, vômitos e diarreia (BERK et al. 2008; VAN SCHOOTEN et al. 2002; BERH et al., 2002; ADAIR et al., 2001). Não é recomendada sua utilização em pacientes com úlcera gastroduodenal. A NAC não apresenta interação medicamentosa com antipsicóticos em geral e nem com a clozapina (LEXICOMP®) .

Em estudos anteriores (BREIER et al., 2018; CONUS et al., 2018; BERK et al. 2008; DEMEDTS et al., 2005; VAN SCHOOTEN et al. 2002; BERH et al., 2002; ADAIR et al., 2001) foram utilizadas doses entre 1500 à 3600mg de NAC, com boa tolerabilidade e eficácia. Levando-se isso em consideração, e pelo tempo que os sujeitos fariam uso da medicação, optamos pela dose de 2000mg/dia por ser uma dose terapêutica segura e utilizada em alguns dos estudos já realizados.

A NAC foi fornecida em cápsulas de 500mg, em um total de 224 cápsulas por sujeito, acompanhada de um receituário médico com orientações sobre as tomadas da medicação (duas cápsulas a cada 12h). Essas cápsulas foram manufaturadas em farmácia de manipulação, uma vez que não existem no mercado brasileiro nesta apresentação, tendo o mesmo procedimento sido adotado em outros estudos (BERK et al. 2008, LAVOIE et al. 2008), pois só se encontra no mercado a NAC em sachês de 600mg com sabor, o que poderia ser desconfortável para o paciente utilizar ao longo de 56 dias e representaria uma diferença significativa do placebo. A NAC foi fornecida pela empresa Pharmanostra® e as cápsulas foram manufaturadas na farmácia *Homeocenter* (Ribeirão Preto, Brasil), com certificado de análise atestando sua qualidade. A medicação foi entregue no dia do primeiro exame de ressonância, para ser iniciada no dia seguinte.

3.3.2 - PLACEBO

O placebo foi fornecido em cápsulas idênticas às da NAC em tamanho, forma e cor, contendo amido de milho, na mesma quantidade (224 cáp./sujeito), com receituário equivalente e mesma orientação de tomada descrita no item anterior. Assim como no caso da NAC, as cápsulas de placebo foram entregues aos participantes no dia do primeiro exame de ressonância, com orientação para início no dia seguinte.

3.4 - PROCEDIMENTO

3.4.1- PROTOCOLO EXPERIMENTAL

A RMN com ASL foi realizada em duas ocasiões, sendo a primeira antes da introdução de NAC ou placebo e a segunda oito semanas após o início de NAC ou do placebo. Os exames foram realizados no período da manhã (entre 8:00 e 12:00) com o intuito de minimizar efeitos do ciclo circadiano sobre os achados. Os voluntários foram instruídos a não fazer uso de bebida alcoólica nas 48 horas que antecediam a visita ao laboratório e, do mesmo modo, cafeína nas 4 horas anteriores.

Antes de cada exame (60 minutos), foram aplicadas a BPRS e a PANSS-N (escala negativa). Cada exame durou aproximadamente 45 minutos e os pacientes foram liberados em seguida. Os procedimentos de coleta de dados clínicos e de imagem estão detalhados na Tabela 5, abaixo.

Tabela 5. Fluxograma dos procedimentos para coleta de dados.

Tempo	Fase do estudo	Procedimento
Pré-avaliação	Pré-droga	Assinatura do TCLE e avaliação clínica
Dia 0	Pré-droga, chegada ao hospital	BPRS, PANSS-N, realização da RMN com ASL pré-droga e entrega da medicação (NAC 2000mg ou PLB).
Dia 1	Início do tratamento	Introdução da medicação do estudo (NAC ou PLB)
Dia 28	Tratamento	Avaliação clínica, BPRS e PANSS-N
Dia 56	2ª RMN com ASL e fim do tratamento	Avaliação clínica, BPRS e PANSS-N, aquisição das imagens e suspensão do medicamento.

A RMNf não utiliza contraste iodado ou marcador radioativo e suas contraindicações são semelhantes às da RMN convencional, como o uso de marca-passos. Todos os voluntários foram submetidos ao questionário padrão do hospital antes da realização do exame.

3.4.2- AQUISIÇÃO DE IMAGENS

Todas as imagens de RMNf foram adquiridas em um tomógrafo Philips 3.0 T *Achieva* (Philips, Best, Holanda), utilizando uma bobina de crânio de 32 canais. As imagens anatômicas foram adquiridas utilizando uma sequência do tipo gradiente eco ponderada em T1, com os seguintes parâmetros: TR/TE = 7/3.2 ms, FA 8°, matriz = 240 x 240, FOV = 240 x 240 mm2 e 160 fatias de 1mm de espessura.

A imagens de ASL pseudocontínuas (pCASL) em estado de repouso foram obtidas através de uma sequência ecoplanar (EPI – *Echo Plannar Imaging*) 2D com os seguintes parâmetros: TR/TE = 4000/14 ms, FA = 90°, FOV = 240 x 240 mm2, matriz = 160 x 160, 20 fatias de 5mm, sem intervalo; LT = 1650 ms, PLD = 1525 ms, 50 pares controles/marcados, com duração total da sequência de 6min e 48s. Todos os sujeitos foram orientados a permanecerem acordados e a evitarem se mover. Para a quantificação do FSC, uma imagem com densidade de prótons (M0) foi adquirida separadamente, com a mesma geometria e parâmetros da sequência pCASL, mas sem os pulsos de marcação.

3.4.3- PROCESSAMENTO E ANÁLISE DAS IMAGENS

Foram analisadas 102 regiões de interesse (ROI) do espaço padrão MNI 152 (Montreal Neurological Institute), utilizando o atlas Harvard-Oxford (DESIKAN et al., 2006), sendo excluídos o cerebelo, o vermis, a divisão anterior do giro temporal inferior (bilateralmente) e a divisão anterior do cortex temporal fusiforme, devido a uma limitação de aquisição pelo método.

Todo o processamento dos dados foi feito utilizando o programa *Statistical Parametric Mapping* (SPM12; http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12/). Para as imagens de ASL foram utilizados roteiros pré-programados disponíveis no *ASL Toolbox* (WANG et al., 2008) seguindo os seguintes passos: correção de movimento, registro concomitante das imagens anatômicas, filtro temporal, suavização especial com filtro

isotrópico Gaussiano (FWHM = 4 mm), quantificação de FSC e normalização para o espaço padrão MNI (resolução: 2 x 2 x 2 mm^3, tamanho da matriz: 79 x 95 x 79). Foi utilizado um algoritmo modificado para a retirada de artefatos das imagens de ASL. Antes do cálculo do FSC, resíduos oriundos da correção do movimento e do sinal global foram submetidos à regressão a partir das imagens de ASL controle/marcadas (WANG, 2012). As imagens *outlier* de FSC foram removidas através do algoritmo (DOLUI et al., 2016).

As análises das imagens de ASL foram realizadas no programa comercial *Matlab* 2011 (The MathWorks, Inc., MA, USA), utilizando ferramentas do programa *SPM8*. Essas análises também incluem as etapas de pré-processamento citadas acima, além da quantificação do fluxo sanguíneo cerebral.

3.4.4- RECRUTAMENTO

Os voluntários portadores de esquizofrenia refratária em uso exclusivo de clozapina foram convidados a participar do estudo quando faziam suas consultas regulares (mensais). Como já mencionado, os sujeitos foram triados entre os pacientes já atendidos no serviço da psiquiatria do HCFMRP-USP (ambulatório de Esquizofrenia – APQE e ambulatório de Reabilitação Psicossocial – AREP). Na abordagem, era explicado aos voluntários e seus responsáveis, caso houvesse, todo o desenho do estudo, além de potenciais efeitos colaterais advindos do tratamento, sendo a participação condicionada à leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE – ANEXO I), com anuência do responsável pelo sujeito quando pertinente.

3.4.5- LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi conduzido no Laboratório de Psicofarmacologia localizado no terceiro andar do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. A aplicação das escalas ocorre antes do início do tratamento e após quatro semanas e oito semanas, em uma das salas disponíveis no laboratório. Os exames de RMN foram feitos no setor de imagem localizado no mesmo hospital.

3.5- ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi feita utilizando-se o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 22.0. As características clínicas e demográficas da amostra foram comparadas através de análise não paramétrica para os dados categoriais (teste χ^2) e paramétrica para os dados nominais com distribuição normal (teste *t* para amostras independentes). Eventuais diferenças encontradas foram consideradas estatisticamente significativas quando $p \leq 0,05$.

Para garantir que o efeito medido era decorrente da utilização da droga em estudo, foi feito o emparelhamento de variáveis de confusão durante o processo de randomização. Foram pareados todos os parâmetros de confusão tais como idade, sexo, escolaridade, tempo de doença, tempo de psicose não tratada, dose de clozapina e tempo de clozapina. O teste *t* para variáveis independentes foi aplicado para a comparação da média de idade, escolaridade, tempo de doença, tempo de psicose não tratada, dose de clozapina e tempo de clozapina entre os grupos placebo e droga ativa. A homogeneidade das variâncias foi avaliada pelo teste de Lavene, antes da realização dos testes *t*.

Os escores totais da BPRS e da PANSS-N foram submetidos à análise de variância de medidas repetidas (rmANOVA) com os fatores tempo, droga e interação entre os dois fatores. Nos casos em que as condições de esfericidade não foram alcançadas, os graus de liberdade foram corrigidos pelo épsilon de Huynh-Feldt. Quando houve interação significativa entre os fatores tempo e grupo, os dados de cada grupo individualmente (NAC e placebo) foram submetidos a uma rmANOVA analisando-se o fator tempo e o contraste simples da medida inicial com cada uma das avaliações posteriores.

Em relação à análise estatística das imagens, foi utilizado o software *R* (R DEVELOPMENT CORE, 2008). Diferenças entre os grupos foram avaliadas nas ROI utilizando-se testes *t* de duas amostras (teste *t* de Welch). Foram utilizadas correções FDR (*false discovery rate*) para múltiplas comparações nas médias dos mapas de FSC.

4- RESULTADOS

Do total de 23 voluntários que participaram do estudo, 12 foram alocados para o grupo NAC e 11 foram alocados para o grupo placebo. Um sujeito abandonou o estudo no grupo NAC por não tolerar a medicação e dois sujeitos no grupo placebo recusaram-se a continuar por motivos pessoais. Ao final, 11 sujeitos concluíram o ensaio com a medicação no grupo NAC e 9 no grupo placebo. Desses 20 sujeitos, 14 apresentaram dados de neuroimagem completos, sendo que seis sujeitos tiveram tais dados inutilizados por excesso de movimentação e três por terem abandonado o estudo (Figura 7).

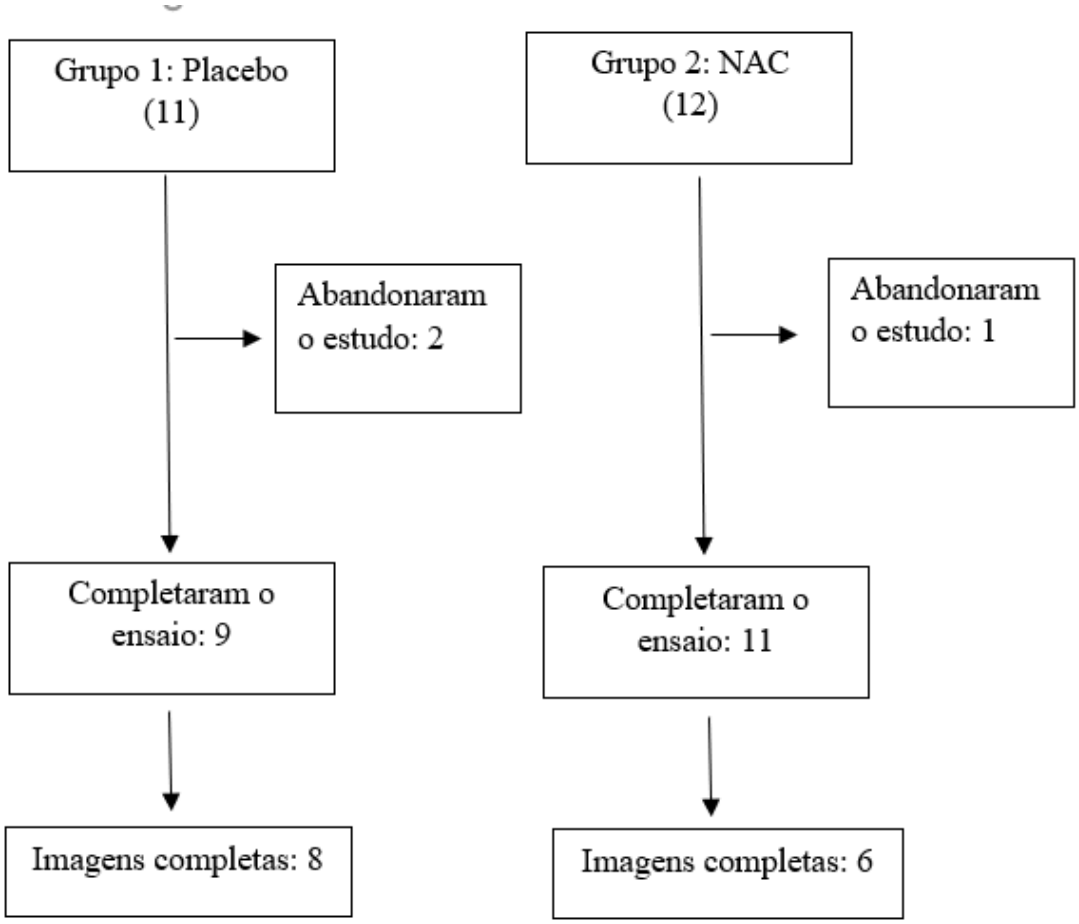


Figura 7: Fluxograma dos sujeitos que participaram do estudo.

As características clínicas e demográficas dos sujeitos estão descritas na Tabela 6. A análise das variáveis não revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos placebo e NAC nas variáveis idade (*t*= -0,506, GL=19, p=0,053), escolaridade (*t*=0,334, GL=19, p=0,951), tempo de doença (*t*= -0,899, p=0,109), duração de psicose não tratada (*t*=-0,306, GL=19, p=0,489), dose de clozapina (*t*=1,615, GL=19, p=0,162) e tempo de uso de clozapina (*t*= -1,395, GL=19, p=0,289). Também não foram observadas diferenças significativas entre as pontuações na BPRS (*t*= 0,405, GL=19, p=0,690) e na PANSS-N (*t*= -0,335, GL=19, p=0,742) na linha de base (D0).

Tabela 6. Características clínicas e demográficas da amostra.

Característica	Placebo	NAC	Valor de p (bicaudal)
Idade	34,67(13,66)	37,17(9,013)	0,619
Sexo (M/F)	9/3	8/3	0,676*
Escolaridade (anos)	10,78(3,56)	10,25(3,59)	0,742
Tempo de doença (anos)	10,78(9,44)	13,75(5,67)	0,380
Tempo de psicose não tratada (meses)	9,04(19,44)	12,95(34,21)	0,763
Dose de Clozapina (mg)	494,44(160,94)	395,83(119,57)	0,123
Tempo de uso de Clozapina (anos)	3,66(2,33)	5,45(3,27)	0,179
BPRS inicial	8,22(5,31)	7,91(2,5)	0,690
PANSSn inicial	23,33(5,72)	25,55(7,71)	0,742

Valores de médias e, entre parênteses, o desvio padrão.*Teste χ^2 de Pearson

4.1- BPRS

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos na pontuação da BPRS, seja no início (D0) ou nos dias 28 e 56 (Tabela 7). Além disso, não houve diferença significativa de efeitos sobre os escores ao longo do tempo ($F_{(2,36)}$ = 0,011, p=0,989 - Gráfico 1).

Tabela 7: Pontuação média BPRS dos grupos tratados com NAC e placebo medidos ao longo do ensaio clínico.

	Placebo	NAC	t	GL	p
D0	8,22(5,31)	7,91(2,5)	0,405	19	0,69
D28	6,78(5,01)	6,36(2,46)	0,416	19	0,682
D56	6,44(3,64)	6,09(2,66)	0,251	18	0,805

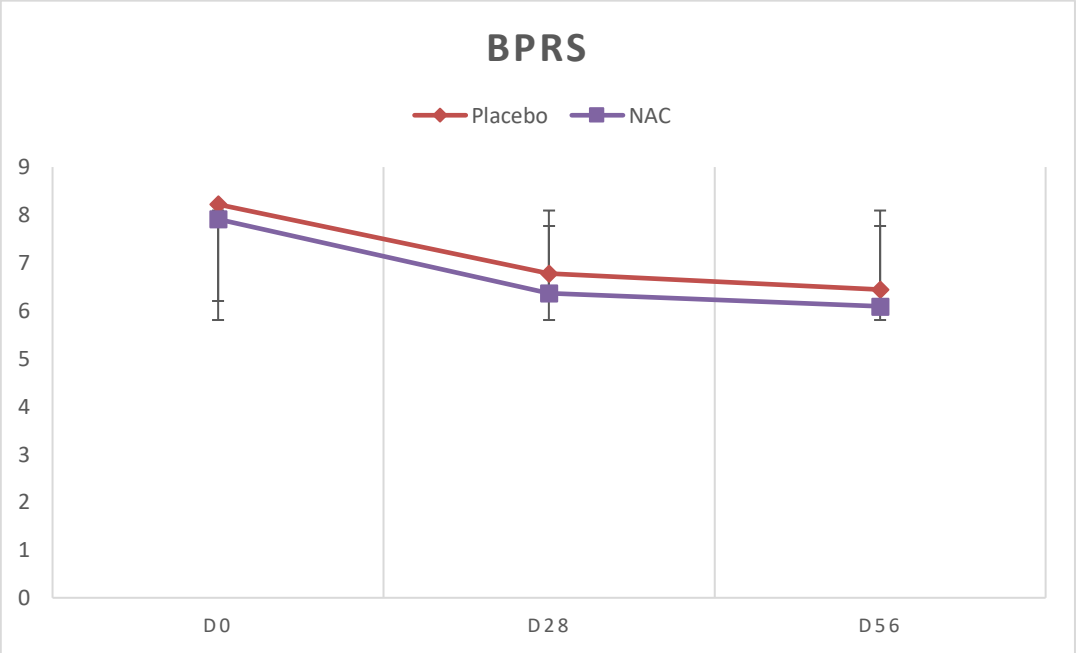


Gráfico 1: Evolução dos escores de BPRS nos grupos placebo e NAC ao longo do ensaio clínico.

4.2- PANSS NEGATIVA

Assim como observado com relação a BPRS, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos nos escores da PANSS-N em nenhum dos pontos de medida do ensaio (Tabela 8). Da mesma forma, não houve diferença significativa de efeitos sobre os escores ao longo do tempo ($F_{(2,36)} = 3,914$, $p=0,094$), conforme mostra o Gráfico 2.

Tabela 8: Pontuação média na subescala negativa da PANSS. Valores de médias, desvio padrão (entre parênteses) e teste t de amostras pareadas.

	Placebo	NAC	t	GL	p
D0	23,33(5,72)	25,55(7,71)	-0,335	19	0,742
D28	22,11(5,011)	24,18(7,46)	-0,349	19	0,731
D56	21,67(4,66)	22,27(6,91)	-0,224	18	0,825

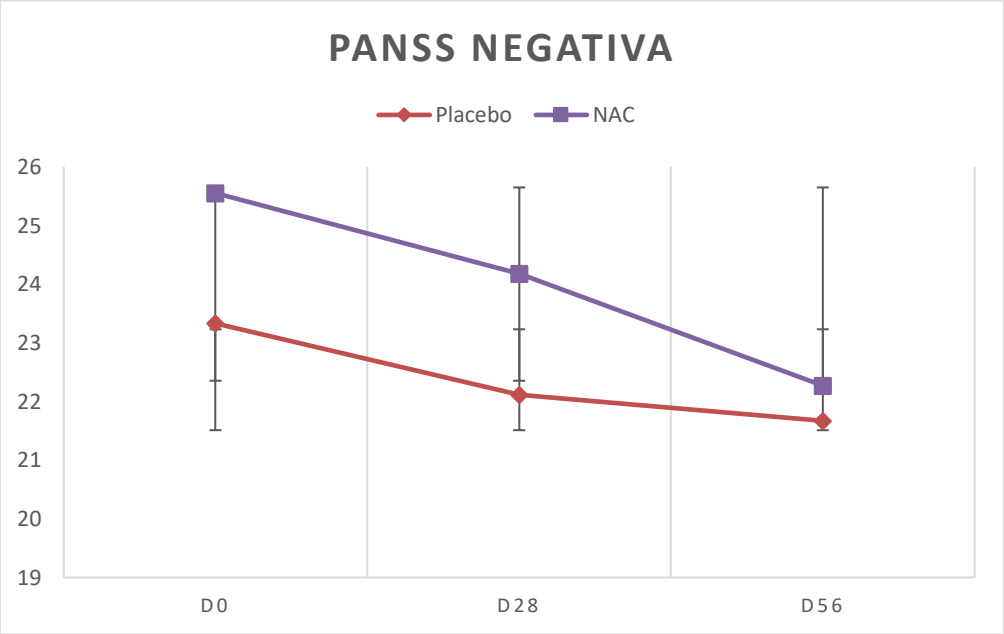


Gráfico 2: Evolução dos escores da PANSS negativa nos grupos placebo e NAC ao longo do ensaio clínico.

4.3- FLUXO SANGUÍNEO CEREBRAL

Os dados de neuroimagem não monstraram diferenças significativas entre os dois grupos de participantes com relação à perfusão cerebral da substância cinzenta total, nas sessões inicial e final, com oito semanas de intervalo, seja nas comparações das sessões intragrupo ou na comparação entre os grupos placebo e NAC. Da mesma forma, não houve diferenças significativas entre os grupos na comparação das diversas regiões de interesse analisadas (teste t de Welch com correção para múltiplas comparações - FDR<0.05). A Tabela 9 apresenta os valores de perfusão cerebral na substância cinzenta total dos sujeitos.

Tabela 9: Dados de perfusão cerebral na substância cinzenta total (ml/100 g/min) de cada sujeito dos grupos Placebo e NAC no início e ao final do ensaio clínico.

	Sujeito	D0	D56
PLACEBO	1	49,2783	45,1674096
	2	62,1547	43,7512402
	3	37,9221	28,9529451
	4	37,5747	24,1780848
	5	57,195	53,2070962
	6	32,0581	37,0671858
	7	42,984	44,0316598
	8	35,9969	36,7317654
	Média	44,4	39,14
	DP	10,8	9,39
	p	0.1582	
NAC	9	28,8077	39,0641707
	10	46,797	39,3930695
	11	41,5285	28,9462821
	12	41,4814	45,1456859
	13	44,7738	34,123808
	14	37,2231	41,548504
	Média	40,1	38,04
	DP	6,43	5,72
	p	0.2849	

4.4- EFEITOS COLATERAIS

Os efeitos colaterais ocorreram em maior proporção no grupo que utilizou a droga ativa. Três sujeitos relataram dispepsia e dois destes relataram vômitos e cefaleia de leve intensidade ao longo do ensaio. Outro sujeito do grupo que utilizou NAC relatou aumento do apetite e ganho de peso. Apenas um sujeito do grupo placebo relatou sensação de inquietação nos membros inferiores. Não houve aplicação de escalas, mas todas as queixas referidas pelos pacientes eram anotadas.

Os efeitos colaterais descritos foram manejados com medicações para dispepsia ou náusea (bromoprida, se necessário) ou apenas com a orientação de tomar a medicação após as refeições. Um dos sujeitos no grupo NAC não tolerou os efeitos adversos da medicação (dispepsia e vômitos) e abandonou o estudo. Outro sujeito apresentou, na última semana de tratamento, vômitos e perda ponderal importante, sendo suspensa a medicação neste período. O sujeito foi avaliado, realizou exames laboratoriais, endoscopia digestiva alta, tomografia computadorizada de abdome e ressonância magnética de abdome devido a suspeita de neoplasia de pâncreas. Após discussão com a equipe de cirurgia geral do HCFMRP-USP, o sujeito foi diagnosticado com pancreatite focal. A equipe cirúrgica não relacionou tal episódio com a medicação do estudo e uma revisão da literatura pertinente não demonstrou a existência de relatos de pancreatite associada ao uso de NAC. O sujeito recuperou-se bem após quatro semanas, retomou seu peso normal, passou a alimentar-se normalmente e permaneceu em acompanhamento pela equipe de cirurgia até receber alta.

5- DISCUSSÃO

Nesse experimento, utilizamos a NAC em sujeitos com esquizofrenia refratária, na dose de 2000mg por dia, com o objetivo de avaliar os seus efeitos sobre os sintomas da esquizofrenia e sobre a perfusão cerebral destes pacientes. A droga mostrou-se segura e não houve efeitos colaterais significativos. Até o momento, este é o primeiro estudo do nosso conhecimento que utilizou uma amostra de sujeitos em uso exclusivo de clozapina e também o primeiro estudo que avaliou os efeitos da NAC na perfusão sanguínea cerebral através da técnica de ASL em portadores de esquizofrenia, após um período de oito semanas de uso da medicação.

Os sujeitos foram recrutados nos ambulatórios de esquizofrenia do HCRP (APQE e AREP), representando uma amostra de aproximadamente 6% do total de pacientes regulares desses ambulatórios. Houve alterações nos sintomas dos voluntários durante sua participação no estudo, registradas através das escalas de sintomas psiquiátricos BPRS e PANSS negativa, com quedas nos valores médios de pontuação levemente maiores no grupo NAC em relação ao placebo (1,82 vs. 1,78 para a BPRS e 3,28 vs. 1,66 para a PANSS negativa), porém tais diferenças não atingiram significância estatística. Algumas causas podem ter concorrido para isso, como o tamanho da amostra, pois apesar dos esforços no recrutamento, são sujeitos difíceis de serem recrutados pela sua carcterística clínica. Além disso, exixte o aspecto da cronicidade da doença, pois após alguns anos existe a tendência dos sintomas negativos persistirem, com pouca resposta à novas intervenções. Outra possibilidade é o efeito chão, pois os sujeitos já iniciavam o ensaio com uma pontuação baixa nas escalas, principalmente na BPRS, posto que são sujeitos refratários que utilizam apenas clozapina em monoterapia, ou seja, pacientes que já apresentam um bom perfil clínico de resposta ao esquema terapêutico apesar da refratariedade, principalmente no que concerne aos sintomas positivos, visto que a maior parte dos sujeitos não apresentava sintomas positivos em atividade.

A BPRS é uma escala que avalia a presença de sintomatologia geral, portanto, além de sintomas positivos e negativos, avalia também sintomas ansiosos e de humor. Outros ensaios realizados com a NAC observaram melhora na sintomatologia global, apesar de nenhum ter utilizado a BPRS (BERK et al., 2008; FAROKHNIA et al., 2013, SEPEHRMANESH et al., 2018; BREIER et al., 2018). Os valores médios da BRPS na

linha de base eram baixos, o que limitou a possibilidade de alterações expressivas na pontuação nesta escala. Isto se deu provavelmente porque os voluntários do estudo utilizavam exclusivamente clozapina e, portanto, não faziam uso de outras medicações que são associadas frequentemente nesses indivíduos, tais como antidepressivos, anticonvulsivantes ou mesmo outros antipsicóticos. Devido a isso, a maior parte dos sujeitos apresentava sintomas positivos controlados na maior parte dos casos ou apenas residuais, como também sintomas ansiosos e de humor ausentes ou em baixa intensidade.

Assim como ocorreu com a BPRS, não foi observada melhora na PANSS-N, como relatado em outros estudos que avaliaram o efeito da NAC sobre os sintomas da esquizofrenia (BERK et al., 2008; FAROKHNIA et al., 2013, SEPEHRMANESH et al., 2018; BREIER et al., 2018). Um desses estudos mostrou diferenças com significância estatística na PANSS-N favorecendo a NAC depois da oitava semana (BERK et al., 2008) e outro ao final de 52 semanas (BREIER et al., 2018), enquanto os outros dois estudos mostraram diferença favorecendo a NAC em intervalos de tempo mais curtos, de oito e 12 semanas, respectivamente (FAROKHNIA et al., 2013, SEPEHRMANESH et al., 2018). Dessa forma, a duração do ensaio clínico parece ter sido adequada para se avaliar alguma resposta, porém por se tratar de sujeitos estáveis no seu tratamento, não se obteve um resultado significativo. Também não foi avaliada a cognição através de baterias cognitivas como em outros estudos (BREIER et al, 2018; CONUS et al., 2018), o que poderia mostrar diferenças em favor da NAC, uma vez que ela também parece atuar nestes domínios.

Em relação à ASL, não houve diferenças no FSC entre os grupos. Há apenas um estudo (MCQUEEN et al., 2018) que avaliou o FSC após administração de NAC ou placebo em dias distintos. Mesmo com a maior duração deste estudo, não observamos diferenças no FSC entre NAC e placebo nas diversas regiões cerebrais. Isso pode ter se dados por motivos relacionados à própria amostra, que foi pequena, como também pelos sujeitos serem pacientes já estáveis no seu tratamento. Outra possibilidade pode estar relacionada aos efeitos da NAC estarem associados à uma melhor regulação da atividade neuronal através da diminuição do EO e das sinapses glutamatérgicas e com aumento na conectividade entre as áreas cerebrais, não sendo apenas medido por mudanças no FSC.

O estudo possui algumas limitações, como a dificuldade de recrutar sujeitos, pois muitos deles utilizavam outros medicamentos em associação à clozapina, como

anticonvulsivantes, antidepressivos e antipsicóticos, como estratégia de potencialização ou como tratamento de outros transtornos mentais comórbidos. Dessa forma, a amostra representa apenas uma parte da população de portadores de esquizofrenia refratária, uma vez que alguns pacientes com quadros possivelmente mais graves não foram incluídos no estudo. Entretanto, o estudo possui a vantagem de ser realizado em pacientes refratários utilizando exclusivamente clozapina, o que torna esta amostra de sujeitos mais homogênea e com menor influência de outras variáveis.

Com relação às neuroimagens funcionais de ASL, este é o primeiro estudo, do nosso conhecimento, a realizar a avaliação de perfusão cerebral após um período de oito semanas de uso da NAC, pois o outro estudo (MCQUEEN et al., 2018) avaliou apenas os efeitos agudos da administração de NAC. Aquele estudo também não observou diferenças, como o nosso, provavelmente porque os efeitos da NAC se dão após o uso mais prolongado. Como no outro estudo do nosso grupo (OLIVEIRA et al., 2017) observamos diferenças na perfusão cerebral pelo método de ASL, principalmente nos lobos frontais, esperava-se observar mudanças do FSC nessas áreas (córtex pré-frontal ventromedial e dorsolateral), assim como em outras áreas, como o córtex cingulado anterior, amídala, hipocampo, núcleo *accumbens* (sensações prazerosas) e tálamo (LEGIND et al., 2019, OLIVEIRA et al., 2018, ZHU et al., 2015, KINDLER et al., 2015, PINKHAN et al., 2011, WALTHER et al., 2011 e SCHEEF et al., 2011; ZHU et al., 2015, PINKHAN et al., 2015 e SCHEEF et al., 2011), que são áreas relacionadas aos sintomas negativos e onde foram registradas alterações funcionais em estudos prévios ((İNCE e ÜÇOK, 2018; MØRCH-JOHNSEN et al., 2018). Entretanto, não observamos mudanças significativas no FSC na nossa amostra.

Outros autores, utilizando técnicas diferentes de neuroimagem, descreveram mudanças nos sujeitos que utilizaram NAC, como o aumento do GSH no córtex pré-frontal medial (CONUS et al., 2018; KLAUSER et el., 2018), melhora na integridade da substância branca do fórnix e decremento nos níveis de glutamato no ACC (MCQUEEN et al., 2018). Este último achado pode refletir o papel da NAC na regulação da neurotransmissão glutamatérgica, uma vez que alguns trabalhos mostram elevação do glutamato medido por espectroscopia na ACC de sujeitos com sintomas persistentes em relação aos que respondem ao tratamento com antipsicóticos (MOUCHLIANITIS et al. 2016), além de a NAC atenuar os efeitos da PCP, que estimula a neurotransmissão

glutamatérgica (BAKER et al., 2002). Logo, as alterações neuroquímicas promovidas pela NAC parecem decorrer de modulações na neurotransmissão glutamatérgica, não necessariamente ocasionando um aumento de perfusão cerebral, o que poderia explicar o fato de não ter havido alterações do FSC. Como observou MCQUEEN (2018), outras modalidades de neuroimagem funcional, como a avaliação da conectividade funcional por RNM talvez possa a ajudar a esclarecer melhor as alterações neurofisiológicas da NAC em portadores de esquizofrenia.

6- CONCLUSÃO

Neste estudo, avaliamos o efeito da n-acetilcisteína sobre os sintomas da esquizofrenia e sobre o fluxo sanguíneo cerebral. Não observamos diferenças significativas na nossa amostra, entretanto, outros estudos observaram melhora clínica com o uso da NAC em portadores de esquizofrenia, principalmente nos sintomas negativos e cognitivos, estes últimos não avaliados neste estudo.

Não houve diferenças no FSC medido pela técnica ASL, provavelmente por características próprias da amostra, como já discutido. Apesar de não observarmos diferenças significativas da NAC nesta amostra, mais estudos são necessários para se definir melhor o papel da NAC na esquizofrenia e se há algum subgrupo de indivíduos que teriam mais benefício com o uso deste antioxidante.

REFERÊNCIAS

ADAIR, J.C., KNOEFEL, J.E., MORGAN, N. Controlled trial of n-acetylcysteine for patients with probable Alzheimer's disease. NEUROLOGY (2001): 57:1515–1517.

ANDREASEN, N. C. Schizophrenia: the fundamental questions. *Brain Res Brain Res Rev*, 31, 106-12, 2000.

ALLEN P, CHADDOCK CA, EGERTON A, HOWES OD, BONOLDI I, ZELAYA F, BHATTACHARYYA S,MURRAY R, MCGUIRE P. Resting hyperperfusion of the hippocampus, midbrain, and basal ganglia in people at high risk for psychosis. Am J Psychiatry 173:392–399, 2016.

BAKER, D.A., MADAYAG, A., KRISTIANSEN, L.V., MEADOR-WOODRUFF, J.H., HAROUTUNIAN, V., RAJU, I. Contribution of cystine-glutamate antiporters to the psychotomimetic effects of phencyclidine. Neuropsychopharmacology. Jun;33(7):1760-72 2008.

BAKER D.A., XI Z.X., SHEN H. et al. The origin and neuronal function of in vivo nonsynaptic glutamate. J Neurosci 22:9134–9141, 2002.

BALLESTEROS, A., JIANG, P., SUMMERFELT, A., DU, X., CHIAPPELLI, J.,O'DONNELL, P.,KOCHUNOV, P., HONG, L.E. No evidence of exogenous origin for the abnormal glutathione redox state in schizophrenia. Schizophrenia Research 146 (2013)184–189

BECH, P; LARSEN, JK; ANDERSEN, J.The BPRS: psychometric developments. *Psychopharmacol Bull*, 24(1):118-21, 1988.

BEHR, J., DEGENKOLB, B., KROMBACH, F., VOGELMEIER, C. Intracellular glutathione and bronchoalveolar cells in fibrosing alveolitis: effects of n-acetylcysteine. EUR RESPIR(2002): J 19:906 –911.

BENES, F. M., Amygdalocortical Circuitry in Schizophrenia: From Circuits to Molecules *Neuropsychopharmacology REVIEWS* 35, 239–257, 2010.

BENES, F.M., 2009 Neural Circuitry Models of Schizophrenia: Is it Dopamine, GABA, Glutamate, or Something Else? BIOL PSYCHIATRY 65:1003–1005, 2009.

BENES, F.M., BERRETTA, S. GABAergic interneurons: implications for understanding schizophrenia and bipolar disorder. Neuropsychopharmacology 25: 1–27, 2001.

BERK, M., COPOLOV, D., DEAN, O., LU, K., JEAVONS, S., SCHAPKAITZ, I., ANDERSON-HUNT, M., JUDD, F., KATZ, F., KATZ, P., ORDING-JESPERSEN, S., LITTLE, J., CONUS, P., CUENOD, M., DO, K.Q.,BUSH, A.I. N-acetyl cysteine as a glutathione precursor for schizophrenia — a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. Biol Psychiatry. 2008 Sep1;64(5):361-8.

BERK, M., MALHI, G.S., GRAY, L.J., DEAN, O.M. The promise of N-acetylcysteine in neuropsychiatry. Trends Pharmacol Sci. 2013 Mar;34(3):167-77.

BRESSAN, R. A.; PILOWSKY, L. S. Glutamatergic hypothesis of schizophrenia. *Rev Bras Psiquiatr*, 25, 177-83, 2003.

BRIDGES, R., LUTGEN, V.,LOBNER, D.,BAKER, D.A. Thinking Outside the Cleft to Understand Synaptic Activity: Contribution of the Cystine-Glutamate Antiporter (System xc^-) to Normal and Pathological Glutamatergic Signaling. PHARMACOLOGICAL REVIEWS, 2012 Vol. 64, No. 3

BRODY, S.A.; CONQUET, F.; GEYER, M.A. Effect of antipsychotic treatment on the prepulse inhibition deficit of mGluR5 Knockout mice. *Psychopharmacology*, vol. 172, p. 187-195, 2004.

BRODY, S.A.; GEYER, M.A.; LARGE, C.H. Lamotrigine prevents ketamine but not amphetamine-induced deficits in prepulse inhibition in mice. *Psychopharmacology*, vol. 169, p. 240-246, 2003.

CABUNGCAL, J.H., STEULLET, P., KRAFTSIK, R., CUENOD, M., DO, K.Q. Early-life insults impair parvalbumin interneurons via oxidative stress: reversal by N-acetylcysteine. Biol Psychiatry. 2013 Mar 15;73(6):574-82.

CANTISANI, A., STEGMAYER, K., FEDERSPIEL, A., BOHLHALTER, S., WIEST, R., WALTHER, S. Blood perfusion in left inferior and middle frontal gyrus predicts

communication skills in schizophrenia. Psychiatry Res Neuroimaging. 2018 Apr 30;274:7-10.

CARLSSON, A.; LINDQVIST, M. Effect of Chlorpromazine or Haloperidol on Formation of 3methoxytyramine and Normetanephrine in Mouse Brain. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*, 20, 140-4, 1963.

CARLSSON, A.; WATERS, N.; HOLM-WATERS, S.; TEDROFF, J.; NILSSON, M.; CARLSSON M.L. Interactions Between Monoamines, Glutamate, and GABA in Schizophrenia: New Evidence. *Annu Rev PharmacolToxicol*, vol. 41, p. 237-60, 2001.

CARLSSON, M.; SVENSSON, A. Interfering with glutamatergic neurotransmission by means of NMDA antagonist administration discloses the locomotor stimulatory potential of other transmitter systems. *Pharmacol Biochem Behav*, vol. 36, p. 45-50, 1990.

CARMELI, C., KNYAZEVA, M.G., CUÉNOD, M., DO, K.Q.. Glutathione precursor N-acetyl-cysteine modulates EEG synchronization in schizophrenia patients: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. PLoS One. 2012;7(2):e29341.

CHEN, H.H., STOKER, A., MARKOU, A. The glutamatergic compounds sarcosine and N-acetylcysteine ameliorate prepulse inhibition deficits in metabotropic glutamate 5 receptor knockout mice. Psychopharmacology (Berl). 2010May;209(4):343-50.

CHOY, K.H., DEAN, O., BERK, M., BUSH, A.I., VAN DEN BUUSE, M. Effects of N-acetyl-cysteine treatment on glutathione depletion and a short-term spatial memory deficit in 2-cyclohexene-1-one-treated rats. Eur J Pharmacol. 2010 Dec 15;649(1-3):224-8.

CORBETT, R.; ZHOU, L.; STEPHEN, M.; SORENSEN, S.M.; MONDADORI, C. Animal models of negative symptoms: M100907 antagonizes PCP-induced immobility in a forced swim test in mice. *Neuropsychopharmacology*, vol 21, p.S211– S218, 1999.

CONUS, P., SEIDMAN, L.J., FOURNIER,M., XIN,L., CLEUSIX, M., BAUMANN, P.S., FERRARI, C., COUSINS, A., ALAMEDA, L., GHOLAM-REZAEE, M., GOLAY, P., JENNI, R., WOO, T.W., KESHAVAN, M.S., EAP, C.B., WOJCIK, J., CUENOD, M., BUCLIN, T., GRUETTER, R., DO, K.Q. N-acetylcysteine in a Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Trial: Toward Biomarker-Guided Treatment in Early Psychosis. Schizophr Bull. 2018 Feb 15;44(2):317-327.

COYLE et al. NMDA receptors and schizophrenia Ann. N.Y. Acad. Sci. 1003: 318-327, 2003.

COYLE, J. T., The GABA-glutamate connection in Schizophrenia: which is the proximate cause? Biochemical Pharmacology 68, 1507-1514, 2004.

CREESE, I.; BURT, D. R.; SNYDER, S. H. Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. *Science,* 192, 481-3, 1976.

CRIPPA, J.A.; BUSATO, F.G.; MCGUIRE, P.K. Neuroimagem. Em: HETEM L.A.; GRAEFF F.G. Transtornos de ansiedade. São Paulo: Editora Atheneu, 133-167, 2004.

CUI, L.B., CHEN, G., XU, Z.L., LIU, L., WANG, H.N., GUO, L., LIU, W.M., LIU, T.T., QI, S., LIU, K., QIN, W., SUN, J.B., XI, Y.B., YIN, H. Cerebral blood flow and its connectivity features of auditory verbal hallucinations in schizophrenia: A perfusion study. Psychiatry Res Neuroimaging. 2017 Feb 28;260:53-61

DAS NEVES DUARTE, J.M., KULAK, A., GHOLAM-RAZAEE, M.M., CUENOD, M., GRUETTER, R., DO, K.Q. N-acetylcysteine normalizes neurochemical changes in the glutathione-deficient schizophrenia mouse model during development. Biol Psychiatry. 2012 Jun1;71(11):1006-14.

DAVIS, M., WYNN, J., WEINER, K., HELLEMANN, G., GREEN, M., MARDER, S. Randomized controlled trial of n-acetylcysteine for cognition and EEG correlates in schizophrenia. Neuropsychopharmacology (2017) 39 SUPPL. 1 (S363).

DEAN, O,, GIORLANDO, F., BERK, M. N-acetylcysteine in psychiatry: current therapeutic evidence and potential mechanisms of action. J Psychiatry Neurosci. 2011 Mar;36(2):78-86.

DEAN, O.M., VAN DEN BUUSE, M., BERK, M., COPOLOV, D.L., MAVROS, C., BUSH, A.I. N-acetylcysteine restores brain glutathione loss in combined 2-cyclohexene-1-one and d-amphetamine-treated rats: relevance to schizophrenia and bipolar disorder. Neurosci Lett. 2011 Jul 25;499(3):149-53.

DEL BEN, C.M.; RODRIGUES, C.R.C., ZUARDI, A.W. Reliability of the Portuguese version of the structured clinical interview for DSM-III-R (SCID) in a brazilian sample of psychiatric outpatients. Braz. J. Med. Biol. Res.29(12): 1675-82,1996.

DEMEDTS, M., BEHR, J., BUHL, R., COSTABEL, U., DEKHUIJZEN, R., JANSEN. H.M., ET AL. High-dose acetylcysteine in idiopathic pulmonary fibrosis. N ENGL J MED (2005): 353:2229 –2242.

DESIKAN, R.S., SÉGONNE, F., FISCHL, B., QUINN, B.T., DICKERSON, B.C., BLACKER, D. An automated labeling system for subdividing the human cerebral córtex on mri scans into gyral based regions of interest. *NEUROIMAGE* 31,968–980, 2006.

DO, K. Oxidative stress as one core mechanism in schizophrenia pathophysiology and impact of antioxidant N-acetyl-cysteine in a clinical trial with early psychosis patients. Neuropsychopharmacology (2016) 41 Supplement 1 (S8)

DUBOVSKY, S.L., BUZAN, R.D. Novel alternatives and supplements to lithium and anticonvulsants for bipolar affective disorder. J Clin Psychiatry;58:224-42, 1997.

DOLUI, S. et al. Structural Correlation-based Outlier Rejection (SCORE) algorithm for arterial spin labeling time series. Journal of Magnetic Resonance Imaging, n. September, 2016.

ELKIS, H., MELTZER, H.Y. Esquizofrenia refratária Rev. Bras. Psiquiatr. vol.29 nº.3 São Paulo Set. 2007.

ELKIS, H.; MELTZER, H.Y. Esquizofrenia refratária. Rev. Bras. Psiquiatr. [online], vol.29, suppl.2, p. S41-S47, 2007.

FAROKHNIA, M., AZARKOLAH, A., ADINEHFAR, F., KHODAIE-ARDAKANI, M. R., HOSSEINI, S. M. R., YEKEHTAZ, H., TABRIZI, M., REZAEI, F., SALEHI, B., SADEGHI, S. M. H.MD, MOGHADAM, M., GHARIBI, F., MIRSHAFIEE, O., AKHONDZADEH, S. N-acetylcysteine as an adjunct to risperidone for treatment of negative symptoms in patients with chronic schizophrenia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. Clinical Neuropharmacology, Volume 36, n° 6, Nov./Dec. 2013.

FLATOW, J., BUCKLEY, P., MILLER, B.J. Meta-Analysis of Oxidative Stress in Schizophrenia. BIOL PSYCHIATRY 2013;74:400–409

FOUCHER, J.R., ZHANG, Y.F., ROSER, M., LAMY, J., DE SOUSA, P.L., WEIBEL, S., VIDAILHET, P., MAINBERGER, O., BERNA, F.. A double dissociation between two psychotic phenotypes: Periodic catatonia and cataphasia. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2018 Aug 30;86:363-369.

GASPAR, P. A. et al. Molecular mechanisms underlying glutamatergic dysfunction in schizophrenia: therapeutic implications. *J. Neurochem*. 111, 891-900, 2009.

GRUNZE, H.C. et al. NMDA-dependent modulation of CA1 local circuit inhibition. J. Neuroscci. 16(6): 2034-2043; 1996.

GÜNTHER, M. Perfusion Imaging Journal of Magnetic Resonance Imaging 00:00–00 (2013)

HANDLEY, R., ZELAYA, F.O., REINDERS, A.A., MARQUES, T.R., MEHTA, M.A., O'GORMAN, R., ALSOP, D.C., TAYLOR, H., JOHNSTON, A., WILLIAMS, S., MCGUIRE, P., PARIANTE, C.M., KAPUR, S., DAZZAN, P. Acute effects of single-dose aripiprazole and haloperidol on resting cerebral blood flow (rFSC) in the human brain. Hum Brain Mapp. 2013 Feb;34(2):272-82.

HAHN C. G., WANG H. Y., CHO D. S., et al. Altered neuregulin 1-erbB4 signaling contributes to NMDA receptor hypofunction in schizophrenia. *Nature Medicine*, 12, 824–828, 2006.

HASAN, A., FALKAI, P., WOBROCK, T., LIEBERMAN, J.,GLENTHOJ, B., GATTAZ, W.F., THIBAUT, F.,MÖLLER, H.J.,World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP)Guidelines for Biological Treatment of Schizophrenia, Part 1:Update 2012 on the acute treatment of schizophrenia and the management of treatment resistance. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 2012; 13: 318–378

HILL, D.R., SUMAN-CHAUHAN, N., WOODRUFF, G.N. Localization of (3H) gabapentin to a novel site in rat brain: autoradiographic studies. Eur. J. Pharmacol. 244:303-9, 1993.

HJORTHØJ, C. et al. Years of potential life lost and life expectancy in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. The Lancet Psychiatry, fev. 2017.

HOMAN, P., KINDLER, J., HAUF, M., HUBL, D., DIERKS, T. Cerebral blood flow identifies responders to transcranial magnetic stimulation in auditory verbal hallucinations. Transl Psychiatry. 2012 Nov 20;2:e189.

HORN, H., FEDERSPIEL, A., WIRTH, M., MÜLLER, T.J., WIEST, R., WANG J.-J., STRIK, W. Structural and metabolic changes in language areas linked to formal thought disorder. British Journal of Psychiatry 2009, 194:130-138.

IDRIS, N.F.; REPETO, P.; NEILL, J.C.; LARGE, C.H. Investigation of the effects of lamotrigine and clozapine in improving reversal-learning impairments induced by acute phencyclidine and D-amphetamine in the rat. *Psychopharmacology*, vol. 179, p. 336-348, 2005.

İNCE, E E ÜÇOK, A. Relationship Between Persistent Negative Symptoms and Findings of Neurocognition and Neuroimaging in Schizophrenia Clinical EEG and Neuroscience. Vol. 49(1) 12– 17, 2018.

JAVITT, D.C., ZUKIN, S.R. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, 148, 1301–1308, 1991.

KEGELES L.S., MARTINEZ D., KOCHAN L. D., et al. NMDA antagonist effects on striatal dopamine release: positron emission tomography studies in humans. *Synapse*, 43, 19–29, 2002.

KINDLER, J., JANN, K., HOMAN, P., HAUF, M., WALTHER, S., STRIK, W., DIERKS, T., HUBL, D. Static and dynamic characteristics of cerebral blood flow during the resting state in schizophrenia. Schizophr Bull. 2015 Jan;41(1):163-70.

KREMER, I.; VASS, A.; GORELIK, I.; BAR, G.; BLANARU, M.; JAVITT, D.C.; HERESCO-LEVY, U. Placebo-Controlled Trial of Lamotrigine Added to Conventional and Atypical Antipsychotics in Schizophrenia. *BIOL PSYCHIATRY*, vol. 56, p. 441-446, 2004.

KRYSTAL, J. H. et al. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry*, 51, 199-214, 1994.

KULAK, A., STEULLET, P., CABUNGCAL, J.H., WERGE, T., INGASON, A., CUENOD, M., DO, K.Q. Redox dysregulation in the pathophysiology of schizophrenia and bipolar disorder: insights from animal models. Antioxid Redox Signal. 2013 Apr 20;18(12):1428-43.

KUMAR J., LIDDLE E.B., FERNANDES, C.C. et al. Glutathione and glutamate in schizophrenia: a 7T MRS study. Mol Psychiatry. 2018 Jun 22.

LAHTI, A. C. et al. Subanesthetic doses of ketamine stimulate psychosis in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 13, 9-19, 1995.

LAVOIE, S., MURRAY, M.M., DEPPEN, P., KNYAZEVA, M.G., BERK, M., BOULAT, O., BOVET, P., BUSH, A.I., CONUS, P., COPOLOV, D., FORNARI, E., MEULI, R., SOLIDA, A., VIANIN, P., CUÉNOD, M., BUCLIN, T., DO, K.Q. Glutathione precursor, N-acetyl-cysteine, improves mismatch negativity in schizophrenia patients. Neuropsychopharmacology. 2008 Aug;33(9):2187-99.

LEE TF, TYMAFICHUK CN, BIGAM DL, CHEUNG PY. Effects of postresuscitation N-acetylcysteine on cerebral free radical production and perfusion during reoxygenation of hypoxic newborn piglets. Pediatr Res. Sep;64(3):256-61, 2008.

LIEBERMAN, J. A. et al. Factors influencing treatment response and outcome of first-episode schizophrenia: implications for understanding the pathophysiology of schizophrenia. *J Clin Psychiatry*, 57 Suppl 9, 5-9, 1996.

LEGIND, C.S., BROBERG, B.V., BROUWER, R., MANDL, R.C.W., EBDRUP, B.H., ANHØJ, S.J., JENSEN, M.H., HILKER, R., FAGERLUND, B., HULSHOFF POL, H.E., GLENTHØJ, B.Y., ROSTRUP, E.. Heritability of Cerebral Blood Flow and the Correlation to Schizophrenia Spectrum Disorders: A Pseudo-continuous Arterial Spin Labeling Twin Study. Schizophr Bull. 2019 Feb 18.

LEXICOMP® Drug Interaction app for Iphone (Apple®), Wolters Kluwer 2019

LIU, J., QIU, M., CONSTABLE, R.T., WEXLER, B.E. Does baseline cerebral blood flow affect task-related blood oxygenation level dependent response in schizophrenia? Schizophr Res. 2012 Sep;140(1-3):143-8.

LUBY, E.D., COHEN, B.D., ROSENBAUM, G., GOTTLIEB, J.S., KELLEY, R. Study of a new schizophrenomimetic drug; sernyl .AMA Arch Neurol Psychiatr, Mar; 81(3): 363-9, 1959.

LUTGEN, V., QUALMANN, K., RESCH, J., KONG, L., CHOI, S., BAKER, D.A. Reduction in phencyclidine induced sensorimotor gating deficits in the rat following increased system xc^- activity in the medial prefrontal cortex. Psychopharmacology (Berl) 2013 Apr;226(3):531-40.

MEADOR-WOODRUFF J. H. & HEALY D. J. Glutamate receptor expression in schizophrenic brain. *Brain Research Reviews*, 31, 288–294, 2000.

MCGRATH, J. et al. Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. Epidemiologic reviews, v. 30, p. 67–76, jan. 2008

MCQUEEN, G., LALLY, J., COLLIER, T., ZELAYA, F., LYTHGOE, D. J., BARKER, G. J., STONE, J. M., MCGUIRE, P., MACCABE, J. H., … EGERTON, A. Effects of N-acetylcysteine on brain glutamate levels and resting perfusion in schizophrenia. *Psychopharmacology*, *235*(10), 3045-3054, 2018.

MOGHADDAM B. Bringing order to the glutamate chaos in schizophrenia. *Neuron*, 40, 881–884, 2003.

MOUCHLIANITIS E., BLOOMFIELD M.A.P., LAW V., BECK K., SELVARAJ S., RASQUINHA N., WALDMAN A., TURKHEIMER F.E., EGERTON A., STONE J., HOWES O.D. Treatment-resistant schizophrenia patients show Elevated anterior cingulate cortex glutamate compared to treatmentresponsive. Schizophr Bull 42:744–752. 2016.

MØRCH-JOHNSEN, L., AGARTZ, I., JENSEN, J. The Neural Correlates of Negative Symptoms in Schizophrenia: Examples From MRI Literature Clinical EEG and Neuroscience. Vol. 49(1) 12– 17, 2018.

MURRAY, C.J.L., LOPEZ, A.D., eds. The global burden of disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries and risk factors in 1990 and projected to 2020. Cambridge, Harvard School of Public Health on behalf of the World Health Organization and the World Bank, 1996.

NORRIS, H. The action of sedatives on brain stem oculomotor systems in man. Neuropharmacology 10(21):181-91, 1971.

OLIVEIRA, I. A. F. de. Avaliação perfusional e de conectividade funcional cerebrais em esquizofrenia por imagens por ressonância magnética. 2017. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Física Aplicada à Medicina e Biologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2017.

OLIVEIRA, Í.A.F., GUIMARÃES, T.M., SOUZA, R.M., DOS SANTOS, A.C., MACHADO-DE-SOUSA, J.P., HALLAK, J.E.C., LEONI, R.F. Brain functional and perfusional alterations in schizophrenia: an arterial spin labeling study. Psychiatry Res Neuroimaging. 2018 Feb 28;272:71-78

OVERALL, J.E., GORHAM, D.R. The brief psychiatric rating scale. Psycol. Rep. 10:799-812, 1962.

PINKHAM, A., LOUGHEAD, J., RUPAREL, K., WU, W.C., OVERTON, E., GUR, R., GUR R. Resting quantitative cerebral blood flow in schizophrenia measured by pulsed arterial spin labeling perfusion MRI. Psychiatry Res. 2011 Oct 31;194(1):64-72.

PINKHAM, A.E., LIU, P., LU, H., KRIEGSMAN, M., SIMPSON, C., TAMMINGA, C. Amygdala Hyperactivity at Rest in Paranoid Individuals With Schizophrenia. Am J Psychiatry. 2015 Aug 1;172(8):784-92.

POTKIN, S. G. et al. Effect of clozapine and adjunctive high-dose glycine in treatment-resistant schizophrenia. *Am J Psychiatry,* 156, 145-7, 1999.

RAPADO-CASTRO, M., DODD, S., BUSH, A.I., MALHI, G.S., SKVARC, D.R., ON, Z.X., BERK, M., DEAN, O.M. Cognitive effects of adjunctive N-acetyl cysteine in psychosis. Psychological Medicine (2017), 47, 866–876.

SAMUNI, Y., GOLDSTEIN, S., OLIVIA M. DEAN, O.M., BERK, M. The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine. Biochimica et Biophysica Acta 1830 (2013) 4117–4129

SCHEEF, L., MANKA, C., DAAMEN, M., KÜHN, K.U., MAIER, W., SCHILD, H.H., JESSEN, F. Resting-state perfusion in non-medicated schizophrenic patients: a continuous arterial spin-labeling 3.0-T MR study. Radiology. 2010 Jul;256(1):253-60.

SHUNGU, D.C. N-acetylcysteine for the treatment of glutathione deficiency and oxidative stress in schizophrenia. Biol Psychiatry. 2012 Jun 1;71(11):937-8

SPITZER, R.L., WILLIAMS, J.R,. GIBBSON, M., FIRST, M.B. Structural Clinical Interview for DSM-III-R- no patient edition (SCID-NP). American Psychitric Press, Washington, D. C. 1990.

TIIHONEN, J.; HALLIKAINEN, T.; RYYNÄNEN, O.; REPO-TIIHONEN, E.; KOTILAINEN, I.; ERONEN, M.; TOIVONEN, P.; WAHLBECK, K.; PUTKONEN, A. Lamotrigine in Treatment-Resistant Schizophrenia: A Randomized Placebo-Controlled Crossover Trial. *BIOL PSYCHIATRY*, vol. 54, p. 1241-1248, 2003

VAN SCHOOTEN, F.J., BESARATINIA, A., DE FLORA, S., D'AGOSTINI, F., IZZOTTI, A., CAMOIRANO, A., ET AL. Effects of oral administration of n-acetyl-l-cysteine: a multi-biomarker study in smokers. CANCER EPIDEMIOL BIOMARKERS (2002):PREV 11:167–175.

VERREY, F. System L: heteromeric exchangers of large, neutral amino acids involved in directional transport. Pflugers Arch - Eur J Physiol, 445:529–533, 2003.

VESSONI, ALN. Adaptação e Estudo da Confiabilidade da Escala de Avaliação das Síndromes Positiva e Negativa para a Esquizofrenia no Brasil São Paulo, Tese de Mestrado, Escola Paulista de Medicina, 1993.

WANG, Z. et al. Empirical optimization of ASL data analysis using an ASL data processing toolbox: ASLtbx. Magnetic Resonance Imaging, v. 26, n. 2, p. 261–269, 2008.

WANG, Z. Improving cerebral blood flow quantification for arterial spin labeled perfusion MRI by removing residual motion artifacts and global signal fluctuations. Magnetic Resonance Imaging, v. 30, n. 10, p. 1409–1415, 2012.

WALTHER, S, FEDERSPIEL, A., HORN, H., RAZAVI, N., WIEST, R., DIERKS, T., STRIK, W., MÜLLER, T.J. Resting state cerebral blood flow and objective motor activity reveal basal ganglia dysfunction in schizophrenia. Psychiatry Research: Neuroimaging 192 (2011) 117–124

WALTHER, S., SCHÄPPI, L., FEDERSPIEL, A., BOHLHALTER, S., WIEST, R., STRIK, W., STEGMAYER, K. Resting-State Hyperperfusion of the Supplementary Motor Area in Catatonia. Schizophr Bull. 2017 Sep 1;43(5):972-981.

WATTS, J.M., WHITLOW, C.T., MALDJIANA, J.A. Clinical applications of arterial spin labeling. NMR Biomed. 2013; 26: 892–900

WOLKOWITZ, O.M., PICKAR, D. Benzodiazepines in the treatment of schizophrenia: a review and reappraisal. Am J Psychiatry; 148:714–26, 1991.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, Global Burden of Disease, pág. 37, 2004.

YOSHIKAWA, S. et al., Effects of TRK-820, a selective kappa opioid receptor agonist, on rat schizophrenia models. European Journal of Pharmacology 606, p 102–108, 2009.

YOSHIKAWA, T., NAITO, Y. What Is Oxidative Stress? JMAJ 45(7): 271–276, 2002

ZHU, J., ZHUO, C., QIN, W., XU, Y., XU, L., LIU, X., YU, C. Altered resting-state cerebral blood flow and its connectivity in schizophrenia. J Psychiatr Res. 2015 Apr;63:28-35.

ZOCCALI, R.; MUSCATELLO, M.R.; BRUNO A.; CAMBRIA, R.; MICÒ, U.; SPINA, E.; MEDURI, M. The effect of lamotrigine augmentation of clozapine in a sample of treatment-resistant schizophrenic patients: A double-blind, placebo-controlled study. *Schizophrenia Research*, vol. 93, p. 109-116, 2007.

ZUARDI, A.W., KARNIOL, I.G. Estudo transcultural de uma escala de auto-avaliação para estados subjetivos. *J Bras Psiq* 31: 403-406, 1981.

ZUARDI, A.W., LOUREIRO, S.R., RODRIGUES, C.R.C., CORREA, A.J., GLOCK, S.S.. Estudo da estrutura fatorial, fidedignidade e validade da tradução e adaptação para o português da Escala de Avaliação Psiquiátrica Breve (BPRS) modificada. ABP-APAL 16(2): 63-8, 1994.

APÊNDICES

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Elaborado de acordo com a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde)

Nome do projeto de pesquisa: Efeito da adição de n-acetilcisteína ao tratamento com clozapina na perfusão cerebral de pacientes com esquizofrenia refratária.

Pesquisadores responsáveis:

Roberto Mascarenhas Souza (Pesquisador responsável)
Tel: (16) 3602-2853/98134-7202
E-mail: roberto_masc@yahoo.com.br

Prof. Dr. João Paulo Machado de Sousa (Orientador)
Tel: (16) 3602-2853/99196-9393
E-mail: joaopmachado@usp.br

Prof. Dr. Jaime E. C. Hallak (Pesquisador colaborador)
Telefone: (16)3602-2853
E-mail: jhallak@fmrp.usp.br

Endereço:
Av Bandeirantes, 3900-Ribeirão Preto-SP-Brasil- CEP 14049-900
Fone: (16) 3602-2430

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA E SUA PARTICIPAÇÃO

Eu estou convidando você para participar de um estudo sobre uma medicação para tratar a esquizofrenia. Antes que você decida se quer ou não participar, é importante que você entenda porque esta pesquisa está sendo feita e o que significa participar dela. Por favor, leia atentamente as informações a seguir e, se desejar, discuta estas informações com outras pessoas que você considere importantes e que possam lhe ajudar a decidir sobre sua participação. Caso você tenha alguma dúvida durante a leitura, não tenha vergonha de fazer perguntas para que eu possa respondê-las.

Leve o tempo que for necessário para tomar sua decisão.

Esta pesquisa busca encontrar melhores maneiras de tratar doenças como a esquizofrenia, reduzindo a necessidade de medicações calmantes, prevenindo sintomas como a perda de iniciativa e da vontade e ajudando as pessoas portadoras desta doença a ter uma vida melhor.

Objetivo do estudo

Alguns estudos mostraram que uma substância chamada n-acetilcisteína, utilizada como expectorante em uma doença conhecida como DPOC ou enfisema pulmonar, pode melhorar sintomas da esquizofrenia. Além disto, pela maneira como esse remédio age e por alguns casos observados, é possível que seu uso em pessoas com diagnóstico semelhante ao seu (esquizofrenia) possa trazer benefícios ao tratamento. Este estudo irá avaliar esta possibilidade.

Como será o estudo?

Caso concorde, você irá fazer um tratamento com n-acetilcisteína ou placebo (pílula de farinha) durante oito semanas (56 dias). Você tomará 4 cápsulas por dia, cada uma com 500mg de n-acetilcisteína, ou contendo o placebo. Você não saberá que medicação estará tomando, mas ao final do estudo você poderá saber se quiser. Durante estas oito semanas, o seu tratamento normal será mantido sem qualquer diferença.

Você fará um exame chamado ressonância nuclear magnética cerebral (ou RNM) duas vezes, o primeiro exame será feito antes de você começar a tomar a medicação e o segundo exame será feito após as 8 semanas que você tomar a medicação. Tal exame se assemelha a uma tomografia de crânio comum, na qual você permanece deitado, sem se mover. O exame é indolor, como um raio X comum, mas um pouco mais longo.

Não será necessário nenhum tipo de injeção (agulha) em nenhum momento da pesquisa.

Se aceitar participar desta pesquisa, você irá responder a dois questionários de avaliação psiquiátrica. Esses questionários serão aplicados três vezes durante o estudo: a primeira vez no dia do primeiro exame, a segunda depois de quatro semanas que você estiver utilizando a medicação e a terceira vez no dia do segundo exame.

Desconfortos e riscos esperados

O exame (ressonância) durará aproximadamente 45 minutos, durante esse tempo você ficará deitado na máquina, o que pode ser um pouco desconfortável, pois ela é fechada. Caso você sinta algum mal-estar, você poderá chamar o pesquisador para ser retirado do aparelho.

Haverá um sorteio para definir se você irá receber a cápsula com a medicação (n-acetilcisteína) ou placebo (cápsula com farinha). Nem você nem o pesquisador saberão o que você está utilizando, porém, ao final do estudo, caso deseje, você poderá saber sobre essa informação, além do resultado das suas ressonâncias e do resultado final do estudo.

A medicação (n-acetilcisteína) que você receberá já foi estudada em outras pessoas, mostrando-se segura, e é comercializada para tratar outras doenças como a doença pulmonar obstrutiva crônica, também conhecida como enfisema pulmonar. Apesar disto, como a maioria dos medicamentos, possui efeitos adversos, sendo os mais comuns dores abdominais e náuseas. A maioria das pessoas tem poucos efeitos colaterais e tolera bem a medicação. Lembrando que estes efeitos, além de menos frequentes, são esperados durante o uso contínuo, o que não é o caso do nosso estudo, no qual o tratamento terá a duração de apenas oito semanas. A medicação ou o placebo serão fornecidos pelo pesquisador no dia em que você fizer a primeira ressonância, sendo entregues 224 cápsulas de 500mg, sendo que você utilizará duas cápsulas duas vezes ao dia por 56 dias, sendo entregue uma receita médica com essa orientação, e no fim desse período a segunda ressonância será realizada, e a partir daí, sua participação no estudo concluída.

De qualquer forma, ao final de cada exame verificaremos se você esta bem. No dia seguinte após o segundo exame, não terá que fazer mais uso da medicação. Você poderá retornar as suas atividades normais após cada exame. Caso você sinta desconforto durante qualquer um dos exames ou com o tratamento, poderemos conversar sobre isso, além de que qualquer intercorrência ligada à pesquisa, você poderá contatar o pesquisador responsável (Roberto Mascarenhas) ou o orientador (João Paulo), sendo os contatos aqueles fornecidos no início deste termo. Caso você continue a se sentir muito incomodado, interromperemos a sua participação no estudo se você assim desejar, sem qualquer alteração no seu acompanhamento normal no HC.

Benefícios que se pode obter:

O esclarecimento de como a n-acetilcisteína age no cérebro, e se é capaz de reduzir sintomas em pessoas com diagnóstico semelhante ao seu (esquizofrenia), poderá aumentar o nosso entendimento do seu mecanismo de funcionamento, fornecendo uma base para o desenvolvimento de novas maneiras de tratar os problemas resultantes da esquizofrenia e de novas aplicações médicas para esta medicação.

Participação voluntária:

Se você não concordar em participar do estudo, informe isso ao pesquisador ou devolva este documento sem assinatura. O seu tratamento não terá qualquer alteração e seu seguimento no HC continuará da mesma forma que vem sendo feito até hoje.

Caso concorde em participar e depois de ter tirado todas as suas dúvidas, leia as informações abaixo, preencha os dados solicitados, assine e devolva o documento ao pesquisador responsável. Neste caso, o pesquisador também deverá assinar uma **via** que ficará com você para consultar quando desejar, assinada e rubricada em todas as páginas pelo pesquisador, por você e pelo seu responsável.

Eu_____ abaixo assinado, tendo recebido as informações acima, e ciente dos meus direitos abaixo relacionados, concordo em participar do estudo descrito aqui e, de acordo com a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, estou ciente de que:

1- Você terá a garantia de receber resposta para qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa e ao estudo que será submetido. Ainda você poderá ligar ainda para o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (16) 3602-2228;
2- Você será ressarcido de todos os gastos relacionados à participação na pesquisa, incluindo transporte e alimentação;
3- Você terá liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar no estudo sem que isso traga prejuízo à continuidade do seu cuidado e tratamento;
4- Você terá segurança de que qualquer informação sobre a sua identidade e dados médicos e pessoais serão tratados com o devido cuidado e mantidos em sigilo;

5- Você terá garantia de acesso à informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar sua vontade de continuar participando;
6- Você terá assegurados o seu direito a tratamento médico e ressarcimento ou indenização por quaisquer danos relacionados à sua participação neste estudo, conforme as leis vigentes no país ; e
7- Você terá garantia de que todos os gastos relacionados ao estudo e ao seu acompanhamento durante o seu período de realização serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Nome do paciente:_____
Assinatura do paciente:_____

Ribeirão Preto, _____/_____/_____

Nome do responsável legal:_____
Assinatura do responsável legal:_____

Ribeirão Preto, _____/_____/_____

Nome do pesquisador: Roberto Mascarenhas Souza
Assinatura do pesquisador:_____

Ribeirão Preto, _____/_____/_____

APÊNDICE B – ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

Efeito da adição de n-acetilcisteína ao tratamento com clozapina na perfusão cerebral de pacientes com esquizofrenia refratária (2019).

Effects of adjunct n-acetylcysteine to the treatment with clozapine in resting state cerebral perfusion of subjects with refractory schizophrenia.

Roberto Mascarenhas Souza[1], João Paulo Machado de Sousa[1,2]

[1]Department of Neuroscience and Behavior, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil.
[2]National Institute for Science and Technology – Translational Medicine (*INCT-TM*), CNPq, Brazil
Corresponding author:
Roberto Mascarenhas Souza
Hospital das Clínicas da FMRP-USP, Av. Bandeirantes, 3900, 3º andar
CEP 14048-900, Monte Alegre,
Ribeirão Preto, SP, Brazil
E-mail: roberto_masc@yahoo.com.br

RESUMO

A esquizofrenia continua sendo um dos transtornos mais desafiadores para a clínica psiquiátrica, apesar dos estudos atuais que tentam elucidar sua fisiopatologia e buscar novas opções de tratamento. A n-acetilcisteína (NAC) é uma droga utilizada há mais de 30 anos na clínica médica no tratamento da intoxicação por acetaminofeno e como mucolítico na DPOC, entre outros. Evidências recentes apoiam o seu uso no tratamento de diversos transtornos neuropsiquiátricos, como depressão, transtorno afetivo bipolar, dependência química e esquizofrenia. A droga tem como provável mecanismo de ação um aumento na atividade antioxidante através do aumento nos níveis de glutationa (GSH) e modulação da neurotransmissão glutamatérgica. Nas duas últimas décadas, o estudo dos mecanismos neurobiológicos subjacentes aos transtornos psiquiátricos, bem como a investigação dos possíveis mecanismos e regiões cerebrais influenciados por substâncias psicofarmacológicas, recebeu importante contribuição das técnicas de neuroimagem funcional. Apesar disto, até o momento existem poucos estudos que avaliaram os mecanismos centrais relacionados às propriedades antipsicóticas da NAC em humanos. Este estudo tem o objetivo de investigar os efeitos da NAC em indivíduos portadores de esquizofrenia refratária em uso exclusivo de clozapina através de medidas de sintomas positivos e negativos e da avaliação da perfusão cerebral através de ressonância magnética nuclear utilizando a técnica de *arterial spin labeling* (ASL). Foram avaliados 20 sujeitos com esquizofrenia refratária em uso de clozapina em um estudo com distribuição aleatória, duplo-cego e controlado por placebo, utilizando a dose de 2000mg por dia de NAC. Do total da amostra, 14 tiveram as imagens perfusão sanguínea cerebral analisadas. O estudo teve a duração de oito semanas, com avaliações a cada quatro semanas e realização das RMN no início e ao final do período. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos placebo e NAC nas escalas BPRS e PANSS-N. O grupo que recebeu NAC apresentou mais efeitos colaterais, porém no geral a medicação foi bem tolerada. Também não se observou diferenças no CBF das diversas ROI analisadas. A NAC não produziu mudanças estatisticamente significativas nas escalas de sintomas e no CBF nesta amostra, apesar de outros estudos mostrarem diferenças significativas favorecendo a NAC. O presente estudo não mostrou melhora do CBF, mesmo após oito semanas, o que pode significar que a ASL pode não ser um método adequado para avaliar os efeitos cerebrais desta droga.

Palavras-chave: Esquizofrenia, n-acetilcisteína, *Arterial Spin Labeling*, perfusão cerebral, imagem por ressonância magnética funcional.

ABSTRACT

Schizophrenia continues to be one of the most challenging psychiatric disorders in the clinical practice, despite recent studies that attempt to elucidate its pathophysiology and search for new treatment options. N-acetylcysteine (NAC) is a drug that has been used for more than 30 years in clinical medicine, in situations like acetaminophen intoxication and as mucolytic in COPD, among others. Recent studies

support its therapeutic use in neuropsychiatric disorders such as depression, bipolar disorder, substance abuse and schizophrenia. The mechanism of action of NAC seems to occur in antioxidant activity, through the increase of glutathione levels (GSH) and in the modulation of glutamatergic neurotransmission. In the last two decades, the study of the neurobiological mechanisms underlying psychiatric disorders, as well as the investigation of the possible mechanisms and brain areas influenced by psychopharmacological substances received a significant contribution of functional neuroimaging techniques. Despite this, there are few studies that have evaluated the central mechanisms related to the antipsychotic properties of NAC in humans. This study aims to investigate the effects of NAC in subjects with refractory schizophrenia, exclusively on clozapine use, through measure of positive and negative symptoms and the evaluation of cerebral perfusion by magnetic resonance imaging, using the arterial spin labeling technique (ASL) . Twenty subjects with refractory schizophrenia were evaluated in a randomized, double-blind, placebo-controlled study using a dose of 2000mg per day of NAC. From the total sample, 14 had cerebral perfusion images analyzed. The study had a duration of eight weeks, with evaluations at each four weeks and MRI sessions before the beginning of NAC and at the end of the period. The results did not show statistically significant differences between placebo and NAC groups on the BPRS and PANSS-N scales. The NAC group presented more side effects, although the medication was well tolerated in general. There were also no differences in the CBF among the regions of interest analyzed. Although there was no difference regarding symptoms scales the CBF in this sample, other studies found differences favoring NAC. The present study did not show changes of the CBF, which might mean that ASL is not an adequate technic to evaluate neurochemical effects of this drug.

Keywords: Schizophrenia, n-acetylcysteine, *Arterial Spin Labeling*, cerebral blood flow, functional magnetic resonance imaging.

INTRODUÇÃO

Vista como um dos transtornos psiquiátricos mais graves, a esquizofrenia continua sendo um desafio à psiquiatria clínica, apesar dos avanços nos últimos anos nas pesquisas em busca da compreensão de sua fisiopatologia e de novas abordagens terapêuticas. Atualmente, considera-se sua prevalência em torno de 0,7% na população mundial (MCGRATH et al., 2008), com uma expectativa de vida 68 anos para mulheres e de 60 anos para homens (HJORTHØJ et al., 2017). Como outros transtornos mentais, a esquizofrenia é responsável por uma importante parcela das causas de incapacidade para o trabalho, estando entre as dez maiores doenças causadoras de anos de vida perdidos (WHO, 2004; MURRAY&LOPEZ, 1996). Logo, a busca de novas opções terapêuticas é um dos principais focos da atual pesquisa em esquizofrenia.

Sendo a esquizofrenia uma síndrome psiquiátrica heterogênea, composta por sintomas positivos (delírios e alucinações), negativos (embotamento afetivo, avolição, anedonia, isolamento social e alogia), desorganizados e déficits cognitivos (CORBETT et al., 1999), sintomas estes, até o momento, sem completa explicação etiológica ou fisiopatológica, a abordagem psicofarmacológica se mantém voltada ao controle puramente sintomático, o que foi relativamente atingido com os antipsicóticos disponíveis atualmente, no que diz respeito aos sintomas positivos. Porém, nas demais dimensões psicopatológicas, a esquizofrenia segue sem tratamento adequado, sendo isto bem ilustrado pelos sintomas negativos e cognitivos, que permanecem como um desafio terapêutico (POTKIN et al., 1999).

A esquizofrenia passa a ser classificada como refratária quando não há resposta a pelo menos dois antipsicóticos administrados em dose e tempo adequados, sendo pelo menos um deles um atípico. Estima-se que pelo menos 30% dos pacientes com tal diagnóstico não respondem adequadamente ao tratamento com antipsicóticos, sendo a medicação de escolha nestes casos a clozapina (ELKIS & MELTZER, 2007; HASAN et al., 2012). Porém cerca de 10% do total de pacientes com esquizofrenia, não respondem nem mesmo à clozapina, sendo os ditos “respondedores parciais à clozapina", "resistentes" ou "super-refratários” (ELKIS & MELTZER, 2007). Várias tentativas têm sido feitas para se obter uma melhor resposta nestes casos, com outras medicações sendo utilizadas para potencializar a resposta da clozapina, destacando-se entre elas a lamotrigina, lítio, outros antipsicóticos e pregabalina, porém os resultados disponíveis ainda são pouco consistentes (ELKIS & MELTZER, 2007; HASAN et al., 2012).

Frente a tais dificuldades, segue-se numa busca constante por explicações etiológicas e fisiopatológicas mais adequadas para os sintomas da esquizofrenia para que, a partir deste entendimento

mais profundo, tornem-se possíveis abordagens terapêuticas mais eficazes no controle sintomático e na interrupção da progressão da doença, que em alguns pacientes chega a ser catastrófica tal o grau de comprometimento cognitivo e funcional (LIEBERMAN, 1996). Daí a importância das teorias de alteração nos sistemas de neurotransmissores, como a dopamina, serotonina, ácido gama-aminobutírico (GABA) e o glutamato, que exemplificam bem as tentativas de explicações fisiopatológicas alternativas (YOSHIKAWA et al., 2009).

A hipótese dopaminérgica da esquizofrenia nasceu em 1963, após a demonstração de que drogas antipsicóticas alteram o nível de catecolaminas no cérebro (CARLSSON & LINDQVIST, 1963). Foi reforçada após a descoberta de que a eficácia e a potência dos antipsicóticos eram diretamente relacionadas à capacidade destas drogas antagonizarem os receptores dopaminérgicos D2 (CRESSE, BURT & SNYDER, 1976). Pensou-se, então, que a fisiopatologia da esquizofrenia se explicaria pela alteração no sistema dopaminérgico, porém logo foi visto que este sistema não poderia explicar todo o espectro da esquizofrenia (POTKIN et al., 1999). Logo, abriu-se espaço para a busca de outras vias pelas quais se explicasse as alterações presentes na esquizofrenia.

Uma dessas vias foca-se na neurotransmissão glutamatérgica, uma vez que o glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do cérebro e é essencial para a circuitaria sensório-motora e cognitiva, que participa no desenvolvimento, plasticidade sináptica, neuroproteção e comunicação glial-neuronal (GASPAR et al., 2009). A hipoatividade de um subtipo de receptores glutamatérgicos, os receptores tipo N-metil-D-aspartato (NMDA), pode estar envolvida na sintomatologia da esquizofrenia. Os receptores estão localizados em vias neuronais que regulam a liberação de dopamina, sugerindo que a disfunção dopaminérgica encontrada na esquizofrenia pode estar relacionada a uma disfunção no sistema glutamatérgico. (DEAKIN; SIMPSON, 1997; LINDSLEY et al., 2006). Os receptores NMDA são essenciais para a plasticidade neuronal e para mecanismos de *long term potentiation* (LTP), sinaptogênese e excitotoxicidade (BLISS; COLLINGRIDGE, 1993).

A disfunção do sistema glutamatérgico na esquizofrenia é um fenômeno observado por estudos, como os que avaliaram os efeitos psicotomiméticos dos antagonistas dos receptores NMDA, como a fenciclidina e a quetamina. que além de sintomas positivos, induzem sintomas negativos, transtorno da forma do pensamento e déficits cognitivos em voluntários saudáveis (LUBY et al., 1959; SIEGEL, 1978; THORNBERG; SAKLAD, 1996; TORU; KURUMAJI; ISHIMARU, 1994). Tais alterações amplas observadas na neurotransmissão glutamatérgica reforçam a participação desse sistema na fisiopatologia da esquizofrenia.

O estresse oxidativo (EO) tem se mostrado um achado frequente na esquizofrenia (FLATOW et al., 2013). O EO é definido como um estado de desequilíbrio em que a oxidação excede a capacidade dos sistemas antioxidantes do organismo, causando eventos danosos como danos ao DNA e peroxidação lipídica (YOSHIKAWA e NAITO, 2002). Os radicais livres, como as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, são oxidantes produzidos normalmente nas reações bioquímicas dos organismos e que devem ser prontamente neutralizados, para evitar os danos já descritos. Uma das substâncias antioxidantes que neutralizam esses radicais livres é a glutationa (GSH) (FLATOW et al., 2013).

Sendo a fisiopatologia da esquizofrenia bastante complexa, o estresse oxidativo pode sugerir uma via final para onde convergem os diversos fatores de risco. Há evidências de que, na esquizofrenia, existe uma redução nos níveis de glutationa (GSH) no líquido cefalorraquidiano, além de redução da GSH no córtex pré-frontal (DEAN et al., 2011; KULAK et al., 2013; BERK et al., 2013), sugerindo um aumento no estresse oxidativo.

Apesar da heterogeneidade de resultados e de resultados negativos, alguns achados dão suporte à associação entre estresse oxidativo e esquizofrenia: genes responsáveis por defesas antioxidantes estão relacionados com este transtorno; parâmetros de estresse oxidativo anormais no sangue, hemácias, neutrófilos, plaquetas, líquido cefalorraquidiano e em cérebros *post-mortem*, parecendo haver uma melhora parcial com o uso de antipsicóticos (FLATOW et al., 2013). E mesmo na presença de outros fatores (ex.: tabagismo, baixa ingesta de substâncias antioxidantes) a dosagem de glutationa (GSH) parece estar reduzida nos pacientes com esquizofrenia (BALLESTEROS et al., 2013).

A GSH (gama-glutamil-cisteína-glicina) é uma substância sintetizada a partir de três aminoácidos: glutamato, cisteína e glicina, sendo essencial para a proteção celular contra as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e a neutralização de toxinas e metabólitos reativos. A síntese de GSH ocorre nas células gliais (astrócitos), sendo ela então disponibizada para os neurônios. Inicialmente o glutamato é ligado à cisteína através da glutamato-cisteína-ligase (GCLC), formando um dipeptídeo (gama-glutamil-cisteína), e em seguida a glicina é ligada a este último através de GSH sintetase (GSS) formando o GSH. A etapa de síntese

da gama-glutamil-cisteína é a etapa limitante na síntese do GSH. A GCLC possui acoplada a si uma subunidade modulatória, GCLM, que não participa diretamente da síntese, mas já foi demonstrado que ratos *knockout* para o gene da GCLM tem um nível 70-80% mais baixo de GSH que ratos normais (KULAK et al., 2013). Polimorfismos na GCLC e na GCLM estão associados a um aumento no risco de esquizofrenia (DEAN et al., 2011; KULAK et al., 2013; BERK et al., 2013).

A n-acetilcisteína (NAC) é uma droga já utilizada há mais de 30 anos na medicina. A NAC, o precursor acetilado do aminoácido L-cisteína, é disponível nas apresentações intravenosa, oral e aerossol (SAMUNI et al., 2013), com meia vida de 5.6h após uma dose intravenosa, sendo 30% eliminados pela via renal.

A GSH não pode ser oferecida diretamente, pois seria metabolizada pelo fígado na primeira passagem e a L-cisteína não atravessa a barreira hemato-encefálica (DEAN et al., 2011; KULAK et al., 2013; BERK et al., 2013; SAMUNI et al., 2013). A NAC surge como um provedor de cisteína, aumentando os níveis cerebrais desta. Com o aumento da cisteína extracelular, ocorre troca com glutamato intracelular dos astrócitos por um mecanismo antiporte (chamado sistema x(c)), que aumenta o glutamato extracelular (BERK et al., 2013; BRIDGES et al., 2012). Postula-se, então, que esta liberação não-vesicular modula a liberação vesicular de glutamato. Com a maior oferta de cisteína, segue-se um aumento na concentração de GSH.

Em um estudo anterior (BERK et al., 2008), verificou-se melhora dos sintomas negativos da esquizofrenia com a adição de NAC ao tratamento antipsicótico, utilizando uma dose de 2g/dia de NAC. Dessa amostra de 140 pacientes, 45% eram pacientes tratados com clozapina. Em 2013, FAROKHNIA et al. constataram, em portadores de esquizofrenia em uso de risperidona, que o grupo que utilizou NAC na dose 2g/dia durante oito semanas apresentou melhora de sintomas negativos importantes em relação ao placebo ($p<0,001$).

Mais recentemente, SEPEHRMANESH et al. (2018) mostraram que sujeitos portadores de esquizofrenia na fase crônica ($n=84$), utilizando NAC 1200mg/dia durante doze semanas, apresentaram melhora na PANSS positiva e negativa ($p<0,01$) em relação ao placebo, além de melhora nos domínios cognitivos como atenção, memórias de trabalho e de curto prazo e na velocidade de processamento ($p<0,01$). Em outro estudo avaliando a cognição, RAPADO-CASTRO et al. (2017) observaram que a adição de NAC 2g/dia por 24 semanas, em comparação ao placebo, melhora na performance da memória de trabalho ($p=0,027$) em sujeitos com psicose (esquizofrenia e transtorno bipolar). Outros dois estudos (LAVOIE et al. 2008; CARMELI et al., 2012) utilizando a mesma amostra de sujeitos, observaram, respectivamente, melhora da sincronização no eletroencefalograma após a administração de NAC (CARMELI et al., 2012) e melhora das alterações no potencial evocado *mismatch negativity* com o uso de NAC, um potencial auditivo de longa latência que fornece uma medida objetiva das habilidades de discriminação e memória sensorial auditiva e parece ser mediado pela ativação de receptores NMDA (LAVOIE et al. 2008). Já DAVIS et al. (2017) não observou melhora dos sintomas avaliados através da PANSS, adicionando NAC 1200mg/dia ou placebo por oito semanas, porém observou efeitos eletroencefalográficos relacionados à cognição e à atividade glutamatérgica mediada por receptores NMDA.

Embora, nas últimas décadas, o estudo dos mecanismos neurobiológicos subjacentes aos transtornos psiquiátricos e os efeitos de manipulações farmacológicas tenham recebido importante contribuição das técnicas de neuroimagem funcional, há poucos estudos utilizando estas técnicas de investigação para avaliar os efeitos da NAC no cérebro saudável ou em amostras de pacientes com esquizofrenia.

A ressonância magnética nuclear (RMN) vem evoluindo nos últimos 30 anos, começando com a melhora da qualidade da RMN estrutural, passando pelo desenvolvimento da RMN funcional (RMNf), que fornece informações sobre o estado fisiológico do órgão estudado (GÜNTHER, 2013) e, mais recentemente, com novas técnicas que avaliam a perfusão cerebral, dentre elas destacando-se a *arterial spin labeling (ASL)*, com a clara vantagem de não precisar de meios de contraste ou radiofármacos para avaliar a perfusão cerebral (GÜNTHER,2013; WATTS et al., 2012). Trata-se de uma técnica que surgiu experimentalmente em 1992 e tem sido cada vez mais integrada a prática clínica, principalmente com o surgimento dos aparelhos de RMN de 3.0 Tesla (GÜNTHER, 2013). Nesta técnica, a água do sangue arterial é "marcada" com um spin diferente da água presente nos tecidos a serem avaliados, dessa forma servindo como um contraste endógeno e possibilitando a medição da perfusão tecidual (GÜNTHER, 2013; SHEEF et al., 2010) e, portanto, pode oferecer um potencial marcador de resposta terapêutica na

esquizofrenia, através de mudanças no fluxo sanguíneo cerebral regional (rCBF) causado pelo fenômeno de acoplamento neurovascular (ALLEN et al. 2016). Logo, esta técnica constituiria uma boa opção para a investigação dos efeitos da NAC na perfusão de áreas cerebrais de interesse em pacientes portadores de esquizofrenia.

Um estudo recente publicado pelo nosso grupo de pesquisa (OLIVEIRA et al., 2017) mostrou que sujeitos com esquizofrenia em comparação com controles saudáveis, utilizando a técnica ASL, apresentaram redução de CBF em estado de repouso em regiões bilaterais do polo frontal e giro frontal superior, giro frontal medial direito, partes triangular e opercular do giro frontal inferior direito, e na divisão posterior do giro supramarginal esquerdo, corroborando o achado de hipofrontalidade nesses sujeitos.

Os efeitos da NAC também foram avaliados na RMNf utilizando a ASL, em portadores de esquizofrenia, pois um estudo recente (MCQUEEN et al., 2018) mostrou que a NAC, em dose única de 2400mg, não alterou a perfusão cerebral nestes sujeitos, em repouso e medida através da ASL, mostrando que a NAC parece não apresentar efeitos agudos no aumento perfusão cerebral, como foi observado em animais submetidos à lesão por isquemia-reperfusão (LEE et al., 2008), uma vez que poderia ser argumentado que os efeitos da NAC observados na ASL decorreriam de alterações agudas na vasodilatação.

Apesar de a neuroimagem ter contribuído para o maior entendimento dos efeitos centrais de medicações utilizadas para o tratamento da esquizofrenia, até o momento existem poucos estudos que procuram avaliar os mecanismos centrais relacionados às propriedades antipsicóticas da NAC, e apenas um deles utilizando RMN com ASL, porém a droga foi administrada em dose única e as imagens de CBF antes e depois da administração foram obtidas no mesmo dia (MCQUEEN et al., 2018). Este estudo não mostrou diferenças no CBF entre voluntários com esquizofrenia e controles saudáveis.

Os onze estudos descritos anteriormente reúnem tudo o que foi publicado sobre o uso da NAC na esquizofrenia até o momento. Este fármaco mostrou melhora de sintomas negativos em uma parte dos estudos, além de melhora em alguns domínios cognitivos, como memória de trabalho e fluência verbal. Além disso, a ASL foi pouco utilizada em pacientes portadores de esquizofrenia para avaliar alterações na perfusão cerebral em regiões de interesse em ensaios clínicos com fármacos, e apenas um estudo avaliando efeito da NAC na perfusão cerebral por esta técnica até o presente. Portanto, as hipóteses testadas neste estudo foram que a NAC teria efeitos sobre os sintomas da esquizofrenia, principalmente nos sintomas negativos, além de alterar o CBF nas regiões cerebrais que já se mostraram alteradas em sujeitos com esquizofrenia, tais como as áreas frontais.

O objetivo geral desse estudo é investigar os efeitos da NAC em pacientes portadores de esquizofrenia refratária tratados com clozapina em um estudo com distribuição aleatória, desenho duplo-cego e controlado por placebo. Especificamente avaliar os efeitos do tratamento com NAC sobre os sintomas positivos e negativos da esquizofrenia e avaliar a perfusão cerebral através de RMN com o protocolo ASL, durante o estado de repouso, em sujeitos com esquizofrenia refratária.

MATERIAIS E MÉTODOS

Participaram do estudo 20 sujeitos portadores de esquizofrenia, diagnosticados pelos critérios do Manual Diagnóstico e Estatístico da Associação Psiquiátrica Americana – 5ª edição (*Diagnostic and Statistical Manual* – DSM-5) e classificados como refratários ao tratamento medicamentoso de acordo com os seguintes critérios: ausência de melhora significativa da psicopatologia e da impressão clínica global apesar do tratamento com pelo menos dois antipsicóticos diferentes de pelo menos duas classes diferentes, sendo pelo menos um deles um antipsicótico atípico, nas doses terapêuticas recomendadas, por um período de 4 a 8 semanas por droga (HASAN et al., 2012). O fluxograma (Figura 1) resume o processo de seleção da amostra do estudo.

Os voluntários portadores de esquizofrenia refratária em uso exclusivo de clozapina foram convidados a participar do estudo quando faziam suas consultas regulares (mensais). Como já mencionado, os sujeitos foram triados entre os pacientes já atendidos no serviço da psiquiatria do HCFMRP-USP (ambulatório de Esquizofrenia – APQE e ambulatório de Reabilitação Psicossocial – AREP). Na abordagem, era explicado aos

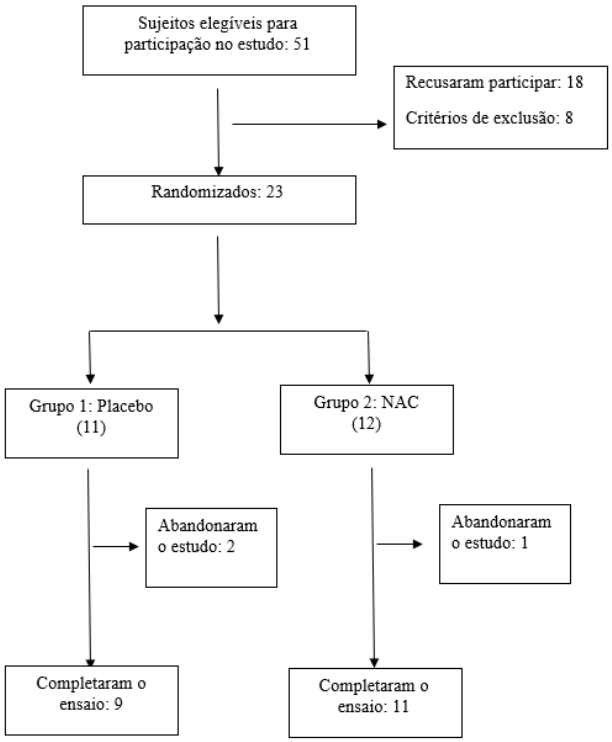


Figura 1: Fluxograma de seleção dos sujeitos.

voluntários e seus responsáveis todo o desenho do estudo, além de potenciais efeitos colaterais advindos do tratamento, sendo a participação condicionada à leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), com anuência do responsável pelo sujeito quando pertinente.

O estudo foi conduzido no Laboratório de Psicofarmacologia localizado no terceiro andar do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. A aplicação das escalas ocorre antes do início do tratamento e após quatro semanas e oito semanas, em uma das salas disponíveis no laboratório. Os exames de RMN foram feitos no setor de imagem localizado no mesmo hospital.

Os pacientes foram selecionados dentre os pacientes em seguimento no Serviço de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP-USP) de acordo com os critérios de inclusão e exclusão descritos abaixo.

Critérios de inclusão:

- Idade mínima de 18 anos;
- Diagnóstico de esquizofrenia de acordo com os critérios do DSM-V;
- Ter feito uso apenas de clozapina no período de 3 meses anteriores ao estudo (qualquer outro psicotrópico não foi permitido);
- Estar em uso estável de clozapina, sem qualquer mudança posológica nas últimas 6 semanas.

Critérios de exclusão:

- Presença de condição médica geral relevante (doenças cardiovasculares, insuficiência renal, doenças neurológicas, doenças hepáticas, deficiência de vitamina B12 não controlada, hipotireoidismo não controlado);
- História de hipersensibilidade à NAC;
- Diagnóstico comórbido de abuso de substância (exceto nicotina e cafeína) ou dependência dentro dos últimos três meses de acordo com os critérios do DSM-5;
- Contraindicação à realização de RMN, como próteses metálicas ou marcapasso.

Os pacientes que preencheram os critérios descritos e forneceram consentimento formal para a participação no estudo foram divididos de forma aleatória em dois grupos, sendo um com pacientes

esquizofrênicos refratários utilizando clozapina e placebo e outro com pacientes esquizofrênicos refratários medicados com clozapina e que utilizou NAC na dose 2000 mg/dia, cada um durante oito semanas. O sorteio dos grupos foi realizado pela técnica do Laboratório de Psicofarmacologia do HCFMRP-USP.

Escalas de avaliação

A Escala de Avaliação Psiquiátrica Breve (*Brief Psychiatric Rating Scale* - BPRS, OVERALL E GORHAM, 1962) modificada por BECH (1988) e traduzida e adaptada para o português (ZUARDI e col., 1994) foi utilizada para a avaliação de diferentes sintomas psiquiátricos nos dois grupos de pacientes, desde a inclusão (linha de base) até o final do ensaio clínico.

A versão utilizada é composta por 18 itens da escala original desenvolvida por OVERALL E GORHAM (1962). Cada item é pontuado por um entrevistador treinado no uso da mesma, com escore variando entre 0 (mínimo - ausente) e 4 (máximo – presente o tempo todo ou durante a maior parte do tempo).

A PANSS foi desenvolvida a partir da BPRS e da PRS (*Psychopathology Rating Scale*) com o intuito de se avaliarem os sintomas positivos e negativos da esquizofrenia. Ela é composta por 30 itens, sendo um grupo de 7 sintomas positivos da esquizofrenia e outro de 7 sintomas negativos, além de 16 itens que constituem uma escala de psicopatologia geral.

Dada a importância dos sintomas negativos na esquizofrenia refratária, apenas a sub-escala negativa, traduzida e adaptada para o português por VESSONI (1993) foi utilizada no estudo.

Em estudos anteriores (BREIER et al., 2018; CONUS et al., 2018; BERK et al. 2008; DEMEDTS et al., 2005; VAN SCHOOTEN et al. 2002; BERH et al., 2002; ADAIR et al., 2001) foram utilizadas doses entre 1500 à 3600mg de NAC, com boa tolerabilidade e eficácia. Levando-se isso em consideração, e pelo tempo que os sujeitos fariam uso da medicação, optamos pela dose de 2000mg/dia por ser uma dose terapêutica segura e utilizada em alguns dos estudos já realizados.

Fármacos

A NAC foi fornecida em cápsulas de 500mg, em um total de 224 cápsulas por sujeito, acompanhada de um receituário médico com orientações sobre as tomadas da medicação (duas cápsulas a cada 12h). Essas cápsulas foram manufaturadas em farmácia de manipulação, uma vez que não existem no mercado brasileiro nesta apresentação, tendo o mesmo procedimento sido adotado em outros estudos (BERK et al. 2008, LAVOIE et al. 2008), pois só se encontra no mercado a NAC em sachês de 600mg com sabor, o que poderia ser desconfortável para o paciente utilizar ao longo de 56 dias e representaria uma diferença significativa do placebo. A NAC foi fornecida pela empresa Pharmanostra® e as cápsulas foram manufaturadas na farmácia *Homeocenter* (Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil), com certificado de análise atestando sua qualidade. A medicação foi entregue no dia do primeiro exame de ressonância, para ser iniciada no dia seguinte.

O placebo foi fornecido em cápsulas idênticas às da NAC, contendo amido de milho, na mesma quantidade (224 cáp./sujeito), com receituário equivalente e mesma orientação de tomada descrita no item anterior. Assim como no caso da NAC, as cápsulas de placebo foram entregues aos participantes no dia do primeiro exame de ressonância, com orientação para início no dia seguinte.

Marcação de spin arterial por ressonância magnética

Todas as imagens de RMNf foram adquiridas em um tomógrafo Philips 3.0 T *Achieva* (Philips, Best, Holanda), utilizando uma bobina de crânio de 32 canais. As imagens anatômicas foram adquiridas utilizando uma sequência do tipo gradiente eco ponderada em T1, com os seguintes parâmetros: TR/TE = 7/3.2 ms, FA 8°, matriz = 240 x 240, FOV = 240 x 240 mm2 e 160 fatias de 1mm de espessura. A imagens de ASL pseudocontínuas (pCASL) em estado de repouso foram obtidas através de uma sequência ecoplanar (EPI – *Echo Plannar Imaging*) 2D com os seguintes parâmetros: TR/TE = 4000/14 ms, FA = 90°, FOV = 240 x 240 mm2, matriz = 160 x 160, 20 fatias de 5mm, sem intervalo; LT = 1650 ms, PLD = 1525 ms, 50 pares controles/marcados, com duração total da sequência de 6min e 48s. Todos os sujeitos foram orientados a permanecerem acordados e a evitarem se mover. Para a quantificação do CBF, uma imagem com densidade de prótons (M0) foi adquirida separadamente, com a mesma geometria e parâmetros da sequência pCASL, mas sem os pulsos de marcação.

Foram analisadas 102 regiões de interesse (ROI) do espaço padrão MNI 152 (Montreal Neurological Institute), utilizando o atlas Harvard-Oxford (DESIKAN et al., 2006), sendo excluídos o cerebelo, o vermis, a divisão anterior do giro temporal inferior (bilateralmente) e a divisão anterior do cortex temporal fusiforme, devido a uma limitação de aquisição pelo método.

Todo o processamento dos dados foi feito utilizando o programa *Statistical Parametric Mapping* (SPM12; http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/ spm/software/spm12/). Para as imagens de ASL foram utilizados roteiros pré-programados disponíveis no *ASL Toolbox* (WANG et al., 2008) seguindo os seguintes passos: correção de movimento, registro concomitante das imagens anatômicas, filtro temporal, suavização especial com filtro isotrópico Gaussiano (FWHM = 4 mm), quantificação de CBF e normalização para o espaço padrão MNI (resolução: 2 x 2 x 2 mm^3, tamanho da matriz: 79 x 95 x 79). Foi utilizado um algoritmo modificado para a retirada de artefatos das imagens de ASL. Antes do cálculo do CBF, resíduos oriundos da correção do movimento e do sinal global foram submetidos à regressão a partir das imagens de ASL controle/marcadas (WANG, 2012). As imagens *outlier* de CBF foram removidas através do algoritmo (DOLUI et al., 2016).

As análises das imagens de ASL foram realizadas no programa comercial *Matlab* 2011 (The MathWorks, Inc., MA, USA), utilizando ferramentas do programa *SPM8*. Essas análises também incluem as etapas de pré-processamento citadas acima, além da quantificação do fluxo sanguíneo cerebral.

Coleta dos dados

A RMN com ASL foi realizada em duas ocasiões, sendo a primeira antes da introdução de NAC ou placebo e a segunda oito semanas após o início de NAC ou do placebo. Antes de cada exame (60 minutos), foram aplicadas a BPRS e a PANSS-N (escala negativa). Cada exame durou aproximadamente 45 minutos e os pacientes foram liberados em seguida. Os procedimentos de coleta de dados clínicos e de imagem estão detalhados na tabela 1, abaixo.

Tabela 1. Fluxograma dos procedimentos para coleta de dados.

Tempo	Fase do estudo	Procedimento
Pré-avaliação	Pré-droga	Assinatura do TCLE e avaliação clínica
Dia 0	Pré-droga, chegada ao hospital	BPRS, PANSS-N, realização da RMN com ASL pré-droga e entrega da medicação (NAC 2000mg ou PLB).
Dia 1	Início do tratamento	Introdução da medicação do estudo (NAC ou PLB)
Dia 28	Tratamento	Avaliação clínica, BPRS e PANSS-N
Dia 56	2ª RMN com ASL e fim do tratamento	Avaliação clínica, BPRS e PANSS-N, aquisição das imagens e suspensão do medicamento.

A RMNf não utiliza contraste iodado ou marcador radioativo e suas contraindicações são semelhantes às da RMN convencional, como o uso de marca-passos. Todos os voluntários foram submetidos ao questionário padrão do hospital antes da realização do exame.

Análise estatística

A análise estatística foi feita utilizando-se o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 22.0. As características clínicas e demográficas da amostra foram comparadas através de análise não paramétrica para os dados categoriais (teste χ^2) e paramétrica para os dados nominais com distribuição normal (teste *t* para amostras independentes). Eventuais diferenças encontradas foram consideradas estatisticamente significativas quando $p \leq 0,05$.

Para garantir que o efeito medido era decorrente da utilização da droga em estudo, foi feito o emparelhamento de variáveis de confusão durante o processo de randomização. Foram pareados todos os parâmetros de confusão tais como idade, sexo, escolaridade, tempo de doença, tempo de psicose não tratada, dose de clozapina e tempo de clozapina. O teste *t* para variáveis independentes foi aplicado para a comparação da média de idade, escolaridade, tempo de doença, tempo de psicose não tratada, dose de clozapina e tempo de clozapina entre os grupos placebo e droga ativa. A homogeneidade das variâncias foi avaliada pelo teste de Lavene, antes da realização dos testes *t*.

Os escores totais da BPRS e da PANSS-N foram submetidos à análise de variância de medidas repetidas (rmANOVA) com os fatores tempo, droga e interação entre os dois fatores. Nos casos em que as condições de esfericidade não foram alcançadas, os graus de liberdade foram corrigidos pelo épsilon de Huynh-Feldt. Quando houve interação significativa entre os fatores tempo e grupo, os dados de cada grupo individualmente (NAC e placebo) foram submetidos a uma rmANOVA analisando-se o fator tempo e o contraste simples da medida inicial com cada uma das avaliações posteriores.

Em relação à análise estatística das imagens, foi utilizado o software *R* (R DEVELOPMENT CORE, 2008). Diferenças entre os grupos foram avaliadas nas ROI utilizando-se testes *t* de duas amostras (teste *t* de Welch). Foram utilizadas correções FDR (*false discovery rate*) para múltiplas comparações nas médias dos mapas de CBF.

RESULTADOS

Do total de 23 voluntários que participaram do estudo, 12 foram alocados para o grupo NAC e 11 foram alocados para o grupo placebo. Um sujeito abandonou o estudo no grupo NAC por não tolerar a medicação e dois sujeitos no grupo placebo recusaram-se a continuar por motivos pessoais. Ao final, 11 sujeitos concluíram o ensaio com a medicação no grupo NAC e 9 no grupo placebo. Desses 20 sujeitos, 14 apresentaram dados de neuroimagem completos, sendo que seis sujeitos tiveram tais dados inutilizados por excesso de movimentação e três por terem abandonado o estudo (Figura 2).

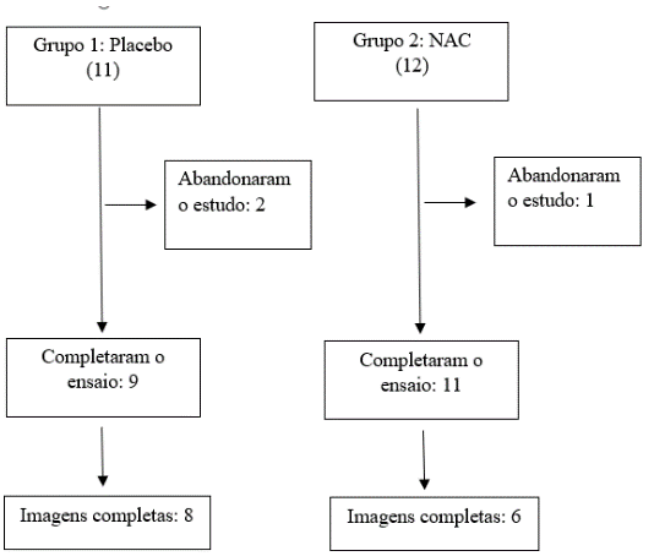


Figura 2: Fluxograma dos sujeitos que participaram do estudo.

Tabela 2. Características clínicas e demográficas da amostra. Valores de médias e, entre parênteses, o desvio padrão.*Teste χ^2 de Pearson.

Característica	Placebo	NAC	Valor de p (bicaudal)
Idade	34,67(13,66)	37,17(9,013)	0,619
Sexo (M/F)	9/3	8/3	0,676*
Escolaridade	10,78(3,56)	10,25(3,59)	0,742
Tempo de doença (anos)	10,78(9,44)	13,75(5,67)	0,380
Tempo de psicose não tratada (meses)	9,04(19,44)	12,95(34,21)	0,763
Dose de Clozapina	494,44(160,94)	395,83(119,57)	0,123
Tempo de uso de Clozapina	3,66(2,33)	5,45(3,27)	0,179
BPRS inicial	8,22(5,31)	7,91(2,5)	0,690
PANSSn inicial	23,33(5,72)	25,55(7,71)	0,742

As características clínicas e demográficas dos sujeitos estão descritas na tabela 2. A análise das variáveis não revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos placebo e NAC nas variáveis idade (*t*= -0,506, GL=19, p=0,053), escolaridade (*t*=0,334, GL=19, p=0,951), tempo de doença (*t*= -0,899, p=0,109), duração de psicose não tratada (*t*=-0,306, GL=19, p=0,489), dose de clozapina (*t*=1,615, GL=19, p=0,162) e tempo de uso de clozapina (*t*= -1,395, GL=19, p=0,289). Também não foram observadas diferenças significativas entre as pontuações na BPRS (*t*= 0,405, GL=19, p=0,690) e na PANSS-N (*t*= -0,335, GL=19, p=0,742) na linha de base (D0).

BPRS

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos na pontuação da BPRS, seja no início (D0) ou nos dias 28 e 56 (tabela 3). Além disso, não houve diferença significativa de efeitos sobre os escores ao longo do tempo ($F_{(2,36)}$ = 0,011, p=0,989 - Gráfico 1).

PANSS Negativa

Assim como observado com relação a BPRS, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos nos escores da PANSS-N em nenhum dos pontos de medida do ensaio (Tabela 4). Da mesma forma, não houve diferença significativa de efeitos sobre os escores ao longo do tempo ($F_{(2,36)}$ = 3,914, p=0,094), conforme mostra o Gráfico 2.

Tabela 3: Pontuação média BPRS dos grupos tratados com NAC e placebo medidos ao longo do ensaio clínico.

	Placebo	NAC	t	GL	p
D0	8,22(5,31)	7,91(2,5)	0,405	19	0,69
D28	6,78(5,01)	6,36(2,46)	0,416	19	0,682
D56	6,44(3,64)	6,09(2,66)	0,251	18	0,805

Tabela 4: Pontuação média na subescala negativa da PANSS. Valores de médias, desvio padrão (entre parênteses) e teste t de amostras pareadas.

	Placebo	NAC	t	GL	p
D0	23,33(5,72)	25,55(7,71)	-0,335	19	0,742
D28	22,11(5,011)	24,18(7,46)	-0,349	19	0,731
D56	21,67(4,66)	22,27(6,91)	-0,224	18	0,825

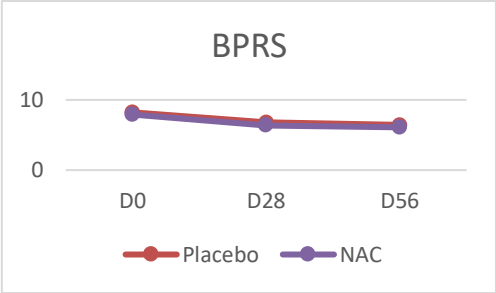


Gráfico 1: Evolução dos escores de BPRS nos grupos placebo e NAC ao longo do ensaio clínico.

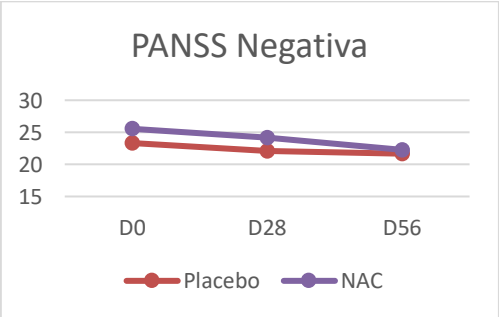


Gráfico 2: Evolução dos escores da PANSS negativa nos grupos placebo e NAC ao longo do ensaio clínico.

Perfusão cerebral

Os dados de neuroimagem não monstraram diferenças significativas entre os dois grupos de participantes com relação à perfusão cerebral da substância cinzenta total, nas sessões inicial e final, com oito semanas de intervalo, seja nas comparações das sessões intragrupo ou na comparação entre os grupos placebo e NAC. Da mesma forma, não houve diferenças significativas entre os grupos na comparação das diversas regiões de interesse analisadas (teste t de Welch com correção para múltiplas comparações - FDR<0.05). A Tabela 5 apresenta os valores de perfusão cerebral na substância cinzenta total dos sujeitos.

Tabela 5: Dados de perfusão cerebral na substância cinzenta total (ml/100 g/min) de cada sujeito dos grupos Placebo e NAC no início e ao final do ensaio clínico.

	Sujeito	D0	D56
PLACEBO	1	49,2783	45,1674096
	2	62,1547	43,7512402
	3	37,9221	28,9529451
	4	37,5747	24,1780848
	5	57,195	53,2070962
	6	32,0581	37,0671858
	7	42,984	44,0316598
	8	35,9969	36,7317654
	Média	44,4	39,14
	DP	10,8	9,39
	p	0.1582	
NAC	9	28,8077	39,0641707
	10	46,797	39,3930695
	11	41,5285	28,9462821
	12	41,4814	45,1456859
	13	44,7738	34,123808
	14	37,2231	41,548504
	Média	40,1	38,04
	DP	6,43	5,72
	p	0.2849	

Efeitos Colaterais

Os efeitos colaterais ocorreram em maior proporção no grupo que utilizou a droga ativa. Três sujeitos relataram dispepsia e dois destes relataram vômitos e cefaleia de leve intensidade ao longo do ensaio. Outro sujeito do grupo que utilizou NAC relatou aumento do apetite e ganho de peso. Apenas um sujeito do grupo placebo relatou sensação de inquietação nos membros inferiores.

Os efeitos colaterais descritos foram manejados com medicações para dispepsia ou náusea (bromoprida, se necessário) ou apenas com a orientação de tomar a medicação após as refeições. Um dos sujeitos no grupo NAC não tolerou os efeitos adversos da medicação (dispepsia e vômitos) e abandonou o estudo. Outro sujeito apresentou, na última semana de tratamento, vômitos e perda ponderal importante, sendo suspensa a medicação neste período. O sujeito foi avaliado, realizou exames laboratoriais, endoscopia digestiva alta, tomografia computadorizada de abdome e ressonância magnética de abdome devido a suspeita de neoplasia de pâncreas. Após discussão com a equipe de cirurgia geral do HCFMRP-USP, o sujeito foi diagnosticado com pancreatite focal. A equipe cirúrgica não relacionou tal episódio com a medicação do estudo e uma revisão da literatura pertinente não demonstrou a existência de relatos de pancreatite associada ao uso de NAC. O sujeito recuperou-se bem após quatro semanas, retomou seu peso normal, passou a alimentar-se normalmente e permaneceu em acompanhamento pela equipe de cirurgia até receber alta.

DISCUSSÃO

Nesse experimento, utilizamos a NAC em sujeitos com esquizofrenia refratária, na dose de 2000mg por dia, com o objetivo de avaliar os seus efeitos sobre os sintomas da esquizofrenia e sobre a perfusão cerebral destes pacientes. A droga mostrou-se segura e não houve efeitos colaterais significativos. Até o momento, este é o primeiro estudo do nosso conhecimento que utilizou uma amostra de sujeitos em uso exclusivo de clozapina e também o primeiro estudo que avaliou os efeitos da NAC na perfusão sanguínea cerebral através da técnica de ASL em portadores de esquizofrenia, após um período de oito semanas de uso da medicação.

Os sujeitos foram recrutados nos ambulatórios de esquizofrenia do HCRP (APQE e AREP), representando uma amostra de aproximadamente 6% do total de pacientes regulares desses ambulatórios. Houve alterações nos sintomas dos voluntários durante sua participação no estudo, registradas através das escalas de sintomas psiquiátricos BPRS e PANSS negativa, com quedas nos valores médios de pontuação levemente maiores no grupo NAC em relação ao placebo (1,82 vs. 1,78 para a BPRS e 3,28 vs. 1,66 para a PANSS negativa), porém tais diferenças não atingiram significância estatística. Algumas causas podem ter concorrido para isso, como o tamanho da amostra, pois apesar dos esforços no recrutamento, são sujeitos difíceis de serem recrutados pela sua carcterística clínica. Além disso, exixte o aspecto da cronicidade da doença, pois após alguns anos existe a tendência dos sintomas negativos persistirem, com pouca resposta à novas intervenções. Outra possibilidade é o efeito chão, pois os sujeitos já iniciavam o ensaio com uma pontuação baixa nas escalas, principalmente na BPRS, posto que são sujeitos refratários que utilizam apenas clozapina em monoterapia, ou seja, pacientes que já apresentam um bom perfil clínico de resposta ao esquema terapêutico apesar da refratariedade, principalmente no que concerne aos sintomas positivos, visto que a maior parte dos sujeitos não apresentava sintomas positivos em atividade.

A BPRS é uma escala que avalia a presença de sintomatologia geral, portanto, além de sintomas positivos e negativos, avalia também sintomas ansiosos e de humor. Outros ensaios realizados com a NAC observaram melhora na sintomatologia global, apesar de nenhum ter utilizado a BPRS (BERK et al., 2008; FAROKHNIA et al., 2013, SEPEHRMANESH et al., 2018; BREIER et al., 2018). Os valores médios da BRPS na linha de base eram baixos, o que limitou a possibilidade de alterações expressivas na pontuação nesta escala. Isto se deu provavelmente porque os voluntários do estudo utilizavam exclusivamente clozapina e, portanto, não faziam uso de outras medicações que são associadas frequentemente nesses indivíduos, tais como antidepressivos, anticonvulsivantes ou mesmo outros antipsicóticos. Devido a isso, a maior parte dos sujeitos apresentava sintomas positivos controlados na maior parte dos casos ou apenas residuais, como também sintomas ansiosos e de humor ausentes ou em baixa intensidade.

Assim como ocorreu com a BPRS, não foi observada melhora na PANSS-N, como relatado em outros estudos que avaliaram o efeito da NAC sobre os sintomas da esquizofrenia (BERK et al., 2008; FAROKHNIA et al., 2013, SEPEHRMANESH et al., 2018; BREIER et al., 2018). Um desses estudos mostrou diferenças com significância estatística na PANSS-N favorecendo a NAC depois da oitava semana (BERK et al., 2008) e outro ao final de 52 semanas (BREIER et al., 2018), enquanto os outros dois estudos mostraram diferença favorecendo a NAC em intervalos de tempo mais curtos, de oito e 12 semanas, respectivamente (FAROKHNIA et al., 2013, SEPEHRMANESH et al., 2018). Dessa forma, a duração do ensaio clínico parece ter sido adequada para se avaliar alguma resposta, porém por se tratar de sujeitos estáveis no seu tratamento, não se obteve um resultado significativo. Também não foi avaliada a cognição através de baterias cognitivas como em outros estudos (BREIER et al, 2018; CONUS et al., 2018), o que poderia mostrar diferenças em favor da NAC, uma vez que ela também parece atuar nestes domínios.

Em relação à ASL, não houve diferenças no FSC entre os grupos. Há apenas um estudo (MCQUEEN et al., 2018) que avaliou o FSC após administração de NAC ou placebo em dias distintos. Mesmo com a maior duração deste estudo, não observamos diferenças no FSC entre NAC e placebo nas diversas regiões cerebrais. Isso pode ter se dados por motivos relacionados à própria amostra, que foi pequena, como também pelos sujeitos serem pacientes já estáveis no seu tratamento. Outra possibilidade pode estar relacionada aos efeitos da NAC estarem associados à uma melhor regulação da atividade neuronal através da diminuição do EO e das sinapses glutamatérgicas e com aumento na conectividade entre as áreas cerebrais, não sendo apenas medido por mudanças no FSC.

O estudo possui algumas limitações, como a dificuldade de recrutar sujeitos, pois muitos deles utilizavam outros medicamentos em associação à clozapina, como anticonvulsivantes, antidepressivos e antipsicóticos, como estratégia de potencialização ou como tratamento de outros transtornos mentais comórbidos. Dessa forma, a amostra representa apenas uma parte da população de portadores de esquizofrenia refratária, uma vez que alguns pacientes com quadros possivelmente mais graves não foram incluídos no estudo. Entretanto, o estudo possui a vantagem de ser realizado em pacientes refratários

utilizando exclusivamente clozapina, o que torna esta amostra de sujeitos mais homogênea e com menor influência de outras variáveis.

Com relação às neuroimagens funcionais de ASL, este é o primeiro estudo, do nosso conhecimento, a realizar a avaliação de perfusão cerebral após um período de oito semanas de uso da NAC, pois o outro estudo (MCQUEEN et al., 2018) avaliou apenas os efeitos agudos da administração de NAC. Aquele estudo também não observou diferenças, como o nosso, provavelmente porque os efeitos da NAC se dão após o uso mais prolongado. Como no outro estudo do nosso grupo (OLIVEIRA et al., 2017) observamos diferenças na perfusão cerebral pelo método de ASL, principalmente nos lobos frontais, esperava-se observar mudanças do FSC nessas áreas (córtex pré-frontal ventromedial e dorsolateral), assim como em outras áreas, como o córtex cingulado anterior, amídala, hipocampo, núcleo *accumbens* (sensações prazerosas) e tálamo (LEGIND et al., 2019, OLIVEIRA et al., 2018, ZHU et al., 2015, KINDLER et al., 2015, PINKHAN et al., 2011, WALTHER et al., 2011 e SCHEEF et al., 2011; ZHU et al., 2015, PINKHAN et al., 2015 e SCHEEF et al., 2011), que são áreas relacionadas aos sintomas negativos e onde foram registradas alterações funcionais em estudos prévios ((İNCE e ÜÇOK, 2018; MØRCH-JOHNSEN et al., 2018). Entretanto, não observamos mudanças significativas no FSC na nossa amostra.

Outros autores, utilizando técnicas diferentes de neuroimagem, descreveram mudanças nos sujeitos que utilizaram NAC, como o aumento do GSH no córtex pré-frontal medial (CONUS et al., 2018; KLAUSER et el., 2018), melhora na integridade da substância branca do fórnix e decremento nos níveis de glutamato no ACC (MCQUEEN et al., 2018). Este último achado pode refletir o papel da NAC na regulação da neurotransmissão glutamatérgica, uma vez que alguns trabalhos mostram elevação do glutamato medido por espectroscopia na ACC de sujeitos com sintomas persistentes em relação aos que respondem ao tratamento com antipsicóticos (MOUCHLIANITIS et al. 2016), além de a NAC atenuar os efeitos da PCP, que estimula a neurotransmissão glutamatérgica (BAKER et al., 2002). Logo, as alterações neuroquímicas promovidas pela NAC parecem decorrer de modulações na neurotransmissão glutamatérgica, não necessariamente ocasionando um aumento de perfusão cerebral, o que poderia explicar o fato de não ter havido alterações do FSC. Como observou MCQUEEN (2018), outras modalidades de neuroimagem funcional, como a avaliação da conectividade funcional por RNM talvez possa a ajudar a esclarecer melhor as alterações neurofisiológicas da NAC em portadores de esquizofrenia.

CONCLUSÃO

Neste estudo, avaliamos o efeito da n-acetilcisteína sobre os sintomas da esquizofrenia e sobre o fluxo sanguíneo cerebral. Não observamos diferenças significativas na nossa amostra, entretanto, outros estudos observaram melhora clínica com o uso da NAC em portadores de esquizofrenia, principalmente nos sintomas negativos e cognitivos, estes últimos não avaliados neste estudo.

Não houve diferenças no FSC medido pela técnica ASL, provavelmente por características próprias da amostra, como já discutido . Apesar de não observarmos diferenças significativas da NAC nesta amostra, mais estudos são necessários para se definir melhor o papel da NAC na esquizofrenia e se há algum subgrupo de indivíduos que teriam mais benefício com o uso deste antioxidante.

REFERÊNCIAS

ADAIR, J.C., KNOEFEL, J.E., MORGAN, N. Controlled trial of n-acetylcysteine for patients with probable Alzheimer's disease. NEUROLOGY (2001): 57:1515–1517.

ANDREASEN, N. C. Schizophrenia: the fundamental questions. *Brain Res Brain Res Rev*, 31, 106-12, 2000.

ALLEN P, CHADDOCK CA, EGERTON A, HOWES OD, BONOLDI I, ZELAYA F, BHATTACHARYYA S,MURRAY R, MCGUIRE P. Resting hyperperfusion of the hippocampus, midbrain, and basal ganglia in people at high risk for psychosis. Am J Psychiatry 173:392–399, 2016.

BAKER, D.A., MADAYAG, A., KRISTIANSEN, L.V., MEADOR-WOODRUFF, J.H., HAROUTUNIAN, V., RAJU, I. Contribution of cystine-glutamate antiporters to the psychotomimetic effects of phencyclidine. Neuropsychopharmacology. Jun;33(7):1760-72 2008.

BAKER D.A., XI Z.X., SHEN H. et al. The origin and neuronal function of in vivo nonsynaptic glutamate. J Neurosci 22:9134–9141, 2002.

BALLESTEROS, A., JIANG, P., SUMMERFELT, A., DU, X., CHIAPPELLI, J.,O'DONNELL, P.,KOCHUNOV, P., HONG, L.E. No evidence of exogenous origin for the abnormal glutathione redox state in schizophrenia. Schizophrenia Research 146 (2013)184–189

BECH, P; LARSEN, JK; ANDERSEN, J.The BPRS: psychometric developments. *Psychopharmacol Bull*, 24(1):118-21, 1988.

BEHR, J., DEGENKOLB, B., KROMBACH, F., VOGELMEIER, C. Intracellular glutathione and bronchoalveolar cells in fibrosing alveolitis: effects of n-acetylcysteine. EUR RESPIR(2002): J 19:906 –911.

BENES, F. M., Amygdalocortical Circuitry in Schizophrenia: From Circuits to Molecules *Neuropsychopharmacology REVIEWS* 35, 239–257, 2010.

BENES, F.M., 2009 Neural Circuitry Models of Schizophrenia: Is it Dopamine, GABA, Glutamate, or Something Else? BIOL PSYCHIATRY 65:1003–1005, 2009.

BENES, F.M., BERRETTA, S. GABAergic interneurons: implications for understanding schizophrenia and bipolar disorder. Neuropsychopharmacology 25: 1–27, 2001.

BERK, M., COPOLOV, D., DEAN, O., LU, K., JEAVONS, S., SCHAPKAITZ, I., ANDERSON-HUNT, M., JUDD, F., KATZ, F., KATZ, P., ORDING-JESPERSEN, S., LITTLE, J., CONUS, P., CUENOD, M., DO, K.Q.,BUSH, A.I. N-acetyl cysteine as a glutathione precursor for schizophrenia — a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. Biol Psychiatry. 2008 Sep1;64(5):361-8.

BERK, M., MALHI, G.S., GRAY, L.J., DEAN, O.M. The promise of N-acetylcysteine in neuropsychiatry. Trends Pharmacol Sci. 2013 Mar;34(3):167-77.

BRESSAN, R. A.; PILOWSKY, L. S. Glutamatergic hypothesis of schizophrenia. *Rev Bras Psiquiatr*, 25, 177-83, 2003.

BRIDGES, R., LUTGEN, V.,LOBNER, D.,BAKER, D.A. Thinking Outside the Cleft to Understand Synaptic Activity: Contribution of the Cystine-Glutamate Antiporter (System xc¯) to Normal and Pathological Glutamatergic Signaling. PHARMACOLOGICAL REVIEWS, 2012 Vol. 64, No. 3

BRODY, S.A.; CONQUET, F.; GEYER, M.A. Effect of antipsychotic treatment on the prepulse inhibition deficit of mGluR5 Knockout mice. *Psychopharmacology*, vol. 172, p. 187-195, 2004.

BRODY, S.A.; GEYER, M.A.; LARGE, C.H. Lamotrigine prevents ketamine but not amphetamine-induced deficits in prepulse inhibition in mice. *Psychopharmacology*, vol. 169, p. 240-246, 2003.

CABUNGCAL, J.H., STEULLET, P., KRAFTSIK, R., CUENOD, M., DO, K.Q. Early-life insults impair parvalbumin interneurons via oxidative stress: reversal by N-acetylcysteine. Biol Psychiatry. 2013 Mar 15;73(6):574-82.

CANTISANI, A., STEGMAYER, K., FEDERSPIEL, A., BOHLHALTER, S., WIEST, R., WALTHER, S. Blood perfusion in left inferior and middle frontal gyrus predicts communication skills in schizophrenia. Psychiatry Res Neuroimaging. 2018 Apr 30;274:7-10.

CARLSSON, A.; LINDQVIST, M. Effect of Chlorpromazine or Haloperidol on Formation of 3methoxytyramine and Normetanephrine in Mouse Brain. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*, 20, 140-4, 1963.

CARLSSON, A.; WATERS, N.; HOLM-WATERS, S.; TEDROFF, J.; NILSSON, M.; CARLSSON M.L. Interactions Between Monoamines, Glutamate, and GABA in Schizophrenia: New Evidence. *Annu Rev PharmacolToxicol*, vol. 41, p. 237-60, 2001.

CARLSSON, M.; SVENSSON, A. Interfering with glutamatergic neurotransmission by means of NMDA antagonist administration discloses the locomotor stimulatory potential of other transmitter systems. *Pharmacol Biochem Behav*, vol. 36, p. 45-50, 1990.

CARMELI, C., KNYAZEVA, M.G., CUÉNOD, M., DO, K.Q.. Glutathione precursor N-acetyl-cysteine modulates EEG synchronization in schizophrenia patients: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. PLoS One. 2012;7(2):e29341.

CHEN, H.H., STOKER, A., MARKOU, A. The glutamatergic compounds sarcosine and N-acetylcysteine ameliorate prepulse inhibition deficits in metabotropic glutamate 5 receptor knockout mice. Psychopharmacology (Berl). 2010May;209(4):343-50.

CHOY, K.H., DEAN, O., BERK, M., BUSH, A.I., VAN DEN BUUSE, M. Effects of N-acetyl-cysteine treatment on glutathione depletion and a short-term spatial memory deficit in 2-cyclohexene-1-one-treated rats. Eur J Pharmacol. 2010 Dec 15;649(1-3):224-8.

CORBETT, R.; ZHOU, L.; STEPHEN, M.; SORENSEN, S.M.; MONDADORI, C. Animal models of negative symptoms: M100907 antagonizes PCP-induced immobility in a forced swim test in mice. *Neuropsychopharmacology*, vol 21, p.S211– S218, 1999.

CONUS, P., SEIDMAN, L.J., FOURNIER,M., XIN,L., CLEUSIX, M., BAUMANN, P.S., FERRARI, C., COUSINS, A., ALAMEDA, L., GHOLAM-REZAEE, M., GOLAY, P., JENNI, R., WOO, T.W., KESHAVAN, M.S., EAP, C.B., WOJCIK, J., CUENOD, M., BUCLIN, T., GRUETTER, R., DO, K.Q. N-acetylcysteine in a Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Trial: Toward Biomarker-Guided Treatment in Early Psychosis. Schizophr Bull. 2018 Feb 15;44(2):317-327.

COYLE et al. NMDA receptors and schizophrenia Ann. N.Y. Acad. Sci. 1003: 318-327, 2003.

COYLE, J. T., The GABA-glutamate connection in Schizophrenia: which is the proximate cause? Biochemical Pharmacology 68, 1507-1514, 2004.

CREESE, I.; BURT, D. R.; SNYDER, S. H. Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. *Science*, 192, 481-3, 1976.

CRIPPA, J.A.; BUSATO, F.G.; MCGUIRE, P.K. Neuroimagem. Em: HETEM L.A.; GRAEFF F.G. Transtornos de ansiedade. São Paulo: Editora Atheneu, 133-167, 2004.

CUI, L.B., CHEN, G., XU, Z.L., LIU, L., WANG, H.N., GUO, L., LIU, W.M., LIU, T.T., QI, S., LIU, K., QIN, W., SUN, J.B., XI, Y.B., YIN, H. Cerebral blood flow and its connectivity features of auditory verbal hallucinations in schizophrenia: A perfusion study. Psychiatry Res Neuroimaging. 2017 Feb 28;260:53-61

DAS NEVES DUARTE, J.M., KULAK, A., GHOLAM-RAZAEE, M.M., CUENOD, M., GRUETTER, R., DO, K.Q. N-acetylcysteine normalizes neurochemical changes in the glutathione-deficient schizophrenia mouse model during development. Biol Psychiatry. 2012 Jun1;71(11):1006-14.

DAVIS, M., WYNN, J., WEINER, K., HELLEMANN, G., GREEN, M., MARDER, S. Randomized controlled trial of n-acetylcysteine for cognition and EEG correlates in schizophrenia. Neuropsychopharmacology (2017) 39 SUPPL. 1 (S363).

DEAN, O,, GIORLANDO, F., BERK, M. N-acetylcysteine in psychiatry: current therapeutic evidence and potential mechanisms of action. J Psychiatry Neurosci. 2011 Mar;36(2):78-86.

DEAN, O.M., VAN DEN BUUSE, M., BERK, M., COPOLOV, D.L., MAVROS, C., BUSH, A.I. N-acetylcysteine restores brain glutathione loss in combined 2-cyclohexene-1-one and d-amphetamine-treated rats: relevance to schizophrenia and bipolar disorder. Neurosci Lett. 2011 Jul 25;499(3):149-53.

DEL BEN, C.M.; RODRIGUES, C.R.C., ZUARDI, A.W. Reliability of the Portuguese version of the structured clinical interview for DSM-III-R (SCID) in a brazilian sample of psychiatric outpatients. Braz. J. Med. Biol. Res.29(12): 1675-82,1996.

DEMEDTS, M., BEHR, J., BUHL, R., COSTABEL, U., DEKHUIJZEN, R., JANSEN. H.M., ET AL. High-dose acetylcysteine in idiopathic pulmonary fibrosis. N ENGL J MED (2005): 353:2229 –2242.

DESIKAN, R.S., SÉGONNE, F., FISCHL, B., QUINN, B.T., DICKERSON, B.C., BLACKER, D. An automated labeling system for subdividing the human cerebral córtex on mri scans into gyral based regions of interest. *NEUROIMAGE* 31,968–980, 2006.

DO, K. Oxidative stress as one core mechanism in schizophrenia pathophysiology and impact of antioxidant N-acetyl-cysteine in a clinical trial with early psychosis patients. Neuropsychopharmacology (2016) 41 Supplement 1 (S8)

DUBOVSKY, S.L., BUZAN, R.D. Novel alternatives and supplements to lithium and anticonvulsants for bipolar affective disorder. J Clin Psychiatry;58:224-42, 1997.

DOLUI, S. et al. Structural Correlation-based Outlier Rejection (SCORE) algorithm for arterial spin labeling time series. Journal of Magnetic Resonance Imaging, n. September, 2016.

ELKIS, H., MELTZER, H.Y. Esquizofrenia refratária Rev. Bras. Psiquiatr. vol.29 nº.3 São Paulo Set. 2007.

ELKIS, H.; MELTZER, H.Y. Esquizofrenia refratária. Rev. Bras. Psiquiatr. [online], vol.29, suppl.2, p. S41-S47, 2007.

FAROKHNIA, M., AZARKOLAH, A., ADINEHFAR, F., KHODAIE-ARDAKANI, M. R., HOSSEINI, S. M. R., YEKEHTAZ, H., TABRIZI, M., REZAEI, F., SALEHI, B., SADEGHI, S. M. H.MD, MOGHADAM, M., GHARIBI, F., MIRSHAFIEE, O., AKHONDZADEH, S. N-acetylcysteine as an adjunct to risperidone for treatment of negative symptoms in patients with chronic schizophrenia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. Clinical Neuropharmacology, Volume 36, n° 6, Nov./Dec. 2013.

FLATOW, J., BUCKLEY, P., MILLER, B.J. Meta-Analysis of Oxidative Stress in Schizophrenia. BIOL PSYCHIATRY 2013;74:400–409

FOUCHER, J.R., ZHANG, Y.F., ROSER, M., LAMY, J., DE SOUSA, P.L., WEIBEL, S., VIDAILHET, P., MAINBERGER, O., BERNA, F.. A double dissociation between two psychotic phenotypes: Periodic catatonia and cataphasia. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2018 Aug 30;86:363-369.

GASPAR, P. A. et al. Molecular mechanisms underlying glutamatergic dysfunction in schizophrenia: therapeutic implications. *J. Neurochem.* 111, 891-900, 2009.

GRUNZE, H.C. et al. NMDA-dependent modulation of CA1 local circuit inhibition. J. Neuroscci. 16(6): 2034-2043; 1996.

GÜNTHER, M. Perfusion Imaging Journal of Magnetic Resonance Imaging 00:00–00 (2013)

HANDLEY, R., ZELAYA, F.O., REINDERS, A.A., MARQUES, T.R., MEHTA, M.A., O'GORMAN, R., ALSOP, D.C., TAYLOR, H., JOHNSTON, A., WILLIAMS, S., MCGUIRE, P., PARIANTE, C.M., KAPUR, S., DAZZAN, P. Acute effects of single-dose aripiprazole and haloperidol on resting cerebral blood flow (rFSC) in the human brain. Hum Brain Mapp. 2013 Feb;34(2):272-82.

HAHN C. G., WANG H. Y., CHO D. S., et al. Altered neuregulin 1-erbB4 signaling contributes to NMDA receptor hypofunction in schizophrenia. *Nature Medicine*, 12, 824–828, 2006.

HASAN, A., FALKAI, P., WOBROCK, T., LIEBERMAN, J.,GLENTHOJ, B., GATTAZ, W.F., THIBAUT, F.,MÖLLER, H.J.,World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP)Guidelines for Biological Treatment of Schizophrenia, Part 1:Update 2012 on the acute treatment of schizophrenia and the management of treatment resistance. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 2012; 13: 318–378

HILL, D.R., SUMAN-CHAUHAN, N., WOODRUFF, G.N. Localization of (3H) gabapentin to a novel site in rat brain: autoradiographic studies. Eur. J. Pharmacol. 244:303-9, 1993.

HJORTHØJ, C. et al. Years of potential life lost and life expectancy in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. The Lancet Psychiatry, fev. 2017.

HOMAN, P., KINDLER, J., HAUF, M., HUBL, D., DIERKS, T. Cerebral blood flow identifies responders to transcranial magnetic stimulation in auditory verbal hallucinations. Transl Psychiatry. 2012 Nov 20;2:e189.

HORN, H., FEDERSPIEL, A., WIRTH, M., MÜLLER, T.J., WIEST, R., WANG J.-J., STRIK, W. Structural and metabolic changes in language areas linked to formal thought disorder. British Journal of Psychiatry 2009, 194:130-138.

IDRIS, N.F.; REPETO, P.; NEILL, J.C.; LARGE, C.H. Investigation of the effects of lamotrigine and clozapine in improving reversal-learning impairments induced by acute phencyclidine and D-amphetamine in the rat. *Psychopharmacology*, vol. 179, p. 336-348, 2005.

İNCE, E E ÜÇOK, A. Relationship Between Persistent Negative Symptoms and Findings of Neurocognition and Neuroimaging in Schizophrenia Clinical EEG and Neuroscience. Vol. 49(1) 12– 17, 2018.

JAVITT, D.C., ZUKIN, S.R. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, 148, 1301–1308, 1991.

KEGELES L.S., MARTINEZ D., KOCHAN L. D., et al. NMDA antagonist effects on striatal dopamine release: positron emission tomography studies in humans. *Synapse*, 43, 19–29, 2002.

KINDLER, J., JANN, K., HOMAN, P., HAUF, M., WALTHER, S., STRIK, W., DIERKS, T., HUBL, D. Static and dynamic characteristics of cerebral blood flow during the resting state in schizophrenia. Schizophr Bull. 2015 Jan;41(1):163-70.

KREMER, I.; VASS, A.; GORELIK, I.; BAR, G.; BLANARU, M.; JAVITT, D.C.; HERESCO-LEVY, U. Placebo-Controlled Trial of Lamotrigine Added to Conventional and Atypical Antipsychotics in Schizophrenia. *BIOL PSYCHIATRY*, vol. 56, p. 441-446, 2004.

KRYSTAL, J. H. et al. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry*, 51, 199-214, 1994.

KULAK, A., STEULLET, P., CABUNGCAL, J.H., WERGE, T., INGASON, A., CUENOD, M., DO, K.Q. Redox dysregulation in the pathophysiology of schizophrenia and bipolar disorder: insights from animal models. Antioxid Redox Signal. 2013 Apr 20;18(12):1428-43.

KUMAR J., LIDDLE E.B., FERNANDES, C.C. et al. Glutathione and glutamate in schizophrenia: a 7T MRS study. Mol Psychiatry. 2018 Jun 22.

LAHTI, A. C. et al. Subanesthetic doses of ketamine stimulate psychosis in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 13, 9-19, 1995.

LAVOIE, S., MURRAY, M.M., DEPPEN, P., KNYAZEVA, M.G., BERK, M., BOULAT, O., BOVET, P., BUSH, A.I., CONUS, P., COPOLOV, D., FORNARI, E., MEULI, R., SOLIDA, A., VIANIN, P., CUÉNOD, M., BUCLIN, T., DO, K.Q. Glutathione precursor, N-acetyl-cysteine, improves mismatch negativity in schizophrenia patients. Neuropsychopharmacology. 2008 Aug;33(9):2187-99.

LEE TF, TYMAFICHUK CN, BIGAM DL, CHEUNG PY. Effects of postresuscitation N-acetylcysteine on cerebral free radical production and perfusion during reoxygenation of hypoxic newborn piglets. Pediatr Res. Sep;64(3):256-61, 2008.

LIEBERMAN, J. A. et al. Factors influencing treatment response and outcome of first-episode schizophrenia: implications for understanding the pathophysiology of schizophrenia. *J Clin Psychiatry*, 57 Suppl 9, 5-9, 1996.

LEGIND, C.S., BROBERG, B.V., BROUWER, R., MANDL, R.C.W., EBDRUP, B.H., ANHØJ, S.J., JENSEN, M.H., HILKER, R., FAGERLUND, B., HULSHOFF POL, H.E., GLENTHØJ, B.Y., ROSTRUP, E.. Heritability of Cerebral Blood Flow and the Correlation to Schizophrenia Spectrum Disorders: A Pseudo-continuous Arterial Spin Labeling Twin Study. Schizophr Bull. 2019 Feb 18.

LEXICOMP® Drug Interaction app for Iphone (Apple®), Wolters Kluwer 2019

LIU, J., QIU, M., CONSTABLE, R.T., WEXLER, B.E. Does baseline cerebral blood flow affect task-related blood oxygenation level dependent response in schizophrenia? Schizophr Res. 2012 Sep;140(1-3):143-8.

LUBY, E.D., COHEN, B.D., ROSENBAUM, G., GOTTLIEB, J.S., KELLEY, R. Study of a new schizophrenomimetic drug; sernyl .AMA Arch Neurol Psychiatr, Mar; 81(3): 363-9, 1959.

LUTGEN, V., QUALMANN, K., RESCH, J., KONG, L., CHOI, S., BAKER, D.A. Reduction in phencyclidine induced sensorimotor gating deficits in the rat following increased system xc^- activity in the medial prefrontal cortex. Psychopharmacology (Berl) 2013 Apr;226(3):531-40.

MEADOR-WOODRUFF J. H. & HEALY D. J. Glutamate receptor expression in schizophrenic brain. *Brain Research Reviews*, 31, 288–294, 2000.

MCGRATH, J. et al. Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. Epidemiologic reviews, v. 30, p. 67–76, jan. 2008

MCQUEEN, G., LALLY, J., COLLIER, T., ZELAYA, F., LYTHGOE, D. J., BARKER, G. J., STONE, J. M., MCGUIRE, P., MACCABE, J. H., … EGERTON, A. Effects of N-acetylcysteine on brain glutamate levels and resting perfusion in schizophrenia. *Psychopharmacology*, *235*(10), 3045-3054, 2018.

MOGHADDAM B. Bringing order to the glutamate chaos in schizophrenia. *Neuron*, 40, 881–884, 2003.

MOUCHLIANITIS E., BLOOMFIELD M.A.P., LAW V., BECK K., SELVARAJ S., RASQUINHA N., WALDMAN A., TURKHEIMER F.E., EGERTON A., STONE J., HOWES O.D. Treatment-resistant schizophrenia patients show Elevated anterior cingulate cortex glutamate compared to treatmentresponsive. Schizophr Bull 42:744–752. 2016.

MØRCH-JOHNSEN, L., AGARTZ, I., JENSEN, J. The Neural Correlates of Negative Symptoms in Schizophrenia: Examples From MRI Literature Clinical EEG and Neuroscience. Vol. 49(1) 12– 17, 2018.

MURRAY, C.J.L., LOPEZ, A.D., eds. The global burden of disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries and risk factors in 1990 and projected to 2020. Cambridge, Harvard School of Public Health on behalf of the World Health Organization and the World Bank, 1996.

NORRIS, H. The action of sedatives on brain stem oculomotor systems in man. Neuropharmacology 10(21):181-91, 1971.

OLIVEIRA, I. A. F. de. Avaliação perfusional e de conectividade funcional cerebrais em esquizofrenia por imagens por ressonância magnética. 2017. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Física Aplicada à Medicina e Biologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2017.

OLIVEIRA, Í.A.F., GUIMARÃES, T.M., SOUZA, R.M., DOS SANTOS, A.C., MACHADO-DE-SOUSA, J.P., HALLAK, J.E.C., LEONI, R.F. Brain functional and perfusional alterations in schizophrenia: an arterial spin labeling study. Psychiatry Res Neuroimaging. 2018 Feb 28;272:71-78

OVERALL, J.E., GORHAM, D.R. The brief psychiatric rating scale. Psycol. Rep. 10:799-812, 1962.

PINKHAM, A., LOUGHEAD, J., RUPAREL, K., WU, W.C., OVERTON, E., GUR, R., GUR R. Resting quantitative cerebral blood flow in schizophrenia measured by pulsed arterial spin labeling perfusion MRI. Psychiatry Res. 2011 Oct 31;194(1):64-72.

PINKHAM, A.E., LIU, P., LU, H., KRIEGSMAN, M., SIMPSON, C., TAMMINGA, C. Amygdala Hyperactivity at Rest in Paranoid Individuals With Schizophrenia. Am J Psychiatry. 2015 Aug 1;172(8):784-92.

POTKIN, S. G. et al. Effect of clozapine and adjunctive high-dose glycine in treatment-resistant schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 156, 145-7, 1999.

RAPADO-CASTRO, M., DODD, S., BUSH, A.I., MALHI, G.S., SKVARC, D.R., ON, Z.X., BERK, M., DEAN, O.M. Cognitive effects of adjunctive N-acetyl cysteine in psychosis. Psychological Medicine (2017), 47, 866–876.

SAMUNI, Y., GOLDSTEIN, S., OLIVIA M. DEAN, O.M., BERK, M. The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine. Biochimica et Biophysica Acta 1830 (2013) 4117–4129

SCHEEF, L., MANKA, C., DAAMEN, M., KÜHN, K.U., MAIER, W., SCHILD, H.H., JESSEN, F. Resting-state perfusion in non-medicated schizophrenic patients: a continuous arterial spin-labeling 3.0-T MR study. Radiology. 2010 Jul;256(1):253-60.

SHUNGU, D.C. N-acetylcysteine for the treatment of glutathione deficiency and oxidative stress in schizophrenia. Biol Psychiatry. 2012 Jun 1;71(11):937-8

SPITZER, R.L., WILLIAMS, J.R,. GIBBSON, M., FIRST, M.B. Structural Clinical Interview for DSM-III-R- no patient edition (SCID-NP). American Psychitric Press, Washington, D. C. 1990.

TIIHONEN, J.; HALLIKAINEN, T.; RYYNÄNEN, O.; REPO-TIIHONEN, E.; KOTILAINEN, I.; ERONEN, M.; TOIVONEN, P.; WAHLBECK, K.; PUTKONEN, A. Lamotrigine in Treatment-Resistant Schizophrenia: A Randomized Placebo-Controlled Crossover Trial. *BIOL PSYCHIATRY*, vol. 54, p. 1241-1248, 2003

VAN SCHOOTEN, F.J., BESARATINIA, A., DE FLORA, S., D'AGOSTINI, F., IZZOTTI, A., CAMOIRANO, A., ET AL. Effects of oral administration of n-acetyl-l-cysteine: a multi-biomarker study in smokers. CANCER EPIDEMIOL BIOMARKERS (2002):PREV 11:167–175.

VERREY, F. System L: heteromeric exchangers of large, neutral amino acids involved in directional transport. Pflugers Arch - Eur J Physiol, 445:529–533, 2003.

VESSONI, ALN. Adaptação e Estudo da Confiabilidade da Escala de Avaliação das Síndromes Positiva e Negativa para a Esquizofrenia no Brasil São Paulo, Tese de Mestrado, Escola Paulista de Medicina, 1993.

WANG, Z. et al. Empirical optimization of ASL data analysis using an ASL data processing toolbox: ASLtbx. Magnetic Resonance Imaging, v. 26, n. 2, p. 261–269, 2008.

WANG, Z. Improving cerebral blood flow quantification for arterial spin labeled perfusion MRI by removing residual motion artifacts and global signal fluctuations. Magnetic Resonance Imaging, v. 30, n. 10, p. 1409–1415, 2012.

WALTHER, S, FEDERSPIEL, A., HORN, H., RAZAVI, N., WIEST, R., DIERKS, T., STRIK, W., MÜLLER, T.J. Resting state cerebral blood flow and objective motor activity reveal basal ganglia dysfunction in schizophrenia. Psychiatry Research: Neuroimaging 192 (2011) 117–124

WALTHER, S., SCHÄPPI, L., FEDERSPIEL, A., BOHLHALTER, S., WIEST, R., STRIK, W., STEGMAYER, K. Resting-State Hyperperfusion of the Supplementary Motor Area in Catatonia. Schizophr Bull. 2017 Sep 1;43(5):972-981.

WATTS, J.M., WHITLOW, C.T., MALDJIANA, J.A. Clinical applications of arterial spin labeling. NMR Biomed. 2013; 26: 892–900

WOLKOWITZ, O.M., PICKAR, D. Benzodiazepines in the treatment of schizophrenia: a review and reappraisal. Am J Psychiatry; 148:714–26, 1991.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, Global Burden of Disease, pág. 37, 2004.

YOSHIKAWA, S. et al., Effects of TRK-820, a selective kappa opioid receptor agonist, on rat schizophrenia models. European Journal of Pharmacology 606, p 102–108, 2009.

YOSHIKAWA, T., NAITO, Y. What Is Oxidative Stress? JMAJ 45(7): 271–276, 2002

ZHU, J., ZHUO, C., QIN, W., XU, Y., XU, L., LIU, X., YU, C. Altered resting-state cerebral blood flow and its connectivity in schizophrenia. J Psychiatr Res. 2015 Apr;63:28-35.

ZOCCALI, R.; MUSCATELLO, M.R.; BRUNO A.; CAMBRIA, R.; MICÒ, U.; SPINA, E.; MEDURI, M. The effect of lamotrigine augmentation of clozapine in a sample of treatment-resistant schizophrenic patients: A double-blind, placebo-controlled study. *Schizophrenia Research*, vol. 93, p. 109-116, 2007.

ZUARDI, A.W., KARNIOL, I.G. Estudo transcultural de uma escala de auto-avaliação para estados subjetivos. *J Bras Psiq* 31: 403-406, 1981.

ZUARDI, A.W., LOUREIRO, S.R., RODRIGUES, C.R.C., CORREA, A.J., GLOCK, S.S.. Estudo da estrutura fatorial, fidedignidade e validade da tradução e adaptação para o português da Escala de Avaliação Psiquiátrica Breve (BPRS) modificada. ABP-APAL 16(2): 63-8, 1994

ANEXOS

ANEXO A - Escalas de Avaliação Clínica - Escala Breve de Avaliação Psiquiátrica - BPRS

BPRS

Item	Definições
01 - Preocupações somáticas *Este item compreende a hipocondria. Os graus 1 e 2 da escala referem-se à hipocondria não delirante e os graus 3 e 4 à hipocondria delirante.*	**0.** Atenção normal com a saúde física. **1.** Grau mínimo ou duvidoso de preocupação excessiva com a saúde física. **2.** O paciente expressa ideias de ter uma doença orgânica (p.ex., câncer ou doença cardíaca), mas sem interpretações delirantes. **3.** As queixas são bizarras (p.ex., de estar apodrecendo por dentro), mas pode-se conseguir que o paciente, por breves períodos, admita que este não é o seu caso. **4.** Está convencido, p.ex., de que seus órgãos estão podres ou desaparecendo, ou de que vermes estão devorando seu cérebro. Nem por breves períodos se pode fazê-lo admitir que este não é o seu caso.
02 - Ansiedade psíquica *Este item compreende tensão, irritabilidade, preocupação, insegurança, medo e apreensão, que se aproximam ao pavor subjugante. Frequentemente pode ser difícil distinguir entre a vivência de ansiedade do paciente (os fenômenos de ansiedade "psíquica" ou "central") e as manifestações fisiológicas de ansiedade (periférica) que podem ser observadas, como tremor das mãos e sudorese. Muito importante, neste item, é o relato do paciente de preocupação, insegurança, incerteza, vivências de pavor, ou seja, de ansiedade psíquica ("central")*	**0.** O paciente não se encontra nem mais nem menos inseguro ou irritável do que o habitual. **1.** É duvidoso se o paciente está mais inseguro ou irritável do que o habitual. **2.** O paciente expressa mais claramente estar em um estado de ansiedade, apreensão ou irritabilidade, que pode achar difícil de controlar. Isso ocorre sem influir no dia-a-dia do paciente, porque a preocupação ainda diz respeito a questões pouco importantes. **3.** A ansiedade ou insegurança é, às vezes, mais difícil de controlar porque a preocupação diz respeito a perdas ou danos importantes, que podem ocorrer no futuro. P.ex., a ansiedade pode ser vivenciada como pânico, ou seja, como pavor subjugante. Ocasionalmente esta ansiedade já interferiu no dia-a-dia do paciente. **4.** A sensação de pavor está tão frequentemente presente que interfere acentuadamente no dia-a-dia do paciente.
03 - Retraimento emocional *Este item compreende a vivência introspectiva de contato emocional com o paciente durante a entrevista. Ele se contrapõe ao item 16 (afeto embotado ou inapropriado), que compreende o grau de contato emocional com outras pessoas, avaliado retrospectivamente durante os três dias precedentes.*	**0.** Contato emocional normal. **1.** Alguma (ou duvidosa) distância emocional **2.** Reações emocionais reduzidas, como por exemplo, contato visual duvidoso. **3.** Reações emocionais mais limitadas, como por exemplo, contato visual ocasionalmente inadequado. **4.** Quando o contato emocional está fortemente reduzido ou quase ausente, como por exemplo, quando evita o contato visual.
04 - Desorganização conceitual (incoerência) Este item compreende os distúrbios do processo de pensamento, desde certa imprecisão na expressão verbal até produções verbais completamente desorganizadas.	**0.**Ausência de desorganização conceitual **1.** O pensamento é caracterizado por uma certa imprecisão, mas a fala não é gramaticalmente inusal. **2.** Distúrbio moderado do pensamento. As palavras podem estar ligadas através de uma forma gramaticalmente inusal e particular ("pars pro toto") e a informação que comunica parece "vazia". **3.** Acentuada desorganização conceitual. Ocasionalmente torna-se difícil entender o paciente, podendo surgir neologismos ou bloqueio **4.** Desorganização conceitual extremamente grave. Apenas fragmentos da fala são compreensíveis.
05 - Auto-depreciação e sentimentos de culpa *Este item compreende a diminuição da autoestima, com sentimentos de culpa.*	**0.** Ausência de auto-depreciação e sentimentos de culpa. **1.** É duvidoso se sentimentos de culpa estão presentes, pois o paciente está apenas preocupado com o fato de que ele, durante a doença atual, seja um peso para a família ou colegas, devido à sua reduzida capacidade de trabalho. **2.** Auto-depreciação ou sentimentos de culpa estão mais claramente presentes, pois o paciente está preocupado com incidentes do passado, anteriores ao episódio atual. Por exemplo, o paciente acusa-se de pequenas omissões ou falhas, de não ter cumprido com o seu dever ou de haver prejudicado outras pessoas. **3.** O paciente experimenta sentimentos de culpa mais graves. Ele pode afirmar que sente que o seu sofrimento atual é algum tipo de punição. Assinale 3 desde que o paciente possa perceber intelectualmente que sua opinião é infundada. **4.** Os sentimentos de culpa são firmemente mantidos e resistem a qualquer argumentação, de modo que se converteram em idéiasparanóides.

06 – Ansiedade *Este item compreende os concomitantes fisiológicos da ansiedade, que se manifestaram durante a entrevista. Todos os estados subjetivos de ansiedade devem ser assinalados no item 2, e não aqui.*	**0.** Quando o paciente não está nem mais nem menos propenso que o habitual a experimentar concomitantes somáticos de estados de ansiedade. **1.** Quando o paciente ocasionalmente apresenta leves manifestações, como sintomas abdominais, sudorese ou tremores. Entretanto, a descrição desses sintomas é vaga e questionável. **2.** Quando o paciente ocasionalmente apresenta sintomas abdominais, sudorese, tremores, etc. Os sinais e sintomas são claramente descritos, porém não são acentuados e nem incapacitantes. **3.** Os concomitantes emocionais dos estados subjetivos de ansiedade são acentuados e, às vezes, muito preocupantes. **4.** Os concomitantes fisiológicos dos estados subjetivos de ansiedade são numerosos, persistentes e freqüentemente incapacitantes.
07 - Distúrbios motores específicos *Este item compreende os graus variáveis de comportamento motor bizarro, que vai desde certa excentricidade na postura até a agitação catatônica severa.*	**0.** Ausente. **1.** Leve ou de presença duvidosa durante a entrevista. **2.** Moderada. Presente durante a maior parte da entrevista. **3.** Severa. Anormalidades motoras contínuas. Podem ser interrompidas. **4.** Extremamente severa. Anormalidades motoras persistentes e incontroláveis. Entrevista difícil.
08 - Auto-estima exagerada *Este item compreende graus variáveis de exagero da autoestima, variando desde uma acentuada auto-confiança ou presunção, até os delírios de grandeza grotescos.*	**0.** Auto-estima normal. **1.** Auto-estima aumentada levemente ou de maneira duvidosa, como por exemplo: ocasionalmente superestima suas próprias capacidades habituais. **2.** Auto-estima moderadamente aumentada. Por exemplo, superestima mais constantemente suas próprias capacidades habituais ou insinua possuir capacidades incomuns. **3.** Idéias acentuadamente irreais, como por exemplo, de que tem habilidades, poderes ou conhecimentos (científicos, religiosos, etc.) extraordinários, mas pode, por breves períodos ser corrigido. **4.** Idéias de grandeza que não podem ser corrigidas.
09 – Humor Deprimido *Este item compreende tanto a comunicação verbal como a não verbal de tristeza, depressão, desânimo, desamparo e desesperança.*	**0.** Humor neutro. **1.** O paciente indica vagamente que está mais desanimado e deprimido que o habitual. **2.** Quando o paciente está mais claramente preocupado com vivências desagradáveis, embora ainda não esteja se sentindo desamparado ou desesperançado. **3.** O paciente exibe sinais não verbais claros de depressão e/ou às vezes sente-se dominado pelo desamparo ou desesperança. **4.** As observações do paciente sobre desânimo e desamparo, ou as suas manifestações não verbais, dominam a entrevista, não sendo possível afastá-lo desta temática.
10 – Hostilidade *Este item compreende o relato verbal do paciente de sentimentos ou ações hostis em relação a outras pessoas fora da entrevista. Trata-se de um julgamento retrospectivo dos três dias precedentes. Diferenciar do item 14 (Falta de cooperação), que corresponde ao contato formal durante a entrevista.*	**0.** Ausência de sinais de impaciência, irritabilidade, crítica ou hostilidade. **1.** Esteve um pouco impaciente ou irritável, mas o controle foi mantido. **2.** Esteve moderadamente impaciente ou irritável, mas tolerou as provocações. **3.** Esteve verbalmente hostil, faz ameaças e quase chegou a ser fisicamente destrutivo, mas ainda pôde ser acalmado. **4.** Extremamente hostil, com violência física manifesta. Fisicamente destrutivo.
11 – Desconfiança *Este item compreende a desconfiança, a suspeita ou as interpretações distorcidas, variando desde uma acentuada falta de confiança nos outros até os delírios de perseguição floridos.*	**0.** Ausente. **1.** Vagas ideias de referência. Tende a suspeitar que as outras pessoas estão falando ou rindo de si. Sente que "alguma coisa está ocorrendo". Responde ao reasseguramento; portanto, fica duvidoso se existem ideias de referência ou delírios. **2.** Idéias de referência com delírios vagos, não sistematizados, de perseguição. "Alguém pode ter más intenções". Isto é insinuado pela televisão ou pelos jornais. Ainda se trata de uma vivência do tipo "como se". **3.** Delírios com alguma sistematização. Reasseguramento difícil. **4.** Delírios paranóides sistematizados, floridos, de perseguição. Correção impossível.

12 – Alucinações *Este item compreende as percepções sensoriais sem os estímulos externos correspondentes. As vivências alucinatórias devem ter ocorrido nos três últimos dias e, com exceção das alucinações hipnagógicas, não devem ter ocorrido durante os estados de turvação da consciência (delirium).*	**0.** Ausente. **1.** Em grau leve ou de presença duvidosa. Vivências alucinatórias hipnagógicas ou vivências alucinatórias elementares isoladas (ouvir sons, ver luzes). **2.** Alucinações ocasionais, mas plenamente desenvolvidas (ouvir vozes, ver formas), que não afetam o comportamento. **3.** Alucinações ocasionais que influenciam o comportamento. **4.** Mais ou menos constantemente absorto em vivências alucinatórias.
13 - Retardo psicomotor *Este item compreende a redução do nível de atividade psicomotora, que inclui a velocidade de associações e a capacidade para verbalizar os pensamentos. Os sintomas do retardo motor dizem respeito à postura, aos gestos e à expressão facial.*	**0.** Atividade verbal normal, atividade motora normal, com expressão facial adequada. **1.** Velocidade de conversação duvidosa ou levemente reduzida e expressão facial duvidosa ou levemente diminuída. **2.** Velocidade de conversação claramente reduzida, com pausas; gestos reduzidos e movimentação lenta. **3.** A entrevista é claramente prolongada devido às longas latências e respostas curtas; todos os movimentos estão muito lentos. **4.** A entrevista não pode ser completada; o retardo se aproxima de (e inclui) estupor.
14 - Falta de cooperação *Este item compreende a atitude e as respostas do paciente ao entrevistador e à situação da entrevista. Difere do item 10 (hostilidade) por que este compreende a falta de cooperação com outras pessoas durante os 3 dias precedentes.*	**0.** Atitude cooperativa natural. **1.** Excessivamente formal e reservado na situação de entrevista. Responde um pouco resumidamente. **2.** Resistência moderada. Responde evasivamente ou opõe-se a determinadas perguntas. Atitude acentuadamente hostil para com o entrevistador. **3.** Resistência pronunciada. Responde inapropriadamente ou recusa-se a responder. Atitude abertamente hostil. Entrevista complete não é possível. **4.** Entrevista impossível. O paciente recusa-se a permanecer na situação de entrevista.
15. Conteúdo Incomum do Pensamento *Este item diz respeito ao conteúdo da verbalização e não à organização da linguagem, que é assinalada no item 4 (desorganização conceitual). O item refere-se às qualidades incomuns até os vários níveis de ideias delirantes. Observe que os "delírios de grandeza" são assinalados no item 8 (autoestima exagerada), que os "delírios de culpa" são assinalados no item 5 (sentimentos de culpa) e que os "delírios de perseguição" são assinalados no item 11 (desconfiança). Os delírios que apresentam interesse especial aqui são os delírios de controle, influência ou despersonalização, ciúme mórbido, delírios sexuais, delírios religiosos ou expansivos. Assinale apenas o grau de raridade do conteúdo expresso do pensamento, a importância que apresenta para o paciente ou a influência que exerce sobre o seu comportamento.*	**0.** Ausente **1.** Grau leve ou presença duvidosa (p.ex. ideias supervalorizadas). **2.** Grau moderado (p.ex., ideias com alguma qualidade delirante, mas ainda se constituindo em uma vivência do tipo "como se"). **3.** Os delírios delimitam a maior parte do conteúdo do pensamento e ocasionalmente influenciam o comportamento. **4.** Delírios subjugantes delimitam o conteúdo do pensamento e o comportamento.
16 - Afeto embotado ou inapropriado *Este item compreende a diminuição da capacidade ou da motivação para sentir ou expressar as emoções normais, como a tristeza, alegria e raiva. As emoções, manifestadas verbalmente e não verbalmente, são perceptivelmente inapropriadas à situação ou ao conteúdo do pensamento. Este item compreende, assim, o retraimento emocional relativo às outras pessoas, durante os três dias precedentes. Discriminar do item 3 (retraimento emocional), que diz respeito à vivência introspectiva do contato emocional durante a entrevista.*	**0.** Reações e envolvimento emocionais inapropriados. **1.** Reações emocionais escassas ou questionavelmente inapropriadas. Por exemplo, menor desejo ou capacidade de estar em companhia de pessoas que conhece há mais ou menos tempo. **2.** Afeto perceptivelmente embotado. Não apresenta necessidade ou capacidade de estabelecer contato mais íntimo com pessoas não pertencentes ao seu círculo familiar (companheiros de trabalho, outros pacientes, equipe terapêutica). **3.** Emocionalmente indiferente e apático, mesmo em relação aos amigos íntimos e à família. **4.** Emocionalmente ausente, ou então os afetos manifestados são grosseiramente inapropriados, sem qualquer motivação para o contato humano.

17 - Agitação psicomotora *Este item compreende o aumento no nível da atividade psicomotora.*	**0.** Atividade motora normal. Expressão facial adequada e atividade verbal normal. **1.** Atividade motora duvidosa ou levemente aumentada; por exemplo, expressão facial vívida ou certa loquacidade. **2.** Atividade motora moderadamente aumentada; por exemplo, gestos vívidos ou grande loquacidade ou fala em voz alta e rapidamente. **3.** Atividade motora claramente excessiva, movimentando-se durante a maior parte do tempo. Levanta-se uma ou várias vezes durante a entrevista. Fuga de ideias. Dificuldade para compreendê-lo. **4.** Constante e incansavelmente ativo. Fala desintegrada. Comunicação significativa impossível.
18 - Desorientação e confusão *Este item compreende os graus de turvação da consciência, com redução ou perda de orientação no tempo e/ou quanto a dados pessoais.*	**0.** O paciente está completamente orientado no tempo, no espaço, e quanto aos dados pessoais. **1.** O paciente ocasionalmente tem algumas dificuldades, mas pode corrigir espontaneamente sua afirmação sobre a orientação no tempo, e/ou no espaço, e/ou quanto aos dados pessoais. **2.** O paciente apresenta falhas que não são corrigidas espontaneamente. Por exemplo, não sabe o dia da semana ou do mês, embora saiba o mês e o ano corretamente, e/ou tem dificuldades espaciais, embora esteja orientado na enfermaria (ou em sua casa), e/ou tem dificuldades para recordar nomes, embora ainda saiba seu próprio nome. **3.** O paciente está acentuadamente desorientado. Por exemplo, não sabe o mês e o ano corretamente, embora ainda se localize quanto a períodos significativos do ano (carnaval, festas juninas, natal)*, e/ou tem dificuldades para localizar o banheiro ou a sua cama sem auxílio, e/ou lembra seu próprio nome apenas através de alguma ajuda. **4.** Está completamente desorientado no tempo e/ou no espaço, e/ou quanto aos dados pessoais. * Adaptação à realidade brasileira. No original, “estações do ano”.

ANEXO B - Escala das Síndromes Positiva e Negativa – Escala Negativa – PANSS-N:

Escala Negativa

N1- Afetividade embotada	1	2	3	4	5	6	7
N2 – Retraimento emocional	1	2	3	4	5	6	7
N3- Contato pobre	1	2	3	4	5	6	7
N4- Retraimento social passivo/apático	1	2	3	4	5	6	7
N5- Dificuldade pensamento abstrato	1	2	3	4	5	6	7
N6- Falta de espontaneidade e fluência	1	2	3	4	5	6	7
N7- Pensamento estereotipado	1	2	3	4	5	6	7
Escore da Escala Positiva: _____	1	2	3	4	5	6	7
Número de sintomas avaliados> 3 _____	1	2	3	4	5	6	7

ANEXO C- APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA USP -

Continuação do Parecer: 791.364

clozapina e placebo e o Grupo 2 com pacientes esquizofrênicos refratários medicados com clozapina, utilizando n-acetilcisteína na dose 2000 mg/dia durante 8 semanas. O n-acetilcisteína ou placebo (pílula de farinha) será administrado durante oito semanas (56 dias), o participante deverá tomar 4 cápsulas por dia, cada uma com 500mg de n-acetilcisteína, ou contendo o placebo.

-DROGAS: 1)NAC – No Brasil, a NAC é comercializada na dose 600mg (pó granulado e comprimido efervescente), 100 e 200mg em pó granulado em forma de xarope (20 e 40mg/ml). É bem absorvido por via oral, com pico plasmático entre 2-3h. Normalmente, o seu uso via oral é bem tolerado, alguns pacientes apresentam ocasionalmente hipersensibilidade a NAC, apresentando epigastralgia, náuseas, vômitos e diarreia. Não é recomendada sua utilização em pacientes com úlcera gastroduodenal. Em estudos anteriores (BERKet al. 2008, DEMEDTS et al., 2005, VAN SCHOOTENet al. 2002, BERH et al., 2002 e ADAIR et al.,2001), foi utilizada a dose de 2000mg ou próxima de NAC, com boa tolerabilidade e eficácia. Levando isso em consideração, opta-se por essa dose que é a dose terapêutica máxima escolhida nesses diversos estudos. 2)PLACEBO: o placebo será fornecido em cápsulas idênticas às da NAC, contendo amido de milho.

-MARCAÇÃO DE SPIN ARTERIAL POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA (ASL): A RNM com ASL será realizada em duas ocasiões, sendo a primeira antes da introdução de NAC ou placebo e a segunda oito semanas após o início de NAC ou do placebo. Os exames serão realizados no período da manhã (entre 8:00 e 12:00), minimizando os efeitos do ciclo circadiano. Os voluntários serão instruídos a não fazer uso de bebida alcoólica nas 48 horas que antecedem a visita ao laboratório e, do mesmo modo, cafeína nas 4 horas anteriores. A RNM não utiliza contraste iodado ou marcador radioativo e suas contraindicações são semelhantes às da RNM convencional, como o uso de marca-passos. Todo paciente será submetido ao questionário padrão do hospital antes da realização do exame. Apesar de a neuroimagem ter contribuído para o maior entendimento dos efeitos centrais de medicações utilizadas para o tratamento da esquizofrenia, até o momento existem poucos estudos que procuram avaliar os mecanismos centrais relacionados às propriedades antipsicóticas da NAC, e nenhum deles utilizando RNM com ASL.

-INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO: Escala Breve de Avaliação Psiquiátrica; Escala de Avaliação das Síndromes Positiva e Negativa para Esquizofrenia – Escala Negativa e Entrevista Clínica Estruturada para o DSM – IV. A aplicação das escalas será realizada antes do início do tratamento e após quatro semanas e oito semanas.

JUSTIFICATIVA DO ESTUDO, segundo o pesquisador: "frente às evidências da provável eficácia da NAC, ao menos como adjuvante na redução de sintomas negativos, e do crescente interesse

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
UF: SP Município: RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA USP -

Continuação do Parecer: 791.364

-Benefícios: Este será o primeiro estudo avaliando os efeitos da NAC na perfusão sanguínea cerebral através da técnica de ASL em pacientes com esquizofrenia. Assim, os resultados deste projeto poderão aumentar o nosso entendimento dos potenciais efeitos terapêuticos da NAC e fornecer dados para novas aplicações médicas da droga. Igualmente, os achados poderão auxiliar a esclarecer o papel de sistemas não dopaminérgicos na esquizofrenia, contribuindo para um maior entendimento da sua neurobiologia.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de estudo de intervenção com distribuição aleatória, tendo um desenho duplo-cego e controlado por placebo.

-SUJEITOS/RECRUTAMENTO: os voluntários portadores de esquizofrenia refratária serão convidados a participar do estudo e serão incluídos após a leitura e assinatura do TCLE pelo voluntário e seu responsável quando isso se aplicar. Os pacientes esquizofrênicos serão triados entre os pacientes já atendidos no serviço da psiquiatria do HCFMRP-USP. O estudo será conduzido no Laboratório de Psicofarmacologia, localizado no terceiro andar do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Participarão do estudo 20 pacientes portadores de esquizofrenia diagnosticados pelos critérios do Manual Diagnóstico e Estatístico da Associação Psiquiátrica Americana – 5a edição (Diagnostic and Statistical Manual – DSM-V) e classificados como refratários ao tratamento medicamentoso de acordo com os seguintes critérios (HASAN et al., 2012): não se alcançou melhora significativa da psicopatologia e da impressão clínica global apesar do tratamento com pelo menos dois antipsicóticos diferentes de pelo menos duas classes diferentes, sendo pelo menos um deles um antipsicótico atípico, em doses terapêuticas recomendadas por um período de 4 a 8 semanas por droga. Os pacientes serão selecionados dentre os pacientes em seguimento no Serviço de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP-USP) de acordo com os seguintes critérios de inclusão: sexo masculino, idade mínima de 18 anos, escolaridade mínima de 8 anos, não ter feito uso de qualquer medicação psicotrópica que não antipsicóticos no período de 3 meses anteriores ao estudo, não possuir histórico de trauma crânioencefálico ou doença clínica, diagnóstico pelo DSM-V de esquizofrenia, estar em uso estável de antipsicóticos, sem qualquer mudança nas medicações psicotrópicas nas últimas 6 semanas e não possuir diagnóstico comórbido de abuso de substância (exceto nicotina e cafeína) ou dependência dentro dos últimos três meses de acordo com os critérios do DSM-V. Os pacientes que preencherem os critérios descritos e fornecerem consentimento formal para a participação no estudo serão divididos de forma aleatória em dois grupos (n = 10 cada), sendo o Grupo 1 com pacientes esquizofrênicos refratários utilizando

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
UF: SP Município: RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA USP -

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito da adição de n-acetilcisteína ao tratamento com clozapina na perfusão cerebral de pacientes com esquizofrenia refratária

Pesquisador: Roberto Mascarenhas Souza
Área Temática:
Versão: 2
CAAE: 30901814.4.0000.5440
Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 791.364
Data da Relatoria: 01/09/2014

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto de pesquisa de Roberto Mascarenhas Souza (aluno de mestrado da FMRP-USP) sob orientação do Prof. Dr. João Paulo Machado de Sousa e co-orientação do Prof. Dr. Jaime E. C. Hallak.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: investigar os efeitos da NAC em pacientes portadores de esquizofrenia refratária tratados com clozapina em um estudo com distribuição aleatória, desenho duplo-cego e controlado por placebo.
Objetivo Secundário: avaliar os efeitos do tratamento com NAC sobre os sintomas positivos e negativos da esquizofrenia e a perfusão cerebral durante o estado de repouso em pacientes portadores de esquizofrenia refratária usando RNM para avaliação da perfusão com ASL.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

-Riscos: Estudo de baixo risco, pois: não será retirado o tratamento principal; a n-acetilcisteína por via oral possui uma segurança comprovada, com os efeitos colaterais mais comuns sendo intolerância gastro-intestinal (dispepsia mais comumente, seguida de náusea, vômitos e diarreia), sem efeitos colaterais graves. A ressonância não necessita de contraste ou punção venosa, o que torna o processo mais ágil e com menos potencial de danos.

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
UF: SP Município: RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br

terapêutico no uso da mesma em diferentes transtornos, justifica-se um estudo de neuroimagem com esta substância. Este estudo poderá clarificar como a NAC age no cérebro, aumentar o nosso entendimento dos seus potenciais efeitos terapêuticos e fornecer base científica para o desenvolvimento de novas maneiras de tratar os problemas resultantes da esquizofrenia e de novas aplicações médicas da droga". Este será o primeiro

estudo avaliando os efeitos da NAC na perfusão sangüínea cerebral através da técnica de ASL em pacientes com esquizofrenia. Assim, os resultados deste projeto poderão aumentar o nosso entendimento dos potenciais efeitos terapêuticos da NAC e fornecer dados para novas aplicações médicas da droga. Igualmente, os achados poderão auxiliar a esclarecer o papel de sistemas não dopaminérgicos na esquizofrenia, contribuindo para um maior entendimento da sua neurobiologia.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados: Projeto de pesquisa versão 2 de 11 de julho de 2014 e TCLE versão 2 de 11 de julho de 2014.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto e à luz da Resolução CNS 466/2012, o projeto de pesquisa versão 2 de 11 de julho de 2014, assim como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido versão 2 de 11 de julho de 2014, podem ser enquadrados na categoria APROVADO.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto Aprovado: Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP, relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP em nova versão, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA USP -

Continuação do Parecer: 791.364

RIBEIRAO PRETO, 15 de Setembro de 2014

Assinado por:
MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
(Coordenador)

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br