

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas

**Ganho de peso durante o tratamento com antipsicóticos:
correlação com níveis séricos de leptina e de neuropeptídeo Y**

NÁDIA REZENDE BARBOSA

Tese para obtenção do grau de

DOUTOR

Orientador.

Prof. Tit. Wagner Farid Gattaz

São Paulo

2003

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas

**Ganho de peso durante o tratamento com antipsicóticos:
correlação com níveis séricos de leptina e de neuropeptídeo Y**

NÁDIA REZENDE BARBOSA

Tese para obtenção do grau de

DOUTOR

Orientador:

Prof. Tit. Wagner Farid Gattaz

São Paulo

2003

DEDALUS - Acervo - CQ



30100005403

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

B238g

Barbosa, Nádia Rezende

Ganho de peso durante o tratamento com antipsicóticos:
correlação com níveis séricos de leptina e de neuropeptídeo Y /
Nádia Rezende Barbosa. -- São Paulo, 2003.
130p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises
Clínicas e Toxicológicas.

Orientador: Gattaz, Wagner Farid

1. Toxicologia clínica 2. Esquizofrenia I. T. II.
Gattaz, Wagner Farid, orientador

615.9 CDD

NÁDIA REZENDE BARBOSA

**Ganho de peso durante o tratamento com antipsicóticos:
correlação com níveis séricos de leptina e de neuropeptídeo Y**

Comissão Julgadora

Tese para obtenção do grau de DOUTOR

**Prof. Tit. Wagner Farid Gattaz
Orientador / Presidente**

1º. Examinador

2º. Examinador

3º. Examinador

4º. Examinador

São Paulo, de de 2003.

A Deus,

Pelo privilégio da vida.

Aos meus pais,

Por terem me indicado os caminhos.

Ao Francisco,

Pelo exemplo de perseverança

e amor ao trabalho.

Em especial

Ao Prof. Wagner F. Gattaz

Pela orientação, confiança e
valiosos ensinamentos.

Agradecimientos

AGRADECIMENTOS

Aos coordenadores do programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas, pela oportunidade;

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Toxicologia, pelos ensinamentos recebidos;

À Universidade Federal de Juiz de Fora, pela liberação parcial;

À FAPESP, pelo apoio financeiro na execução deste estudo;

Aos colaboradores, Anna Maria Nicollai, Jair Mari e Maurício Lima, pela inestimável colaboração;

Aos pacientes que possibilitaram esta investigação, o meu agradecimento;

À minha amiga Leda Leme Talib, que tanto ajudou na realização deste trabalho de pesquisa;

Aos funcionários do Laboratório de Neurociências – LIM 27, não somente pelo auxílio técnico prestado como também pela amizade e apoio;

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho de pesquisa;

Os meus sinceros agradecimentos.

Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	xiii
LISTA DE TABELAS.....	xiv
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	2
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	9
2.1. Esquizofrenia.....	9
2.1.1. Definição, diagnóstico e classificação.....	9
2.1.2. Terapia medicamentosa – olanzapina.....	12
2.2. Monitorização terapêutica.....	16
2.3. Obesidade.....	20
2.3.1. Conceitos básicos.....	20
2.3.2. Aspectos epidemiológicos.....	24
2.3.2.1. Prevalência.....	24
2.3.2.2. Incidência.....	26
2.3.3. Aspectos Genéticos e Moleculares.....	26
2.3.4. Leptina e Neuropeptídeo Y.....	31
2.3.5. Repercussões da obesidade.....	41
3. OBJETIVOS E PLANO DE TRABALHO.....	49
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	52
4.1. Casuística.....	52
4.2. Material.....	54
4.2.1. Padrões.....	54
4.2.2. Solventes e reagentes.....	55
4.2.3. Soluções.....	55
4.2.4. Calibradores.....	57
4.2.5. Controles.....	57
4.2.6. Equipamentos e acessórios.....	58
4.2.7. Amostras.....	59

4.3. Métodos.....	60
4.3.1. Determinação do fármaco em soro por cromatografia líquida de alta eficiência.....	60
4.3.1.1. Otimização das condições cromatográficas.....	60
4.3.1.2. Padronização do procedimento analítico de extração líquido-líquido da olanzapina em soro.....	60
4.3.2. Validação do método analítico.....	61
4.3.2.1. Curva de calibração.....	61
4.3.2.2. Limites de detecção e de quantificação.....	62
4.3.2.3. Linearidade.....	64
4.3.2.4. Recuperação.....	64
4.3.2.5. Precisão do método.....	65
4.3.2.6. Exatidão.....	65
4.3.2.7. Especificidade.....	66
4.3.2.8. Estabilidade da olanzapina na amostra biológica.....	67
4.3.3. Determinação das concentrações séricas de olanzapina em pacientes com esquizofrenia.....	68
4.3.4. Avaliação laboratorial.....	68
4.3.5. Avaliação clínica.....	69
5. RESULTADOS.....	71
5.1. Determinação das concentrações séricas de olanzapina por cromatografia líquida de alta eficiência.....	71
5.1.1. Otimização das condições cromatográficas.....	71
5.1.2. Padronização do procedimento analítico de extração líquido-líquido da olanzapina em soro.....	72
5.2. Validação do método analítico.....	73
5.2.1. Curva de calibração.....	73
5.2.2. Limites de detecção e de quantificação.....	73
5.2.3. Linearidade.....	73
5.2.4. Recuperação.....	74
5.2.5. Precisão.....	74
5.2.6. Exatidão.....	77

5.2.7. Estudo de Interferentes.....	77
5.2.8. Estabilidade.....	78
5.3. Determinação das concentrações séricas de olanzapina e de haloperidol em pacientes com esquizofrenia.....	79
5.4. Avaliação laboratorial.....	80
5.4.1. Níveis séricos de leptina e de neuropeptídeo Y.....	80
5.4.2. Perfil lipídico.....	85
5.5. Avaliação Clínica.....	88
6. DISCUSSÃO.....	91
7. CONCLUSÕES.....	112
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	114
ANEXOS.....	133

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Representação gráfica do IMC e a taxa de mortalidade.....	24
FIGURA 2 – Provável via de sinalização da leptina e do NPY na regulação do peso corporal.....	39
FIGURA 3 – Procedimento analítico de extração líquido-líquido da olanzapina em soro.....	63
FIGURA 4 – Cromatograma (HPLC) referente a amostra de soro enriquecido com olanzapina (a) e padrão interno (b).....	72
FIGURA 5 – Representação gráfica da curva de calibração.....	75
FIGURA 6 – Representação gráfica da linearidade da resposta do detector a diferentes concentrações de olanzapina.....	75
FIGURA 7 – Aumento dos níveis séricos de neuropeptídeo Y durante o tratamento com olanzapina (OLA) e haloperidol (HA).....	82
FIGURA 8 – Ganho de peso induzido por olanzapina (OLA) e haloperidol (HÁ) durante as visitas clínicas.....	83
FIGURA 9 – Aumento do índice de massa corpórea (IMC) ao longo do tratamento com olanzapina (OLA) e haloperidol (HA)	83
FIGURA 10 – Análise de correlação entre a variação de peso e de leptina induzida pela OLA.....	84
FIGURA 11 – Análise de correlação entre a variação de peso e de leptina induzida pelo HA.....	84
FIGURA 12 – Variação nos níveis séricos de triglicérides em pacientes esquizofrênicos, no decorrer da terapia com olanzapina (OLA) e haloperidol (HA)	86
FIGURA 13 – Variação nos níveis séricos de colesterol total em pacientes esquizofrênicos, no decorrer da terapia com olanzapina (OLA) e haloperidol (HA)	86

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Principais subtipos da esquizofrenia e sintomas predominantes.....	12
TABELA 2. Métodos para o mensuração da obesidade.....	21
TABELA 3. Classificação da OMS para o sobrepeso.....	23
TABELA 4. Prevalência de obesidade ($IMC \geq 30 \text{kg/m}^2$) nas Américas.....	25
TABELA 5. Moléculas sinalizadoras candidatas envolvidas com a homeostase energética no sistema nervoso central.....	30
TABELA 6. Protocolo de coleta de sangue dos participantes do estudo e análises a serem realizadas em cada etapa.....	53
TABELA 7. Fármacos testados como possíveis interferentes e suas concentrações.....	66
TABELA 8. Recuperação da olanzapina e do padrão interno nas amostras de soros controles.....	76
TABELA 9. Coeficientes de variação das concentrações de olanzapina obtidos intra e interensaio.....	76
TABELA 10. Comparação dos resultados das concentrações de olanzapina obtidos pelo método proposto com a concentração média encontrada.....	77
TABELA 11. Tempos de retenção da olanzapina, padrão interno e alguns fármacos testados como interferentes.....	78
TABELA 12. Valores de peso, índice de massa corpórea, leptina e neuropeptídeo Y nos pacientes antes e durante o tratamento com olanzapina e haloperidol.....	81
TABELA 13. Perfil lipídico dos pacientes antes e durante o tratamento com olanzapina e haloperidol.....	87
TABELA 14. Pontuação na escala PANNS antes e depois (9 meses) do tratamento com olanzapina e haloperidol.....	89

RESUMO

Ganho de peso corporal é uma dos efeitos indesejáveis associados aos antipsicóticos, de importância para a saúde global dos pacientes, bem como para sua adesão ao tratamento. Sendo assim, investigaram-se a relação entre o ganho de peso durante o tratamento com olanzapina e haloperidol e o impacto nos níveis séricos de leptina e de neuropeptídeo Y em portadores de esquizofrenia. Participaram do estudo 34 pacientes do sexo masculino, 18 em uso de olanzapina (5-20 mg/dia) e 16 de haloperidol (5-20 mg/dia), ambos em regime de monoterapia. Os resultados indicaram que: (a) tanto a olanzapina como o haloperidol induziram graus de incremento do peso clinicamente significantes e que (b) o grau de aquisição do peso correlacionou-se positivamente com o incremento da leptina e do neuropeptídeo Y. Estes resultados sugerem que os antipsicóticos interferem na via de sinalização da leptina e do neuropeptídeo Y, prejudicando os efeitos dos mesmos no controle do comportamento alimentar.

ABSTRACT

Body weight gain is a frequent side effect of most antipsychotic drugs, which impairs health and interferes with treatment compliance. We investigated weight gain during antipsychotic treatment with olanzapine and haloperidol and the relationship between leptin and neuropeptide Y serum levels in schizophrenic patients. Thirty-four male schizophrenic patients were evaluated, 18 who received orally olanzapine (5-20 mg/day) and 16 haloperidol (5-20 mg/day), both in monotherapy. The results indicated that: (a) olanzapine and haloperidol were both associated with significant increases in body weight and (b) there was a positive correlation between increments in weight and in both leptin and neuropeptide Y serum levels. These results suggest that antipsychotic drugs disrupt the leptin and the neuropeptide Y pathways and consequently impair the effects of these mediators upon the control of feeding behavior.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A esquizofrenia é um transtorno psíquico, caracterizado, basicamente, pela cisão do pensamento, do afeto, da vontade e do sentimento subjetivo da personalidade que afeta aproximadamente 1% da população mundial. Embora se utilize o termo esquizofrenia no singular, é muito provável que se trate de um conjunto de doenças que não é, ainda, possível distinguir detalhadamente, principalmente porque sua causa (ou causas) não é conhecida. No entanto, fatores hereditários e ambientais parecem contribuir para seu aparecimento (WHO, 1992; APA, 1994).

Este transtorno geralmente aparece inicialmente na adolescência ou no período adulto jovem e prossegue durante a vida do indivíduo, interferindo com todos os aspectos da vida, principalmente, profissional e familiar. Além do comprometimento desfavorável demonstrado pelo paciente e sua família, a esquizofrenia estabelece um enorme impacto de custos sobre a sociedade, seja no atendimento do indivíduo bem como na perda de produtividade (Rupp e Keith, 1999).

Os sintomas desse transtorno universal são classificados em positivos e negativos. Os sintomas positivos mais característicos são o delírio e as alucinações e os negativos caracterizam-se, principalmente, por uma diminuição da ressonância afetiva e por um empobrecimento do conteúdo do pensamento. Os sintomas negativos, tais como a apatia e o afastamento social, são menos dramáticos do que os sintomas positivos,

porém podem ser extremamente incapacitantes. Os indivíduos portadores de esquizofrenia encontram-se freqüentemente afetados por comprometimentos neuropsicológicos da atenção, da concentração e da memória operacional (APA, 1994).

A primeira geração de fármacos com atividade antipsicótica, tais como a clorpromazina e o haloperidol, proporcionam alívio significativo para muitos pacientes esquizofrênicos, melhorando freqüentemente suas alucinações e delírios. No entanto, uma minoria apreciável de pacientes portadores de esquizofrenia não são suficientemente beneficiados pelos antipsicóticos tradicionais, sendo portadores assim da denominada “esquizofrenia refratária ao tratamento”. Foi também demonstrado que os sintomas negativos são relativamente refratários ao tratamento, mesmo entre os pacientes nos quais ocorreu uma redução dos sintomas positivos; poucos demonstraram capacidade para retorno ao seu nível anterior de capacitação (Hu *et al.*, 1999).

Os antipsicóticos tradicionais apresentam diversos efeitos colaterais e talvez os mais desconfortantes sejam os sintomas extrapiramidais, os transtornos relacionados ao movimento, incluindo o parkinsonismo, embotamento, rigidez, acatisia, além de reações distônicas agudas e o ganho de peso. A discinesia tardia é especificamente incapacitante devido ao fato de ela permanecer mesmo após a suspensão da medicação (Casey, 1996). Do ponto de vista histórico, os efeitos colaterais extrapiramidais dos antipsicóticos superam quaisquer outros. Com o advento dos antipsicóticos de nova geração, os efeitos extrapiramidais estão deixando de ser um

problema, mas tornou-se imperativo reavaliarmos o aumento do peso induzido por estes fármacos (Aquila e Emanuel, 1999; Blin, 1999; Hu *et al.*, 1999).

O ganho de peso aparentemente varia de acordo com os fármacos e pode ser decorrente dos diferentes graus de ação dos mesmos sobre o sistema serotoninérgico (Schotte *et al.*, 1993), o dopaminérgico (Brief, 1985), o colinérgico (Schotte *et al.*, 1993), o histaminérgico (Salomon, 1992), assim como outros sistemas neurotransmissores.

A olanzapina é um novo e atípico agente antipsicótico que foi, em 1996, aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para uso no tratamento da esquizofrenia e vem sendo utilizado com relativo êxito em outras desordens psicóticas relacionadas (Tollefson *et al.*, 1997).

Apesar de o seu mecanismo de ação não estar totalmente esclarecido, a olanzapina exerce ação antagonista em todos os receptores dopaminérgicos, em grande parte dos serotoninérgicos, adrenérgicos, colinérgicos (muscarínicos) e histamínicos. Seu bloqueio serotoninérgico é cerca de oito vezes mais intenso que o bloqueio dopaminérgico, o que lhe confere uma boa razão de bloqueio 5Ht₂/D₂, importante como um dos parâmetros do perfil "atípico" de um antipsicótico (Meltzer *et al.*, 1989).

No Brasil, a olanzapina já é usada com alguma freqüência e de maneira crescente (Frota *et al.*, 2001). Entretanto, nenhuma metodologia foi ou está sendo aplicada por laboratórios nacionais no que diz respeito à monitorização terapêutica deste fármaco. Embora não exista uma faixa de concentração terapêutica para a olanzapina sérica, o intervalo de 5 a 75

ng/mL tem sido proposto (Xue *et al.*, 1998). Associada à insuficiência de dados disponíveis a respeito das concentrações tóxicas e terapêuticas da olanzapina, a farmacocinética da mesma parece ser dependente das condições fisiopatológicas do paciente, do sexo, da idade e de hábitos pessoais (Callaghan *et al.*, 1999). Logo, não só a individualização da dose poderia ser necessária, mas também a monitorização das concentrações séricas da olanzapina poderia proporcionar uma maior eficácia terapêutica e minimizar o aparecimento de efeitos tóxicos.

Este psicofármaco demonstrou eficácia no tratamento da esquizofrenia, particularmente em pacientes portadores de sintomas que são refratários aos antipsicóticos tradicionais. Um dos efeitos indesejáveis associados à olanzapina, de importância para a saúde global dos pacientes, bem como para sua adesão ao tratamento, é o ganho de peso corporal. Este pode estar correlacionado a uma resposta favorável à olanzapina, porém, os resultados são inconsistentes (Lawson e Karson, 1994; Aquila e Emanuel, 1999).

Dados emergentes sugerem que os psicofármacos que causam aumento do peso (olanzapina, clozapina e haloperidol) podem, como decorrência, também ocasionar diabetes tipo II, hipertensão arterial, câncer, infarto do miocárdio e dificuldades respiratórias, além de prejuízos indiretos representados pelo absenteísmo e pelo isolamento social freqüentes a estes indivíduos (Barnes-Josiah *et al.*, 1995; Walker *et al.*, 1995; Mukherjee *et al.*, 1996; Cerhan *et al.*, 1997; Popli *et al.*, 1997; Sakurai *et al.*, 1997; Suadicani *et al.*, 1997; Hagg *et al.*, 1998).

A fisiopatologia da obesidade ainda não está totalmente esclarecida e os últimos avanços que vêm ocorrendo no campo da biologia molecular muito têm auxiliado na elucidação desta doença (Meier, 1995; Escrivão *et al.*, 2000). As pesquisas neste sentido geralmente seguem duas linhas de abordagem que são complementares: uma linha mais fisiológica-bioquímica, onde são estudadas as variações no balanço energético e outra mais recente, de biologia molecular, onde são isolados genes específicos que controlam os diferentes fatores determinantes deste balanço energético. Existem numerosos componentes já identificados que participam da regulação do peso corporal, mas os papéis precisos de cada um ainda não foram elucidados (Meier, 1995).

Atualmente, investiga-se a hipótese de que a obesidade possa resultar de uma diminuição da sensibilidade do organismo aos efeitos da leptina (Considine *et al.*, 1996). A leptina é um peptídeo que interage com receptores próprios em vários centros hipotalâmicos; leva informações sobre a quantidade de energia armazenada em forma de gordura para o cérebro e também determina mudanças no comportamento alimentar e gasto energético (Schwartz *et al.*, 1996). No entanto, a transmissão do sinal pós-receptor de leptina ainda não está completamente elucidada.

Outros componentes que participam do controle do peso corporal, tais como peptídeos (colecistoquinina, urocortina, neuropeptídeo Y); receptores (receptor 3-adrenérgico, receptor de glicocorticóides e receptor de serotonina); proteína desaclopadora estão também sendo objetos de estudos (Meier, 1995; Warden e Wander, 1997).

Dos muitos peptídeos em estudo, o neuropeptídeo Y (NPY) está entre os mais interessantes. O NPY é um neurotransmissor importante no controle do peso corporal, liberado pelos neurônios hipotalâmicos. Os seus efeitos, antagônicos aos da leptina, estudados em camundongos são: aumento da ingestão alimentar, aumento da concentração sérica de insulina, diminuição da atividade simpática, reduzindo desta forma a energia liberada, aumentando os estoques de triglicérides nos adipócitos e, conseqüentemente, ocorrendo ganho de peso corporal. Sua secreção é inibida pela leptina, por um mecanismo de *feed-back* (White e Martin, 1997).

Portanto, no intuito de contribuir para otimização do uso de antipsicóticos (olanzapina e haloperidol), através da monitorização de suas concentrações séricas, e visto que o melhor conhecimento da complexa rede de hormônios e neurotransmissores que atuam na regulação da ingestão alimentar propiciará melhores alternativas no tratamento da obesidade humana; além de contribuir para a indução de novas estratégias de aderência ao tratamento medicamentoso e causar impacto positivo na reabilitação do paciente, o objetivo deste trabalho se prende à determinação sérica da olanzapina (OLA) e do haloperidol (HA); avaliação da relação leptina-neuropeptídeo Y e seu papel nas alterações do peso corporal em portadores de esquizofrenia.

***Revisão da
Literatura***

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Esquizofrenia

2.1.1. Definição, diagnóstico e classificação

A esquizofrenia é um distúrbio bastante freqüente, afetando cerca de 1% da população geral em diferentes culturas. Nos Estados Unidos, é responsável por 20% de todas as internações hospitalares. No Brasil, estatísticas recentes estimam a existência de mais de um milhão de esquizofrênicos na população geral, aos quais se somam cerca de 80.000 novos casos a cada ano (APA, 1994).

Trata-se de uma condição que envolve uma "divisão" entre as funções do pensamento, da afetividade e do comportamento e, ainda hoje, a delimitação da doença como entidade única continua sendo difícil, dada a heterogeneidade de suas formas de apresentação. Os indivíduos são acometidos já na adolescência ou início da idade adulta, tornando-se parcial ou completamente inválidos, improdutivos e dependentes de familiares e da sociedade como um todo. A demanda de serviços a serem prestados a esta população é grande, sendo enormes os custos humano e financeiro decorrentes (Rupp e Keith, 1999).

Apesar do diagnóstico da esquizofrenia ser essencialmente baseado nas manifestações clínicas descritas desde o início do nosso século, a recente introdução de entrevistas e critérios diagnósticos padronizados tem

permitido uma caracterização mais precisa e confiável do distúrbio não só para fins de pesquisa, mas também com aplicações na clínica do dia a dia. O Manual Diagnóstico e Estatístico dos Distúrbios Mentais (DSM), da Associação Psiquiátrica Americana é, certamente, o critério diagnóstico mais utilizado atualmente.

Os numerosos sintomas que podem ser observados na esquizofrenia vêm sendo agrupados em sintomas positivos, negativos, cognitivos e afetivos. Os sintomas positivos compreendem, principalmente, os delírios e as alucinações, bem como a desorganização do pensamento. Os sintomas negativos incluem a diminuição da vontade e da afetividade, o empobrecimento e o isolamento social. As dificuldades de atenção, concentração, compreensão e abstração são agrupadas dentro dos sintomas cognitivos. Já os sintomas afetivos incluem a depressão, a desesperança e as idéias de tristeza, ruína e, inclusive, autodestrutivas. Essa modalidade de classificação dos sintomas tem sido valiosa para a pesquisa e a clínica, da mesma forma que para portadores e familiares, porque sendo de fácil compreensão e percepção permite uma melhor avaliação geral da situação do portador em dado momento de sua doença e, ainda, diferentes condutas medicamentosas podem ser as mais indicadas, conforme a prevalência dos tipos de sintomas mais proeminentes no curso da doença (Louzã *et al.*, 1999). A TABELA 1 mostra os principais subtipos em que a esquizofrenia pode ser classificada, conforme os sintomas predominantes.

A evolução de técnicas de investigação biológica, sobretudo técnicas de imageamento cerebral tem confirmado a existência de substratos orgânicos para a doença e sugerem a existência de alterações cerebrais regionais específicas. O mecanismo etiopatogênico responsável por tais alterações começa também a ser delineado. A predisposição genética na doença como um todo é indiscutível, provavelmente de carácter poligênico. Injúrias peri-natais também parecem desempenhar papel importante em um número considerável de casos e são considerados fatores primários que levariam ao surgimento dos sintomas décadas mais tarde. Estressores psicossociais têm um papel importante na precipitação e manutenção dos sintomas, além de influenciarem na frequência e gravidade de recaídas (Almeida *et al.*, 1996).

No que tange à terapêutica da esquizofrenia, esta também se encontra em franco processo de evolução. Apesar de os antipsicóticos clássicos ainda serem utilizados, novos neurolépticos (“atípicos”) com padrões alternativos de ação em nível de receptores centrais são considerados como alternativas para o tratamento dos sintomas não responsivos à medicação usual. O desenvolvimento de diversas técnicas psicossociais começa, também, a fornecer opções concretas para a abordagem abrangente e multiprofissional necessária para o tratamento satisfatório do distúrbio (Almeida *et al.*, 1996).

TABELA 1 - Principais subtipos da esquizofrenia e sintomas predominantes

Subtipo	Sintomas predominantes
Paranóide	Delírios e alucinações
Hebefrênico	Alterações da afetividade e pensamento desorganizado
Catatônico	Alterações da motricidade
Simplex	Sintomas negativos

Fonte: Louzã *et al.*, 1999

2.1.2. Terapia medicamentosa - olanzapina

Para que os antipsicóticos sejam benéficos em nível máximo, eles devem possuir perfil de efeitos colaterais aceitável e ser utilizados de acordo com a prescrição (Bernstein, 1987). O desenvolvimento recente de novos antipsicóticos mais eficazes, adicionados à indução de novas estratégias de reabilitação, causaram um grande impacto no tratamento e no prognóstico da esquizofrenia, permitindo um tempo de hospitalização mais curto e beneficiando uma maior reintegração social e profissional dos pacientes.

A olanzapina (Zyprexa®), composto LY 170053, CAS RN 132539-06-1, é uma tienobenzodiazepina, com similaridade estrutural e farmacodinâmica à clozapina, mas que não induz leucopenia e agranulocitose como a dibenzodiazepina mencionada (Beasley *et al.*, 1997).

É um agente antipsicótico da nova geração, cujo mecanismo de ação ainda não está completamente elucidado. No entanto, exerce ação

antagonista nos receptores dopaminérgicos, em grande parte dos serotoninérgicos, adrenérgicos, muscarínicos e histamínicos, mas parece ter alta afinidade pelos receptores D_{1-4} , $5Ht_{2A/2C}$, $5Ht_3$, $5Ht_6$, M_{1-5} e H_1 , moderada a alta nos α -1-adrenérgicos. Seu bloqueio serotoninérgico é cerca de oito vezes mais intenso que o bloqueio dopaminérgico (Meltzer *et al.*, 1989).

Aparentemente não tem ação sobre os receptores α -2-adrenérgicos (à semelhança do sertindol e, principalmente, da ziprazidona, não ocasionando, assim, o aumento do *turnover* de norepinefrina, observado no bloqueio destes auto-receptores pré-sinápticos inibidores, como ocorre com a risperidona e em menor grau com a quetiapina (Meltzer *et al.*, 1989).

Liga-se fracamente aos receptores $GABA_A$, benzodiazepínicos e β -adrenérgicos. À semelhança da clozapina, exerce uma inibição regionalmente seletiva dos neurônios dopaminérgicos A_{10} (que se projetam para o córtex límbico e frontal) e menor sobre os neurônios A_9 que se projetam para o *striatum* e cuja inibição se julga o fator neuroquímico responsável pelos efeitos extrapiramidais dos antipsicóticos (Callaghan *et al.*, 1999; Sadock *et al.*, 1999).

Suas propriedades de bloqueio muscarínico e histaminérgico são superiores aos demais antipsicóticos atípicos, à exceção da clozapina, mas exerce menos antagonismo em receptores α -2-adrenérgicos (Callaghan *et al.*, 1999; Sadock *et al.*, 1999).

Do mesmo modo que o haloperidol e outros antipsicóticos, também possui propriedades de agonismo nos receptores glutamatérgicos do tipo

NMDA (N-metil-D-aspartato), bloqueando os efeitos da fenciclidina, uma substância narcótica com ação de antagonismo nestes receptores e com efeitos clínicos psicomiméticos muito semelhantes à sintomatologia positiva, negativa e cognitiva da esquizofrenia (Blin, 1999).

A olanzapina é bem absorvida por via oral, sem influência de alimentos, antiácidos a base de alumínio e magnésio ou cimetidina. Picos de concentração plasmática de 5 a 10 ng/mL são atingidos em 5 a 8 horas após a administração de uma única dose do fármaco, por esta via. O etanol aumenta a sua absorção em cerca de 25%, com maior risco de sedação e hipotensão ortostática. É amplamente distribuída pelo organismo com volume aparente de distribuição de 10,3 a 18,4 L/kg; sua ligação às proteínas plasmáticas é cerca de 93% e apresenta meia-vida de 21 a 54 horas (sendo 1,5 vezes maior nos pacientes com mais de 65 anos de idade). Dados a respeito de possíveis interações, clinicamente significantes, com outros fármacos que possam afetar a sua farmacocinética são restritos (Beasley *et al.*, 1997).

É extensamente biotransformada com apenas 7% sendo excretada inalterada por via renal. Seus dois principais produtos de biotransformação (10-N-glicuronídeo e 4-N-desmetil-olanzapina) não possuem atividade farmacológica nas concentrações observadas, após múltiplas doses. A glicuronidação direta e a oxidação mediada pelo complexo enzimático hepático do citocromo P450 são as vias metabólicas primárias (Callaghan *et al.*, 1999).

Além de uma melhor tolerabilidade extrapiramidal, a olanzapina (2,5 a 17,5 mg/dia) mostra-se comparável ao haloperidol (10 a 20 mg/dia) no tratamento de sintomas positivos, superior nos sintomas negativos e equivalente à clorpromazina e superior ao haloperidol no tratamento de pacientes refratários e na prevenção de recaídas no prazo de um ano (Blin, 1999; Sadock *et al.*, 1999).

A propensão a efeitos extrapiramidais e convulsões é baixa, mas já foram registradas ocorrências de acatisia, distonias agudas e síndrome neuroléptica maligna. Os efeitos adversos mais comuns incluem constipação, boca seca, taquicardia, sonolência, hipotensão ortostática, tonteados, elevação dos níveis circulantes de prolactina, elevação assintomática reversível das transaminases e ganho de peso (Lawson e Karson, 1994; Allison *et al.*, 1999).

Um dos efeitos indesejáveis associados à olanzapina, de importância para a saúde global dos pacientes, bem como para sua adesão ao tratamento, é o ganho de peso corporal (Lawson e Karson, 1994). Em estudos realizados com a olanzapina, Tollefson *et al.* (1997) e Beasley *et al.* (1997) demonstraram que, em ensaios agudos e em estudos de duração de um ano, a suspensão do fármaco atribuída ao aumento do peso foi extremamente rara. Por exemplo, em um estudo de 6 semanas, Tollefson *et al.* (1997) revelaram que nenhum dos 1.336 pacientes tratados com a olanzapina abandonou precocemente a medicação em decorrência de aumento do peso.

Segundo Allison *et al.* (1999), há indivíduos esquizofrênicos suficientemente magros para os quais o aumento do peso não traria inconvenientes, sendo talvez até benéfico.

É importante enfatizar que o aumento do peso não deve ser motivo único para a escolha de um antipsicótico em relação ao outro. Para muitos indivíduos, o grau de risco acarretado pelo aumento do peso decorrente do uso do fármaco não irá sobrepujar o grau de benefício obtido com o alívio dos sintomas da esquizofrenia. Não só a eficiência terapêutica, mas também outros fatores, tal como as síndromes extrapiramidais relacionadas a dose, precisam ser consideradas na escolha do fármaco. Portanto, as escolhas clínicas devem ser estabelecidas com base em cada caso, com ponderação cuidadosa sobre os tópicos relativos ao peso, à eficácia terapêutica e a outros fatores relevantes.

2.2. Monitorização terapêutica

Depois de ter feito o diagnóstico e selecionado um fármaco apropriado, um dos problemas que restam ao clínico é estabelecer um esquema de dosagem que proporcione a concentração ótima para cada paciente.

Os regimes de dosagem de fármacos necessários para um efeito terapêutico ótimo pode diferir de paciente para paciente. Para que um fármaco seja eficaz terapêuticamente, deve atingir o local da sua pretendida

ação farmacológica no organismo com rapidez suficiente e em quantidades suficientes para atingir uma concentração eficaz. As diferenças individuais nas fases de absorção, biotransformação e excreção dos fármacos, bem como a presença de doenças intercorrentes e interações medicamentosas são alguns dos fatores responsáveis pelas diferenças das concentrações dos fármacos nos locais de ação e pelas variações das respostas a uma dada concentração (Schumacher, 1995).

Durante as últimas décadas, a possibilidade de se medir concentrações séricas de fármacos e a difusão da importância deste procedimento, para estabelecer a individualização da dose, têm levado ao uso mais racional deste grupo de agentes terapêuticos, juntamente com as observações clínicas e propiciado a melhora de pacientes (Cretella, 1990).

A monitorização terapêutica permite otimizar a farmacoterapia, atingindo o máximo de benefício e minimizando os riscos de toxicidade, uma vez que os efeitos terapêuticos e/ou tóxicos são melhor correlacionados à concentração sérica que à dose administrada e, ainda, pode ter utilidade em pacientes que não obedecem aos regimes terapêuticos instituídos. A porcentagem de pacientes desobedientes tem sido referida como variável nas diferentes situações clínicas e com medicamentos de uso contínuo, mostrando-se superior entre os pacientes psiquiátricos (Bernstein, 1987; Schumacher, 1995).

Estima-se que, em comercialização na maioria dos países, inclusive no Brasil, a olanzapina já possa ostentar uma experiência acumulada de mais de 4,5 milhões de pessoas tratadas em todo o mundo (Frota *et al.*,

2001). No entanto, nenhuma metodologia foi aplicada por laboratórios nacionais no que diz respeito à monitorização terapêutica deste fármaco.

Embora não exista uma faixa de concentração terapêutica para a olanzapina sérica, o intervalo de 5 a 75 ng/mL tem sido proposto (Xue *et al.*, 1998). Associada à insuficiência de dados disponíveis a respeito das interações medicamentosas com a olanzapina (uso concomitante de inibidores ou indutores enzimáticos), a farmacocinética parece ser dependente das condições fisiopatológicas do paciente, do sexo, da idade e de hábitos pessoais (Callaghan *et al.*, 1999). As mulheres têm *clearance* 30% mais lento que os homens, enquanto fumantes 40% maior que os não-fumantes. O olanzapina parece não sofrer influência clinicamente relevante do fator racial isoladamente, porém a combinação de diversos fatores pode determinar grande variação, necessitando ajuste de dose. Por exemplo, homens jovens fumantes podem ter um *clearance* três vezes maior que as mulheres idosas não-fumantes (Frota *et al.*, 2001). Logo, a individualização da dose pode ser necessária e a monitorização das concentrações séricas da olanzapina poderia ser um recurso desejável, tanto do ponto de vista ético quanto técnico, visto que poderia otimizar a farmacoterapia e reduzir o alto custo econômico que hospitalizações freqüentes e prolongadas, ocasionadas por uma recuperação incompleta, acarretam ao Estado.

Em fluidos biológicos, a olanzapina pode ser determinada por cromatografia gasosa associada ao espectrômetro de massas (GC-MS) usando extração líquido-líquido e ionização química (Jenkins *et al.*, 1998). Recentemente, procedimentos utilizando extração em fase sólida (SPE) e

cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), em fase reversa ou normal, com detector eletroquímico e ultravioleta (UV) e cromatografia líquida de alta eficiência associada ao espectrômetro de massas (LC-MS) têm sido descritas (Catlow *et al.*, 1995; Aravagiri *et al.*, 1997; Olessen *et al.*, 1998; Boguz *et al.*, 1999).

2.3 Obesidade

2.3.1 Conceitos básicos

A composição e o peso corporais, em humanos, são determinados por interações entre fatores genéticos, ambientais, comportamentais e sociais e da resposta a um sinal periférico produzido em quantidades proporcionais ao tecido adiposo no organismo (Ravussin, 1995; Prentice *et al.*, 1996).

Os estoques de energia no organismo são regulados pela ingestão e pelo gasto energético. Quando há equilíbrio entre ingestão e o gasto energético, o peso corporal é mantido. Um pequeno balanço positivo acarreta baixo incremento de peso, mas o desequilíbrio crônico entre a ingestão e o gasto, levará à obesidade ao longo do tempo (Ravussin, 1995). Portanto, a obesidade pode ser considerada um distúrbio do metabolismo energético, onde ocorre um armazenamento excessivo de energia, sob a forma de triglicérides, no tecido adiposo.

Apesar da aparente simplicidade de como mensurar a obesidade, esta é uma tarefa árdua, principalmente se for exigida uma acurácia ideal. Um fato que ilustra bem esta questão é o grande número de métodos disponíveis, arrolados na TABELA 2.

TABELA 2 - Métodos para o mensuração da obesidade

Método	Facilidade de uso	Validade	Distribuição da gordura
Altura x Peso	Fácil	Alta	Não
Pregas Cutâneas	Fácil	Baixa	Sim
Circunferências	Fácil	Moderada	Sim
Condutividade elétrica corpórea total	Moderada	Alta	Não
Impedância Bioelétrica	Fácil	Alta	Não
Gás Lipossolúvel	Difícil	Alta	Não
Tomografia computadorizada	Difícil	Alta	Não
Ultrassom	Moderada	Moderada	Sim
Ativação neutrônica	Difícil	Alta	Não
DEXA / DPA	Fácil	Alta	Sim
Ressonância Magnética	Difícil	Alta	Sim

- DEXA – Medida de absorção de energia dual por raio X
- DPA – Medida de absorção por fóton

Fonte: Segal, 1999

Dos métodos antropométricos que quantificam a gordura, o mais preciso é o índice de Massa Corporal (IMC; equação 1).

$$\text{IMC (kg/m}^2\text{)} = \text{peso} / \text{altura}^2$$

Este índice apresenta uma correlação com a massa de gordura da ordem de 0,7 a 0,8 (WHO, 1997; Monteiro, 1998). Na TABELA 3, estão as faixas de corte do IMC definidas pela Organização Mundial da Saúde (OMS), para adultos de todas as faixas etárias (WHO, 1995; Seidell, 1998; Bray *et al.*, 1998).

Um adulto com menos de 40 anos deve ter um IMC que varia de 20 a 25 Kg/m² para que esteja na faixa de menor risco de morbi-mortalidade. Em indivíduos com mais de 40 anos, este valor aumenta para 27 Kg/m².

O comportamento do IMC, em termos de taxa de mortalidade, está ilustrado na FIGURA 1. Esta reproduz o famoso gráfico em *J* publicado por DeLew e Garfinkel e adaptado por Bray (1998).

TABELA 3 – Classificação da OMS para o sobrepeso

IMC	Classificação (OMS)	Descrição usual	Risco	Risco Corrigido *
< 18,5 Kg/m ²	Baixo Peso	Magro	Aumentado	Aumentado
18,5-24,9 Kg/m ²	Faixa normal	Peso saudável, normal	Baixo	Aumentado
25-29,9 Kg/m ²	Sobrepeso Grau I	Sobrepeso	Aumentado	Moderado
30-34,9 Kg/m ²	Sobrepeso Grau II a	Obesidade	Moderado	Grave
35-39,9 Kg/m ²	Sobrepeso Grau II b	Obesidade	Grave	Muito grave
≥ 40,0 Kg/m ²	Sobrepeso Grau III	Obesidade mórbida	Muito grave	Muito grave

Risco corrigido *= quando a obesidade está associada a outros fatores de risco.

OMS = Organização Mundial da Saúde

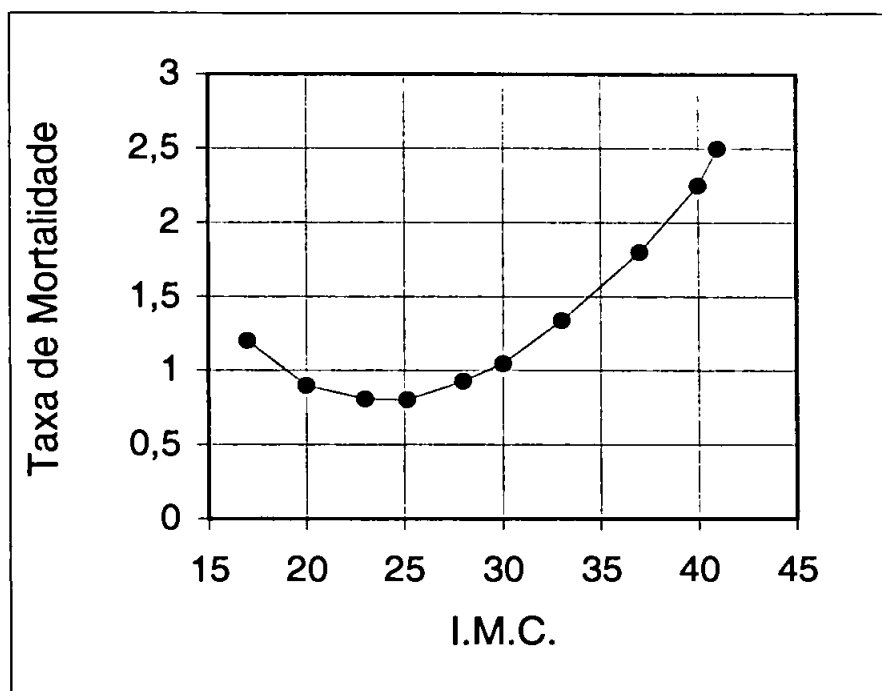


FIGURA 1 – Representação gráfica do IMC e a taxa de mortalidade

2.3.2. Aspectos epidemiológicos

2.3.2.1. Prevalência

Quando se fala em prevalência da obesidade, refere-se à fração de pessoas que apresentam um excesso de tecido gorduroso. Para homens adultos, isto significa uma porcentagem maior do que 20% de gordura e para mulheres adultas, maior do que 30% (Seidell, 1998). Na prática, as pessoas e as populações são classificadas em termos de IMC (Williamson, 1995; Monteiro, 1998; Seidell, 1998).

Existem vários pontos de corte utilizados para a definição de obesidade, sendo este aspecto fonte de importante viés em termos de epidemiologia (Vanitallie, 1996, Seidell e Rissanen, 1998).

Existem evidências sugerindo que as prevalências do sobrepeso e da obesidade vêm aumentando mundialmente de um modo alarmante, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento (Atkinson e Hubbard, 1994; Atkinson, 1997; WHO, 1997).

A TABELA 4, adaptada de WHO, 1997 e Monteiro, 1998, resume a evolução da obesidade, em termos de prevalência, em países da América.

TABELA 4 – Prevalência de obesidade ($IMC \geq 30 \text{kg/m}^2$) nas Américas

País	Ano	Idade (anos)	Prevalência (%)	
			Homem	Mulher
Brasil	1975	25-64	3,1	8,2
	1989		5,9	13,3
	1989	18-49	-	7,5
	1996		-	10,1
Canadá	1978	20-70	6,8	9,6
	1981	20-70	8,5	9,3
	1988	20-70	9,0	9,2
	1986-92	18-74	13,0	14,0
EUA	1960	20-74	10,0	15,0
	1973		11,6	16,1
	1978		12,0	14,8
	1991		19,7	24,7

Fonte: WHO, 1997; Monteiro, 1998

2.3.2.2. Incidência

Em termos de incidência da obesidade, o risco calculado para se tornar obeso num intervalo de dez anos é de 16,3% em homens e 13,5% em mulheres. A faixa etária de maior risco é a dos 35 aos 44 anos (Williamson, 1995). Estes dados se referem aos EUA; não temos conhecimento de dados sobre a incidência da obesidade no Brasil.

2.3.3. Aspectos Genéticos e Moleculares

Evidências da presença e da relevância de componentes genéticos para a obesidade são hoje inquestionáveis e trabalhos relacionados ao tema proliferam na literatura científica nas últimas duas décadas. Estudos com gêmeos mono e dizigóticos, de adoção e de famílias mostram que a influência dos aspectos genéticos na manifestação clínica da obesidade chega até a 80% em gêmeos monozigóticos (Villares, 1998; Hitman, 1998; Warden e Fisler, 1998).

A procura do "gene da obesidade" tem resultado na descoberta de fortes candidatos e pelo menos 26 *loci* cromossômicos relacionados ao peso foram detectados em seres humanos e 98 em modelos animais. Os genes envolvidos na maior parte desses *loci* cromossômicos ainda não foram identificados. Até o momento, sete genes são conhecidos como prováveis causadores da obesidade humana e pelo menos 20 têm influência no

acúmulo lipídico em ratos. Os dois primeiros genes a serem implicados foram o gene *agouti* e o gene da *leptina* (Warden, 2001).

Numa avaliação de 63 crianças gravemente obesas, Dubern *et al.*, 2001, avaliaram por seqüenciamento direto, a presença de mutações nos genes do receptor da melanocortina 4 (MC4R), proteínas relacionadas ao *Agouti* (AGRP) e α -MSH (hormônio estimulador de melanócito) e encontraram quatro mutações *missense* em quatro crianças não aparentadas, mas em nenhum dos controles. A expressão fenotípica foi variável nos membros das famílias positivos para a mutação e as características clínicas e laboratoriais eram semelhantes nas crianças obesas com e sem a mutação.

Com relação aos genes AGRP, foram encontrados dois polimorfismos com freqüências semelhantes no grupo obeso e no controle. Nenhuma mutação no gene do α -MSH foi detectada. Os autores concluem ser a mutação para MC4R uma causa importante de obesidade grave em crianças, com expressão e penetrância variáveis (Dubern, 2001).

Mehmet *et al.*, 2001, estudando a mutação no gene MC4R no seu projeto "Estudo do Genoma da Obesidade na Turquia" refere que o fenótipo assemelha-se ao estado de deficiência MC4R no rato, com relação à preservação da capacidade reprodutiva. Os indivíduos afetados apresentam hiperfagia na infância, que perde intensidade em idades posteriores, suas alturas são normais e diabetes *mellitus* está presente. Acumula-se evidência de que o sistema endócrino melanocortina ou defeito de sinalização de

melanocortina apresenta diferentes características em ratos e em humanos, assemelhando-se às variações observadas em ambas as espécies no que tange à leptina (Mehmet *et al.*, 2001).

Alguns pontos de complexidade aparecem em estudos de epidemiologia genética da obesidade não monogênica:

- (1) a expressão da predisposição genética dependerá da interação *gene x ambiente*, do estágio de desenvolvimento (idade) e do sexo;
- (2) a obesidade não é um traço único derivado de um gene ou de um único grupo de genes, mas provavelmente depende de herança poligênica;
- (3) o excesso de tecido adiposo raramente é medido por métodos diretos. Assim, o IMC ou outras medidas equivalentes incluem outros traços, como massa muscular e óssea, por exemplo (Bouchard *et al.*, 1998).

A participação genética na obesidade pode se dar em vários pontos envolvidos com o balanço energético, isto é, ingestão alimentar, gasto energético, metabolismo basal, na termogênese alimentar, na atividade física e no tônus do sistema nervoso simpático (Villares, 1998).

Nos últimos anos, temos observado um grande progresso referente à compreensão dos mecanismos fisiológicos envolvidos com a manutenção

do equilíbrio energético, assim como um melhor entendimento dos fatores que potencialmente geram um distúrbio deste equilíbrio.

A homeostase energética é mantida por meio de um sistema neuro-humoral integrado que minimiza o impacto de flutuações, a curto prazo, do balanço energético no tecido adiposo. Elementos essenciais para o controle deste sistema incluem hormônios secretados proporcionalmente à adiposidade corporal (leptina, insulina, resistina) e algumas moléculas do sistema nervoso central (SNC), nas quais estes hormônios agem (neuropeptídeo Y) (Meier, 1995; Sahu, 1998).

Algumas moléculas sinalizadoras do SNC, descritas na TABELA 5, parecem exercer efeitos potentes e unidirecionais no balanço energético, em resposta a alterações da gordura corporal. As vias anabólicas (orexígenas) incluem sistemas e moléculas que estimulam o consumo de alimentos e, conseqüentemente, promovem um ganho ponderal (por exemplo, o eixo hipotalâmico do neurotransmissor neuropeptídeo Y). Já as vias catabólicas (anorexígenas), reduzem a ingesta alimentar e levam a uma perda de peso (por exemplo, o sistema hipotalâmico da melanocortina) (Meier, 1995; Sahu, 1998).

TABELA 5 - Moléculas sinalizadoras candidatas envolvidas com a homeostase energética no sistema nervoso central

Vias	Vias
Anorexígenas	Orexígenas
Leptina	NPY
CRH	AGRP
α -MSH	MCH
CCK	Orexinas A e B
Bombesina	Galanina
Somatostatina	β -endorfina
TRH	Norepinefrina
CGRP	GHRH
Serotonina	
Neurotensina	

- CRH (hormônio liberador da corticotrofina);
- α -MSH (hormônio estimulador de melanócito);
- CCK (colecistoquinina);
- TRH (hormônio liberador de tireotrofina);
- CGRP (peptídeo relacionado ao gene da calcitonina);
- NPY (neuropeptídeo Y);
- AGRP (proteína relacionada ao *agouti*);
- GHRH (hormônio liberador do hormônio de crescimento).

2.3.4. Leptina e Neuropeptídeo Y

Por muitos anos, cientistas têm procurado por um possível mensageiro que sinalizaria ao cérebro e a outros tecidos, o estado das reservas energéticas do corpo. Este sinal permitiria mudanças apropriadas no consumo de alimento, no gasto de energia e na partição de nutrientes para manter o balanço energético.

Kennedy (1953) foi o primeiro a propor a teoria lipostática da regulação do peso corporal. Segundo esta teoria, quando a massa adiposa expande, a concentração circulante da molécula sinal pode aumentar e atuar nos circuitos neurais do cérebro controlando o consumo e balanço de energia. Alguns trabalhos realizados posteriormente deram suporte a esta idéia.

Hervey (1959) conduziu experimentos de parabiose, nos quais os sistemas circulatórios de camundongos obesos e magros foram cirurgicamente unidos. Por este método, há troca de 1% de fluxo sanguíneo entre os camundongos. Os resultados dos experimentos indicaram que o aumento da massa gordurosa produziu um fator circulante, o qual, em contato com o camundongo magro, atuou induzindo a saciedade.

A existência de um fator circulante no controle do consumo alimentar também foi evidenciada nos experimentos de parabiose entre dois camundongos geneticamente obesos (Coleman e Hummel, 1973; Coleman, 1973). Mutação recessiva, tanto no camundongo obeso (ob) quanto no diabético (db), resulta em obesidade e diabetes, assemelhando-se à

obesidade mórbida em humanos. Parabiose entre estes dois camundongos revelou que, enquanto o camundongo db/db não era afetado, o camundongo ob/ob tornou-se hipofágico e morreu de inanição. Isto sugeriu que os dois camundongos apresentaram mutações em genes distintos, resultando em fenótipos similares, com o camundongo db/db produzindo um fator circulante no soro, o qual regula o consumo de alimento em camundongos ob/ob. Assim, o camundongo ob/ob reage a um sinal de saciedade, que é não é efetivo nos camundongos db/db.

Zhang *et al.* (1994) identificaram e caracterizaram o gene ob de camundongo e o seu homólogo em humano e, em 1995, a equipe de Jeffrey Friedman, na Rockefeller University, clonou a versão não mutante deste gene, o qual chamou gene-ob. No mesmo ano, identificou-se um hormônio protéico codificado pelo gene-ob, o qual foi denominado proteína-ob ou leptina (do grego "*leptos*" que significa "*delgado*").

A leptina é produzida principalmente no tecido adiposo, embora também possa ser encontrada, em menor quantidade, no epitélio intestinal, placenta, leite materno, músculo esquelético, gástrico e cérebro. É um peptídeo de 167 aminoácidos (aa) e massa molecular de 16 kDa. Uma vez na corrente sanguínea, a leptina interage com receptores próprios em vários centros hipotalâmicos (Schwartz *et al.*, 1996); leva informações sobre a quantidade de energia armazenada, em forma de gordura, para o cérebro e também determina mudanças no comportamento alimentar e gasto energético. Ainda, a concentração plasmática de leptina circulante é diretamente relacionada à massa de tecido adiposo. Animais obesos ou com

peso normal que recebem leptina comem menos, têm maior gasto calórico basal e perdem peso (Campfield *et al.*, 1996).

Após a descoberta e caracterização da leptina, a busca pelo seu receptor foi iniciada. O RNA do receptor da leptina (Ob-R) foi primeiramente isolado do plexo coróide de camundongo. Estudos *in situ* mostraram que a leptina se liga com alta afinidade nesta região, sugerindo que este seja o local de expressão do receptor da leptina (Tartaglia *et al.*, 1995). Além deste, o gene do receptor da leptina também é fortemente expresso pelas leptomeninges e regiões do hipotálamo, como os núcleos arqueado, ventral premamilar, ventromedial e paraventricular (Mercer *et al.*, 1996).

Seis isoformas do receptor da leptina foram descritas: Ra, Rb, Rc, Rd, Re e Rf. Quatro das seis isoformas foram encontradas em pelo menos duas espécies: Ra, Rb, Rc e Re, sendo que a isoforma Rd foi descrita somente em camundongos e a Rf em ratos (Lee *et al.*, 1996). Isto sugere que as isoformas Ra, Rb, Rc e Re do receptor devem promover funções essenciais, visto que não são exclusivas de uma única espécie. A comparação entre todas as isoformas revela que o domínio extracelular é comum e a porção do domínio citoplasmático variável.

A forma Re codifica a proteína mais curta, na qual falta o domínio transmembrana. As outras variantes incluem, além do domínio transmembrana, o "box" JAK (tirosina quinase). A isoforma Rb contém o "box" STAT (transdutora e ativadora de sinal de transcrição), o qual não é encontrado nas outras variantes, sendo esta a forma predominante no hipotálamo (Chen *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 1996). É de consenso geral que a

forma longa do receptor da leptina (OB-Rb ou simplesmente Rb) seja a forma mais competente em ativar as vias de sinalização no interior da célula.

A forma OB-Ra é encontrada em altas concentrações no plexo coróide de camundongos (Ghilardi *et al.*, 1996), podendo funcionar como uma proteína de transporte que permite a passagem da leptina através da barreira hematencefálica.

Uma mutação no receptor da leptina causa o fenótipo observado nos camundongos *db/db*, os quais também apresentam severa obesidade, como a observada nos camundongos *ob/ob* (Chen *et al.*, 1996). A mutação envolve a mudança de uma base em um íntron, alterando um sítio de "splice". Na proteína transmembrana resultante, faltam alguns aminoácidos no domínio citoplasmático (Lee *et al.*, 1996). Assim, como as outras formas curtas do receptor, esta mutação o tornaria incapaz de ativar as proteínas STATs (Ghilardi *et al.*, 1996; Vaisse *et al.*, 1996). A administração de leptina recombinante em camundongos *db/db* não tem efeito, mas em camundongos *ob/ob* reduz a massa adiposa por meio do efeito no consumo e no gasto de energia, (Pelleymounter *et al.*, 1995; Halaas *et al.*, 1995; Campfield *et al.*, 1995); mostrando, então, que a proteína mutada perde a função.

Caro *et al.* (1997) relataram a ausência de mutações similares no homólogo humano do gene-*ob*, quando estudou o DNA genômico de 10 pacientes obesos, mas verificaram que a expressão do gene-*ob*, o RNAm-*ob* nos adipócitos e a concentração sérica de leptina são significativamente maiores em pessoas obesas, quando comparados aos

encontrados em pessoas normais; sendo maiores nas mulheres obesas que nos homens obesos, e nas mulheres normais que nos homens normais, exibindo uma forte correlação positiva com a percentagem de gordura corporal, índice de massa corpórea e concentrações basais (de jejum) de insulina.

Além do seu papel na regulação do peso corporal, a leptina pode atuar como modulador neuroendócrino dos eixos gonadal e adrenal. Heiman *et al.* (1997) demonstraram que a leptina é capaz de inibir a liberação do hormônio liberador da corticotropina (CRH) no hipotálamo perfundido de ratos, fornecendo evidências moleculares de que a leptina atua no CRH, o mais importante fator do sistema geral de alerta (Sutton *et al.*, 1982).

Segundo Licinio *et al.* (1997), voluntários normais (do sexo masculino) apresentam secreção diária de leptina inversamente proporcional à secreção de ACTH e cortisol, sugerindo que a leptina possa ser um supressor da atividade do eixo hipotálamo-pituitário-adrenal.

Investigar o papel da leptina em diversos eixos hormonais que, em parte, determinam comportamentos complexos, como a alimentação e a atividade sexual, tornou-se mais atraente, à medida que foram publicados dois estudos de famílias afetadas por mutações na leptina e no seu receptor.

Clement *et al.* (1998) descreveram mutações nas regiões intracelulares e ao longo da membrana plasmática do receptor de leptina,

em familiares com e sem obesidade mórbida. Três pessoas adultas homozigóticas para o gene defeituoso apresentaram obesidade com níveis altíssimos de leptina; não atingiram a puberdade e a secreção de hormônio do crescimento e a função tireoidiana estavam reduzidas. Parentes heterozigóticos ou que não tinham a mutação eram saudáveis. Em outro estudo, duas crianças com obesidade mórbida, pertencentes a uma família com intensa consangüinidade, foram avaliadas (Montague *et al.*, 1997). Nesse caso, a mutação (deleção de um único nucleotídeo) foi observada na molécula de leptina; as duas crianças afetadas eram homozigóticas para o gene mutante da leptina. A obesidade, nesse caso, é explicada por uma leptina circulante que não é ativa, ou seja, que não exerce seu papel de supressor do apetite e estimulante do metabolismo basal.

Alterações do apetite, do peso e da libido são freqüentemente encontradas em doenças psiquiátricas, marcadamente em transtornos alimentares. Na anorexia nervosa, por exemplo, há amenorréia, hiperatividade física e ativação da resposta geral de alerta (Cordás e Negrão, 1994). Grupos distintos de pesquisadores demonstraram que a hipercortisolemia encontrada na anorexia nervosa se deve fundamentalmente à hiperatividade do hormônio liberador de corticotropina (CRH) (Gold *et al.*, 1986; Hotta *et al.*, 1986). Um aspecto conspícuo dos transtornos alimentares é sua maior prevalência em mulheres, sugerindo que há um dimorfismo sexual na gênese desses transtornos. Mais recentemente, os níveis séricos de leptina foram determinados em anorexia e bulimia nervosa (Ferron *et al.*, 1997), mas ainda poucos são os trabalhos

que correlacionam seu papel nas alterações do peso corporal em portadores de esquizofrenia e de desordens psicóticas.

Já está bem compreendido que o cérebro, especificamente o hipotálamo, é um sítio onde vários sinais centrais e periféricos são integrados para afetar a expressão do complexo comportamento alimentar e das funções neuroendócrinas da homeostase energética. Entretanto, a relação entre a via de sinalização da leptina e outros efetores hipotalâmicos da regulação do peso corporal ainda não está completamente esclarecida.

O neuropeptídeo Y (NPY) é um neuropeptídeo com 36 aminoácidos encontrado em áreas do hipotálamo envolvidas no consumo e controle neuroendócrino. Contrariamente à leptina, NPY é um potente estimulador do consumo e inibidor da secreção de gonadotrofina (Parrott *et al.*, 1986). A síntese do NPY parece ser inibida no núcleo arqueado do hipotálamo, pela atuação da leptina (Stephens *et al.*, 1995; Schwartz *et al.*, 1996).

Os núcleos hipotalâmicos expressam outros neuropeptídeos e neurotransmissores que regulam o consumo de alimento e/ou peso corporal. Além do NPY, o hormônio concentrador de melanina (MCH), orexinas a e b e galanina (GAL) também estimulam o consumo.

Sahu (1998) verificou que a leptina também inibe o consumo induzido por MCH e GAL. Por outro lado, o hormônio estimulador de melanócito (MSH) e seus receptores, são necessários para a resposta a um aumento da concentração da leptina plasmática (Friedman e Halaas, 1998). Assim, a resposta fisiológica observada com o aumento da leptina é diferente da resposta com a diminuição dela.

A principal ação metabólica deste neuropeptídeo é o aumento da secreção de insulina e de glicocorticóides, o que conduz ao acúmulo de gordura, obesidade e insulino-resistência muscular. Como estes dois últimos hormônios estimulam o débito de leptina, esta última, desde que funcionante e seus receptores inalterados, representa uma via aferente possibilitando a diminuição da atividade Y-neuropeptidérgica e a redução da ingesta alimentar. Além disto, a injeção do neuropeptídeo Y no ventrículo cerebral também induz ao aumento dos níveis do RNAm para leptina (RNAm-ob) no tecido adiposo. Assim, a massa gordurosa normal pode ser mantida através de um sistema de alça central-periférico, o qual está desregulado em obesos (Stephens *et al.*, 1995; Erickson *et al.*, 1996a; Erickson *et al.*, 1996b; Schwartz *et al.*, 1996).

A FIGURA 2 mostra, de forma resumida, a provável relação entre a via de sinalização da leptina e do NPY na regulação do peso corporal.

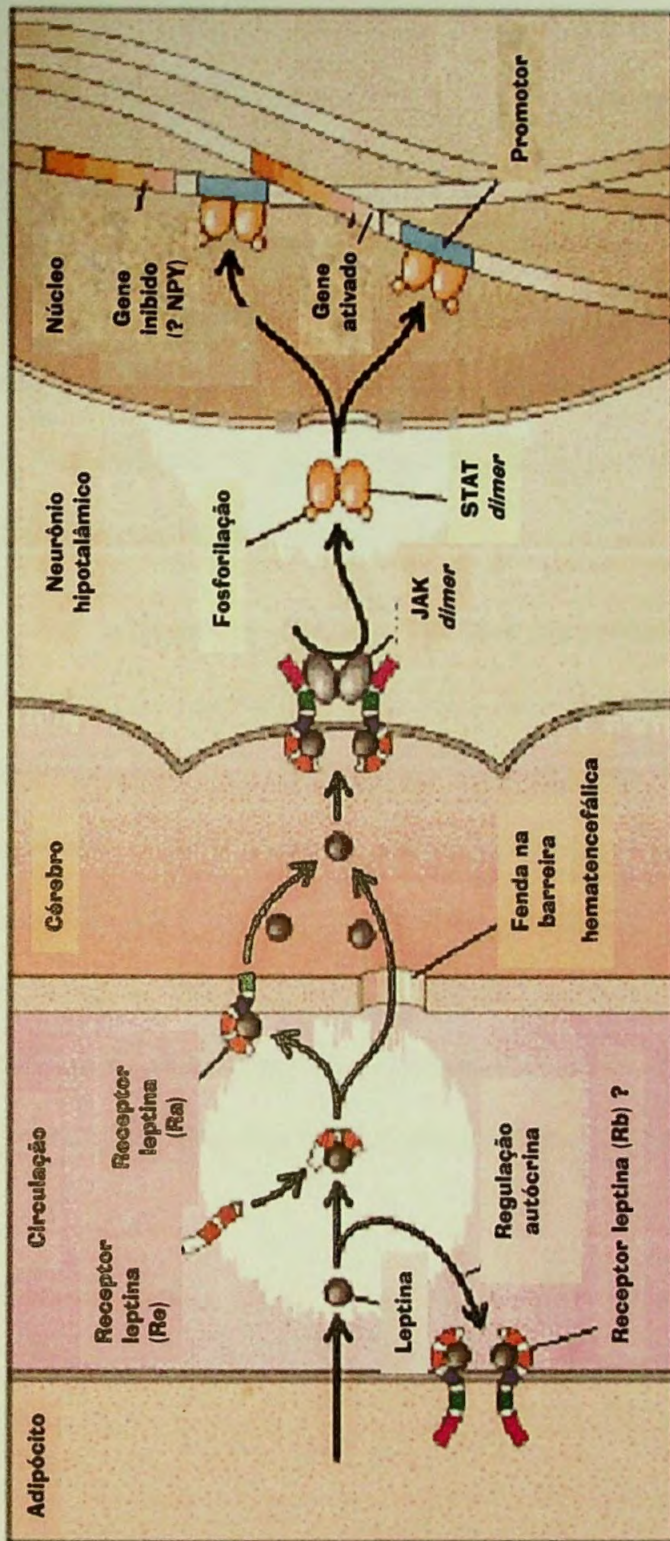


FIGURA 2 - Provável via de sinalização da leptina e do NPY na regulação do peso corporal.

A função fisiológica da leptina como sinalizadora da quantidade de energia armazenada, na forma de gordura, para o cérebro inicia-se com a sua secreção pelos adipócitos. Em roedores, ao menos, este sinal pode ser transportado pela isoforma Re do receptor de leptina para a circulação sanguínea. Recentes achados sugerem que a isoforma longa do receptor de leptina (Rb) possa mediar a regulação da leptina, sendo a mesma capaz de regular sua própria biossíntese no tecido adiposo. Chegando à barreira hematoencefálica, a leptina pode sofrer transporte ativo, envolvendo a isoforma Ra (expressa no plexo coróide) ou atravessar diretamente através de fendas existentes nesta barreira. No hipotálamo, a principal isoforma do receptor de leptina é a Rb, capaz de ativar a via de sinalização JAK/STAT. Quando é ativada, moléculas dimerizadas podem entrar no núcleo celular e lá ativar ou suprimir genes alvos. Um efeito pode ser a inibição do gene que codifica para o NPY e, conseqüentemente, a supressão do NPY pode acontecer.

Atualmente, investiga-se a hipótese de que a obesidade possa resultar de uma diminuição da sensibilidade do organismo aos efeitos da leptina (Considine *et al.*, 1996). Assim como nos roedores com excesso de peso e genótipo db/db, nos seres humanos obesos, a resistência ao sinal da leptina é mais importante que o defeito na sua produção, como causa da obesidade. Se esta insensibilidade, nos seres humanos, se deve a mutações do gene do receptor da leptina no cérebro, ou a anormalidades pós-receptor na transdução do sinal da leptina ou a outra anormalidade na função hipotalâmica ainda não se sabe.

A despeito destas incertezas, a identificação de neurotransmissores controlados hormonalmente que interferem no comportamento alimentar (neuropeptídeo Y), hormônios que regulam a lipogênese e hormônios que sinalizam a adequação calórica (leptina) representa importante avanço na compreensão dos mecanismos envolvidos nessa mudança de padrão corpóreo e, talvez, venha substituir a abordagem empírica por uma base mais calcada em elementos fisiopatológicos, colocando em perspectiva uma metodologia racional para o desenvolvimento da terapêutica eficaz.

2.3.5. Repercussões da obesidade

A obesidade e o sobrepeso não são condições psiquiátricas, como não só endocrinológicas, cirúrgicas ou restritas a qualquer especialidade médica. São problemas graves que ultrapassam os limites das diferentes divisões dentro da medicina, o que obriga a vê-la de maneira integrada, não apenas entre médicos, mas entre diferentes profissionais de saúde (Segal, 1999).

A obesidade e o incremento do peso são uma ameaça para a saúde e para a longevidade (Lee e Paffenbarger, 1992) e têm sido associados com hipertensão, diabetes tipo II, cardiopatia coronária, acidente vascular cerebral, doença de vesícula biliar, osteoartrite, apnéia do sono e problemas respiratórios, assim como com alguns tipos de câncer (de endométrio, de mama, de próstata e de cólon) (Tsuang *et al.*, 1983; McKee *et al.*, 1986; Mukherjee *et al.*, 1996; CDC, 1998). As alterações de imagem corporal decorrentes do excesso de peso também não podem ser menosprezadas, pois podem baixar a auto-estima do indivíduo, dificultando sobremaneira a abordagem terapêutica.

As condutas médicas que provocam aumento de peso importante merecem consideração cuidadosa, especialmente porque a obesidade é uma situação comum concomitante com a esquizofrenia (Allison *et al.*, 1999), e os indivíduos esquizofrênicos parecem apresentar um risco aumentado de algumas patologias relacionadas à obesidade, tais como o diabetes tipo II e a doença cardiovascular (Mukherjee *et al.*, 1996; McKee *et*

al., 1986; Tsuang *et al.*, 1983). Também é possível que o aumento de peso leve os pacientes a suspender o uso dos antipsicóticos, fato que pode predispor-los a recidiva (Bernstein, 1987).

A obesidade está associada as alterações metabólicas importantes, que são dependentes de sua duração e de sua gravidade e cujas conseqüências ocorrem mais no adulto (Must, 1996; Quesenberry *et al.*, 1998) e ainda, que a distribuição corporal do tecido adiposo implica em diferentes alterações metabólicas. A gordura centralizada, está claramente associada ao maior risco para diabetes e hipertensão arterial.

Existe uma associação entre obesidade e hipertensão arterial e os mecanismos que promovem o aparecimento de hipertensão arterial não são bem conhecidos. Tanto a pressão sistólica como a diastólica aumentam com o aumento de IMC (Ferrarini *et al.*, 1997). Os estudos hemodinâmicos têm demonstrado que na obesidade há elevação do débito cardíaco e apontam a expansão do volume sanguíneo como causa do aumento da pressão arterial. Outro mecanismo aventado é a diminuição da excreção de íons sódio, causado pelo hiperinsulinismo. Observou-se que o sistema renina-angiotensina-aldosterona está estimulado no obeso, especialmente nos indivíduos com obesidade abdominal, podendo também explicar o aumento da pressão arterial (Wirth, 1999).

Outra repercussão metabólica importante encontrada na obesidade está relacionada aos níveis adversos de lípidos. Vários estudos já demonstraram a associação entre obesidade e aumento dos níveis de colesterol total e de LDL (*low dense lipoprotein*) colesterol, com maior risco

para o desenvolvimento de doença aterosclerótica, e baixos níveis de HDL (*high dense lipoprotein*) colesterol, aumentando ainda mais este risco, por tratar-se da fração antiaterogênica (Sigulem *et al.*, 2000).

Sendo a doença aterosclerótica multifatorial, sua prevenção passa pela identificação e controle não só das dislipidemias, mas do conjunto dos fatores de risco. As espécies moleculares de lípides presentes no plasma mais importantes, do ponto de vista fisiológico e clínico, são os ácidos graxos, os triglicérides, os fosfolípidos e o colesterol (Manninen *et al.*, 1992).

Pela classificação laboratorial, as dislipidemias são chamadas de hipercolesterolemia isolada (elevação isolada do colesterol total – CT, em geral representada pelo aumento do LDL), hipertrigliceridemia isolada (elevação isolada dos triglicérides – TG, representada por aumento das VLDL, ou dos quilomícrons, ou de ambos), hiperlipidemia mista (valores aumentados do CT e dos TG) e HDL baixo (isolado ou em associação com o aumento de LDL ou triglicérides).

O risco da doença aterosclerótica é avaliado com base na análise conjunta de características e fatores que aumentam a chance de um indivíduo desenvolver a doença. A fração LDL-colesterol é considerada fator causal e independente de aterosclerose. A diminuição da morbimortalidade cardiovascular depende da ação sobre o LDL colesterol (Manninen *et al.*, 1992).

Os triglicérides são marcadores de dano endotelial, tanto pela geração de lipoproteínas mais densas e mais fáceis de serem oxidadas, como pela ativação do fator VII da coagulação, que exerce ação negativa da

fibrinólise. O aumento de produção hepática da VLDL (*very low dense lipoprotein*) em resposta a um aporte aumentado de ácido graxo, gera um defeito na lise do triglicéride, VLDL e dos quilomícrons, por alteração na enzima lipase lipoprotéica já alterada pela ação da hiperinsulina (Santomauro *et al.*, 1999). Os triglicérides obtidos do metabolismo hepático aumentado, são mais difíceis de serem metabolizados ou armazenados. O aumento dos quilomícrons e dos VLDL remanescentes gera uma partícula densa facilmente oxidada e glicosilada chamada *small dense* colesterol que são altamente aterogênicas (Ehara *et al.*, 2001).

As partículas *small dense* têm pobre afinidade de ligação pelo receptor hepático do LDL, permanecendo na circulação por um período maior de tempo. Os macrófagos captam o *small dense* LDL, produzindo uma grande quantidade de radicais livres. Estas partículas têm baixo grau de resistência à oxidação resultando numa captação de colesterol mais aumentada ainda. Os macrófagos secretam fatores pró-inflamatórios como a proteína C reativa e outras moléculas pós-aterogênicas (Ehara *et al.*, 2001). Portanto, por menos significativa que seja a queda de lipoproteínas, haverá sem dúvida uma diminuição de risco para o paciente.

Independente do risco, indica-se a todos os pacientes a mudança do estilo de vida. Por sua vez, a terapia medicamentosa depende da avaliação do nível de risco, aliado ao índice de LDL colesterol e a eficácia ou não das medidas comportamentais.

A obesidade tem uma relação com a insulino resistência que, por sua vez, é o fator patogênico mais importante no desenvolvimento do

diabetes tipo II e suas co-morbidades. A demonstração de que a perda de peso diminui a insulino resistência (IR) mostra que a obesidade não somente está relacionada com ela, como é a principal causadora. Acredita-se que o tecido adiposo funciona como órgão secretor de substâncias que se contrapõem à ação da insulina, piorando ainda mais esta ação ao nível de tecido adiposo (Boden, 2001).

É proposto o seguinte modelo para explicar a estreita correlação entre IR e massa gordurosa: a gordura estocada no tecido gorduroso causa elevação dos ácidos graxos livres circulantes (AG) que diminuem a ação da insulina em nível hepático causando, portanto, uma insulino resistência. Ao mesmo tempo, existe no músculo, uma ação deletéria do AG criando um outro tipo de resistência tecidual o que contribui ainda mais para a liberação de insulina pela célula beta que tenta corrigir o defeito às custas de maior produção de insulina, o que gera um ciclo vicioso ao estimular o fígado a uma maior produção de AG. Enquanto isso, em nível hipotalâmico, a leptina, hormônio do tecido adiposo, tenta inibir a fome. No entanto, a sua ação não é completa ao recado de saciedade, devido ao estado de insulino resistência hipotalâmica, gerado pela insulina e anterior à ação da leptina.

A excessiva estocagem de massa gordurosa causa elevação dos ácidos graxos livres circulantes. Elevações agudas de AG pioram a resistência à insulina proporcional a quantidade circulante dos AG; aumento de 1000 a 1200 $\mu\text{mol/L}$ abole o efeito de 400 a 500 pMol/L de insulina, que é a quantidade fisiologicamente secretada, após uma refeição rica em gordura em indivíduos não diabéticos (Santomauro *et al.*, 1999). Estes criam

resistência à ação da insulina ao nível de tecido muscular e, talvez do tecido hepático. Existe, por sua vez, um aumento na liberação de insulina pela célula beta, para tentar vencer a resistência contribuindo ainda mais para a síntese hepática de ácidos graxos (Chan *et al.*, 1994).

Além disso, o tecido gorduroso libera substâncias que se contrapõem ao efeito de insulina em animais de experimentação, tais como o fator de necrose tumoral e a resistina (Boden, 1997). Ainda não existem estudos em humanos comprovando a real ação de antagonismo do TNF- α à insulina.

Os ácidos graxos estão elevados na obesidade, sendo a resistência à insulina em indivíduos diabéticos, proporcional a quantidade de ácido graxo circulante (Boden, 2001).

O músculo é o órgão mais importante no estado pós-prandial para captar e transportar a glicose como fonte de energia. Excesso de ácido graxo circulante compete com a glicose ao nível muscular. O processo inicia-se com inibição da oxidação da glicose e culminando com a inibição da síntese de glicogênio. Portanto, temos no obeso, a primeira alteração de sensibilidade tecidual à insulina - o *músculo* (Boden, 2001; Ferranini *et al.*, 1997).

Os ácidos graxos acumulam-se no músculo e este acúmulo de gordura não utilizada leva a estimulação de mecanismos intracelulares via proteínocinase C (PKC) que, por sua vez, altera a fosforilação serina-treonina do receptor de insulina e do substrato do receptor de insulina

(IRS1), levando a um recado errôneo da insulina intracelular (Ferranini *et al.*, 1997).

A situação de obesidade inicialmente gera, por si só, aumento de produção de insulina. Esta, além de exercer sua função periférica ao nível de ácidos graxos, glicose e aminoácidos, tem importante papel ao nível cerebral para suprimir a ingestão alimentar. A insulina, ao contrário da leptina, guarda estreita relação com a disposição da massa gordurosa e não com a sua quantidade (Porte *et al.*, 1998).

O aumento de peso, no entanto, gera aumento de produção de insulina tentando com isso, uma maior difusão da mesma no sistema nervoso central a fim de regular a função neuronal na regulação da saciedade. Esta função central da insulina é independente da estimulação da captação da glicose pelos tecidos periféricos. Nesta situação, ela exerce ação de supressão da fome para limitar o ganho de peso (Awinbum *et al.*, 1997).

O aumento dos ácidos graxos derivados de lipólise, principalmente do tecido gorduroso visceral, levariam a um estímulo da célula beta contribuindo para a hiperinsulinemia. A cronicidade deste evento levaria a lipotoxicidade e conseqüente falência da célula, culminando no diabetes tipo II (Wirshing *et al.*, 1998).

***Objetivos e
Plano de trabalho***

3. OBJETIVOS E PLANO DE TRABALHO

Através deste estudo, estamos propondo um método que possa ser aplicado à monitorização das concentrações séricas de olanzapina (OLA) e de haloperidol (HA) e avaliando a relação leptina-neuropeptídeo Y em pacientes sob terapia antipsicótica, visando sua otimização.

Para cumprir tais objetivos, elaboramos o seguinte plano de trabalho:

- Padronizar e validar um método analítico que possa ser aplicado à monitorização das concentrações séricas de OLA e HA, concomitantemente, utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência;
- Aplicar a metodologia proposta a amostras de soro obtidas de pacientes submetidos à farmacoterapia;
- Avaliar os níveis séricos de leptina e de neuropeptídeo Y e a possível correlação com o ganho de peso durante o tratamento com OLA (fármaco de nova geração) e comparar com o HA (fármaco de uso tradicional);

- Detectar possíveis alterações bioquímicas (colesterol total e frações e triglicérides) decorrentes do tratamento com OLA em comparação com o HA;
 - Correlacionar as concentrações séricas da OLA e do HA com efeitos terapêuticos e/ou tóxicos.
-

***Material e
Métodos***

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Casuística

Foram avaliados pacientes com esquizofrenia, do ambulatório Hospital São Rafael em Salvador – BA e do Hospital Nossa Senhora Aparecida em Goiânia – GO. Entre os pacientes, 18 faziam uso de olanzapina em doses que variaram de 5-20 mg/dia ($11,3 \pm 4,3$ mg/dia) e 16 de haloperidol em doses que variaram de 5-20 mg/dia ($9,9 \pm 4,7$ mg/dia), ambos em regime de monoterapia. Os resultados gerados pelo grupo em uso de haloperidol serviram como padrão (referência) para aqueles encontrados com a olanzapina. O tempo médio de doença era de $5,53 \pm 5,44$ anos e a idade de início da doença $25,0 \pm 8,7$ anos.

Participaram do estudo, trinta e quatro (34) pacientes com idades entre 18 e 60 anos (35 ± 12 anos), do sexo masculino, altura média dos pacientes em uso de olanzapina foi de $1,65 \pm 0,09$ metros e em uso de haloperidol foi de $1,67 \pm 0,08$ metros; pontuando 60 ou mais na *Positive and Negative Symptoms Scale* (PANSS), sem uso de antipsicóticos por pelo menos 2 semanas. A escala é composta pelos 18 itens da BPRS – *Brief Psychiatry Rating Scale* – e 12 itens adicionais da *Psychopathology Rating Scale* (Kay *et al.*, 1989) (Anexo A).

As características de todos os participantes do estudo foram anotadas segundo modelo apresentado como Anexo B.

Os pacientes com esquizofrenia foram avaliados antes e depois do tratamento com olanzapina e haloperidol, tendo sido verificada a eficácia terapêutica através da PANSS; e realizaram a coleta de sangue a cada visita, de acordo com o protocolo de coleta (TABELA 6).

TABELA 6 – Protocolo de coleta de sangue dos participantes do estudo e análises a serem realizadas em cada etapa

Coleta de sangue	Análise a ser realizada
Antes de iniciar a farmacoterapia (basal)	Leptina, CT, TG, NPY
Na liberação médica (final da hospitalização)	Leptina, CT, TG, NPY, OLA ou HA
3 meses após a alta médica	Leptina, CT, TG, NPY, OLA ou HA
9 meses após a alta médica	Leptina, CT, TG, NPY, OLA ou HA

CT = colesterol total e frações, TG = triglicérides, NPY = neuropeptídeo Y, OLA = olanzapina e HA = haloperidol

Os pacientes e/ou seus responsáveis legais foram informados, em detalhes, oralmente e por escrito (Anexo C) sobre o estudo a ser realizado e forneceram o consentimento de participação livre e esclarecido por escrito conforme modelo apresentado no Anexo D. Este estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética da Escola Paulista de Medicina, em 1998.

Exames laboratoriais complementares em soro (colesterol total e frações, triglicérides, leptina, neuropeptídeo Y e olanzapina ou haloperidol) foram realizados para uma melhor avaliação clínica.

Realizaram-se análises descritivas dos dados através de medidas de posição e de dispersão (média, desvio padrão e coeficiente de variação). O nível de significância adotado para todas as avaliações foi de 5% ($p < 0,05$). Análise estatística foi realizada empregando-se o programa *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*, versão 10.0. No estudo das concentrações sérica em função do tempo foi utilizada a análise de variância ANOVA com medidas repetidas, com o objetivo de identificar se há diferença entre as médias populacionais devido a várias causas que atuam simultaneamente sobre os elementos da população. Para as correlações entre os parâmetros avaliados (peso, índice de massa corpórea, leptina, neuropeptídeo Y, perfil lipídico, concentrações séricas dos fármacos) foi usado o coeficiente de correlação de *Spearman*.

4.2 Material

4.2.1 Padrões

. Olanzapina - Laboratório Farmacêutico Elli Lilly do Brasil; clozapina (padrão interno - PI) - *Radian*; amitriptilina, clomipramina, imipramina, fluoxetina, trifluoperazina, haloperidol, risperidona - *Radian*.

4.2.2 Solventes e reagentes

- . Metanol (Ohminisolv[®]), acetonitrila (Ohminisolv[®]), *n*-heptano (para análise), álcool isoamílico (para análise), ácido acético – *Merck*;
- . Água ultrapura - *Barnstead Nanopure Infinity*;
- . Hidróxido de sódio, acetato de sódio e ácido ascórbico - (para análise) – *Merck*.

4.2.3 Soluções

- . Solução de hidróxido de sódio 1,25 *N*
- . Solução de *n*-heptano: álcool isoamílico (98: 2, v/v)
- . Solução de ácido ascórbico 0,25%
- . Solução de acetato de sódio 0,75 *N* em água ultrapura
- . Solução de ácido acético 0,75 *N*
- . Solução tampão de acetato de sódio 0,75 *N* diluído 50% em água ultrapura, pH 5,0

. Fase móvel

acetonitrila: tampão acetato de sódio 0,75 *N* diluído 50% pH 5,0
(1:2, v/v)

Fase móvel foi preparada, filtrada e desgaseificada sob pressão, através de filtro Durapore - 0,22 µm - Millipore.

- . Solução estoque de clozapina (padrão interno) a 1 mg/mL de metanol

- . Soluções trabalho de padrão interno (PI)

Alíquotas da solução estoque de clozapina foram diluídas em metanol e em soro a fim de se obter soluções de trabalho nas concentrações 25; 50; 100 e 1000 ng/mL.

- . Solução estoque de olanzapina (OLA) a 1 mg/mL de metanol

- . Solução trabalho de OLA

Alíquotas da solução estoque de olanzapina foram diluídas em metanol e em soro a fim de se obter soluções de trabalho nas concentrações de 0,5 a 500 ng/mL.

- . Solução estoque de interferentes a 1mg/mL de metanol

- . Solução trabalho de interferentes

Alíquotas da solução estoque de cada fármaco foram diluídas em metanol e em soro a fim de se obter soluções de trabalho nas concentrações: amitriptilina (200 ng/mL), clomipramina (250 ng/mL), imipramina (200 ng/mL); fluoxetina (400 ng/mL); trifluoperazina (200 ng/mL); haloperidol (20 ng/mL); risperidona (100 ng/mL).

4.2.4. Calibradores

Alíquotas da solução estoque do fármaco (4.2.3) foram convenientemente diluídas com soro branco de referência (4.2.7) para obtenção de calibradores nas concentrações 2,5; 5; 25; 50 e 100 ng/mL. Após a preparação dos calibradores, os mesmos foram divididos em tubos devidamente rotulados e identificados.

4.2.5 Controles

Alíquotas de uma nova solução estoque do fármaco (4.2.3) foram apropriadamente diluídas com soro branco de referência (4.2.7) para a obtenção de controles nas concentrações 10; 75 e 150 ng/mL. Após a preparação dos controles, os mesmos foram divididos em tubos devidamente rotulados e identificados.

Observação:

todas as soluções, calibradores e controles foram armazenados a temperatura de -20°C e ao abrigo da luz.

4.2.6 Equipamentos e acessórios

- Cromatógrafo a líquido de alta eficiência – *Shimadzu*, modelo LC-10VP (alça de 50 μ L);
- Fotômetro para leitura de placa (ELISA) - *Packard – Spectracount*;
- Contador gama – *Packard Instrument Company*;
- pHmetro - *Denver Instruments* – modelo 215;
- Colunas: Spherisorb S5W (150x4,6 mm), partículas de 5,0 μ m - *Waters*; CN (250x4,6 mm), partículas de 5,0 μ m - *Merck*;
- Balança analítica - *Denver Instruments* – modelo M2201-*Dräger do Brasil*;
- Ultra-som modelo T7 - *Thorton*;
- Agitador mecânico tipo vortex - *Barnsted*;
- Centrífuga - *Eppendorf* – modelo 5810;
- Bomba a vácuo - *Fabbe*;
- Destilador - desionizador de água – *Barnstead Nanopure Infinity*
- Seringa de vidro com capacidade para 100 μ L - *Hamilton*;
- Filtro Durapore - 0,22 μ m - *Millipore*;
- Tubos cônicos graduados e de vidro;
- Micropipetas automáticas, com volumes reguláveis, *Eppendorf*;
- Ponteiras;
- Vidraria para filtração da fase móvel e em geral - *Millipore*;
- Freezer –20°C e refrigerador - *Consul*.

4.2.7 Amostras

Soro

Soro humano, sorologicamente negativo para hepatite B, hepatite C, HIV, Chagas, sífilis, HTLV-I, gentilmente doado pela Fundação Pró-Sangue (Hemocentro de São Paulo). Este soro foi usado como branco de referência, após análise negativa quanto à presença dos fármacos de interesse.

Sangue

Amostras de sangue dos indivíduos sadios e pacientes em tratamento com o fármaco (olanzapina ou haloperidol) foram coletadas com tubos Vacuntainer[®]. A coleta de sangue foi realizada com jejum de 12 horas e antes da próxima dose de olanzapina/haloperidol. O sangue foi centrifugado (15 minutos a 3000 rpm) e a fração soro foi separada. O soro, adicionado de 10 µL de uma solução de ácido ascórbico 0,25%, foi armazenado a -20°C até o momento da análise cromatográfica.

4.3 Métodos

4.3.1 Determinação do fármaco em soro por cromatografia líquida de alta eficiência

4.3.1.1 *Otimização das condições cromatográficas*

Para otimização das condições cromatográficas, calibradores (4.2.4) nas concentrações 2,5; 5; 25; 50 e 100 ng/mL, foram transferidos para tubos e a cada um foram adicionados o padrão interno. As amostras foram submetidas ao procedimento de extração (4.3.1.2).

Para detecção do fármaco, empregou-se detector de absorvância na região do UV e a resposta a diferentes comprimentos de onda foi avaliada.

4.3.1.2 *Padronização do procedimento analítico de extração líquido-líquido da olanzapina em soro*

Um mililitro de soro foi transferido para tubo de vidro, ao qual foram adicionados 500 µL da solução de hidróxido de sódio 1,25 N e 50 µL da solução de clozapina (PI – 1000 ng/mL de metanol). A amostra foi submetida ao procedimento de extração com 5 mL de *n*-heptano: álcool isoamílico (98: 2, v/v), agitação por 5 min em agitador tipo vórtex. Após

centrifugação (15 minutos a 3000 rpm), a fase aquosa foi desprezada. A fase orgânica foi transferida para tubo cônico graduado e de vidro e evaporada até a secura em banho de água, à temperatura de 37°C e mediante fluxo de nitrogênio. Foram adicionados ao resíduo 100 µL da solução testada como fase móvel (4.2.3) e injetados, no cromatógrafo, 80 µL do resíduo reconstituído (alça de 50 µL), conforme mostrado na FIGURA 3.

4.3.2 Validação do método analítico

4.3.2.1 *Curva de calibração*

A curva de calibração foi elaborada a partir de amostras de soro calibradores (4.2.4), contendo o fármaco nas concentrações de 2,5; 5; 25; 50 e 100 ng/mL, os quais foram submetidos a procedimentos de extração conforme descrito em 4.3.1.2.

Foi construída, projetando-se no eixo das abcissas as concentrações séricas do fármaco (ng/mL) e no eixo das ordenadas as relações de áreas obtidas entre os picos da olanzapina e do padrão interno. A análise de regressão linear foi efetuada para obtenção da equação da reta.

Paralelamente à construção de cada curva de calibração, foram analisados controles (4.2.5): alto (150 ng/mL), médio (75 ng/mL), baixo (10 ng/mL). Os ensaios foram realizados em triplicatas.

4.3.2.2 *Limites de detecção e de quantificação*

O limite de detecção (LOD), considerado como a menor concentração que pode ser diferenciada do ruído de base, foi obtido por diluições sucessivas das soluções de trabalho da olanzapina, em diversas concentrações, as quais foram transferidas para tubos de vidro e submetidas ao procedimento de extração conforme descrito no item 4.3.1.2.

O limite de quantificação (LOQ), considerado a menor concentração onde o coeficiente de variação obtido foi inferior a 10%, em cinco determinações, foi obtido em amostras de soro calibradores diluídas, apresentando diferentes concentrações da olanzapina, as quais foram submetidas ao procedimento de extração e quantificação conforme descrito em 4.3.1.2 e 4.3.2.1, respectivamente. A relação das áreas da olanzapina e do padrão interno foi empregada no cálculo do coeficiente de variação.

Os ensaios foram efetuados em quintuplicatas.

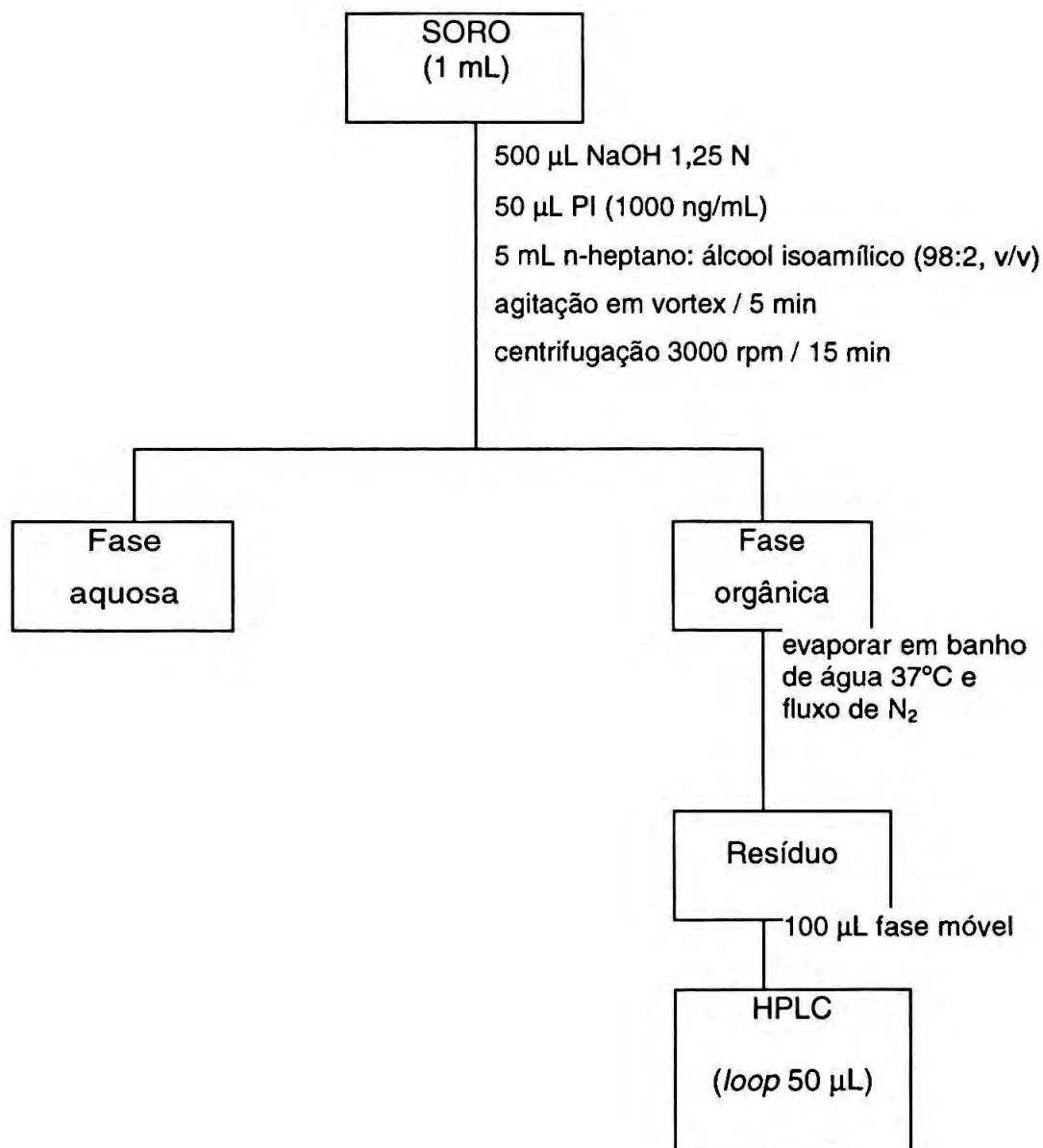


FIGURA 3 – Procedimento analítico de extração líquido-líquido da olanzapina em soro

4.3.2.3 Linearidade

Para avaliação da região linear de resposta do detector a diferentes concentrações do fármaco, alíquotas de 1 mL das soluções do fármaco nas concentrações 0,5 a 500 ng/mL, preparadas a partir da solução estoque de olanzapina (4.2.3), foram transferidas para tubos de vidro, juntamente com o padrão interno e submetidas ao procedimento de extração (4.3.1.2) e quantificação (4.3.2.1). Os ensaios foram realizados em triplicata e a análise de regressão linear foi elaborada para obtenção da equação da reta.

4.3.2.4 Recuperação

No estudo da recuperação da olanzapina e do padrão interno foram empregadas amostras de soro controles contendo o fármaco nas concentrações 10; 75 e 150 ng/mL (baixa, média e alta) e o padrão interno nas concentrações 25, 50 e 100 ng/mL, as quais foram submetidas ao procedimento de extração e quantificação, conforme descrito nos itens 4.3.1.2 e 4.3.2.1. Alíquotas de 1 mL das soluções do fármaco e do padrão interno nas concentrações descritas foram transferidas para tubos cônicos, submetidas à evaporação em banho de água à temperatura de 37°C, sob fluxo de nitrogênio, até resíduos. Estes foram ressuspensos e cromatografados conforme condições otimizadas (4.3.1.1).

A comparação da relação de áreas do fármaco e do padrão interno extraídos com a relação das áreas do fármaco e do padrão interno não extraídos permitiu a determinação da recuperação.

Foram analisadas dez alíquotas de cada uma das concentrações acima citadas.

4.3.2.5 *Precisão*

Para a avaliação da precisão do procedimento analítico, amostras de soro controles (4.2.5) contendo o fármaco nas concentrações 10; 75 e 150 ng/mL foram submetidas aos procedimentos de extração e quantificação do fármaco, conforme descritos nos itens 4.3.1.2 e 4.3.2.1, respectivamente. Os ensaios foram realizados em dez replicatas e em três dias alternados.

4.3.2.6 *Exatidão*

A exatidão do método foi averiguada através da comparação dos resultados das análises das amostras adicionadas (controles baixo, médio e alto) obtidos pelo método proposto com a média dos resultados obtidos por diferentes pesquisadores. A análise foi realizada pelo investigador principal e, concomitantemente, por outros investigadores que estiveram “cegos” para a identificação e concentração do fármaco. A análise cromatográfica foi realizada, independentemente, pelos investigadores e os resultados foram comparados ao final do ensaio. Os ensaios foram realizados em quintuplicatas.

4.3.2.7 Especificidade

Para detectar possíveis interferências de fármacos administrados em associação com a olanzapina para o tratamento da esquizofrenia, submeteu-se as soluções padrão dos fármacos de interesse descritos na TABELA 7, em concentrações iguais às terapêuticas, à técnica cromatográfica proposta, aguardando-se tempo de desenvolvimento cromatográfico de 30 min.

TABELA 7 – Fármacos testados como possíveis interferentes e suas concentrações

Fármaco	Concentração (ng/mL)
Amitriptilina	200
Clomipramina	250
Imipramina	200
Fluoxetina	400
Trifluoperazina	200
Haloperidol	20
Risperidona	100

4.3.2.8 Estabilidade da olanzapina na amostra biológica

Para a avaliação da estabilidade do fármaco de interesse, amostras controles contendo o mesmo nas concentrações de 10; 75 e 150 ng/mL foram submetidas, em dez replicatas, a procedimentos de extração e quantificação, conforme descrito nos itens 4.3.1.2 e 4.3.2.1, respectivamente.

As amostras foram acondicionadas em tubos de vidro, armazenadas à temperatura ambiente (alíquota A), a 4°C (alíquota B) e a -20°C (alíquota C), todas ao abrigo da luz. Foram analisadas no “tempo zero” (antes dos ciclos de refrigeração ou congelamento) e após um período de 8 e 24 horas, 30, 45 e 60 dias decorrentes da preparação das mesmas.

Também foi verificada a influência do ácido ascórbico (10 µL de uma solução 0,25%), como antioxidante, na preservação da olanzapina.

Os resultados obtidos com as alíquotas A, B e C foram comparados com aqueles obtidos antes dos ciclos de refrigeração ou congelamento e utilizados para calcular os coeficientes de variação.

4.3.3 Determinação das concentrações séricas de olanzapina em pacientes com esquizofrenia

Amostras de soro de pacientes, armazenadas a -20°C, foram descongeladas à temperatura ambiente e submetidas, em duplicata, ao procedimento de determinação e quantificação de olanzapina conforme itens 4.3.1.2. e 4.3.2.1.

4.3.4 Avaliação laboratorial

Os exames bioquímicos (colesterol total e frações e os triglicérides) foram executados com emprego de *kits*-diagnósticos – *DiaSys Diagnostic Systems* - Alemanha, em fotômetro para leitura de placa.

Determinação sérica de leptina foi realizada empregando-se um kit-diagnóstico (imunoensaio em fase sólida - ELISA) - *R&D Systems Inc* - USA.

Determinação sérica de neuropeptídeo Y (NPY) foi realizada por radioimunoensaio em fase sólida (*Cayman Inc* – USA).

Todas as análises seguiram as normas de boas práticas de laboratório recomendadas.

4.3.5 Avaliação clínica

O diagnóstico de esquizofrenia foi obtido, segundo os critérios do DSM IV (APA, 1994) e os pacientes com esquizofrenia foram avaliados antes e após o início da farmacoterapia com o auxílio da PANSS.

As medidas antropométricas (peso e altura) foram obtidas para o cálculo do índice de massa corpórea (IMC) pela fórmula: $\text{peso}/\text{altura}^2$, sendo o peso verificado a cada avaliação clínica.

Resultados

5. RESULTADOS

5.1 Determinação das concentrações séricas de olanzapina por cromatografia líquida de alta eficiência

5.1.1 Otimização das condições cromatográficas

Foram realizadas diversos ensaios preliminares na tentativa de otimização das condições cromatográficas, entretanto, foram estabelecidas como ideais, as seguintes condições:

- Fase móvel: tampão de acetato de sódio 0,75 *N* diluído 50%:
acetonitrila (1: 2, v/v)
 - Fluxo: 0,8 mL/min
 - Pressão: 128-130 kgf
 - Detector: por absorvância no UV ($\lambda = 254$ nm)
 - Coluna: CN – Merck, (250 x 4,6 mm), partículas de 5,0 μ m
 - Volume de amostra: 1 mL
 - Volume de injeção: 50 μ L
 - Padrão interno: 50 μ L solução clozapina (1000 ng/mL)
 - Tempo de análise: 10 minutos
-

5.1.2 Padronização do procedimento analítico de extração líquido-líquido de olanzapina em soro

Amostras de soro tratadas segundo 4.3.1.2 e cujos resíduos foram retomados com 100 μ L da fase móvel escolhida, foram agitadas em vórtex e cromatografadas segundo 5.1.1.

Na FIGURA 4 está ilustrado o cromatograma referente à amostra de soro branco de referência enriquecido com olanzapina e PI.

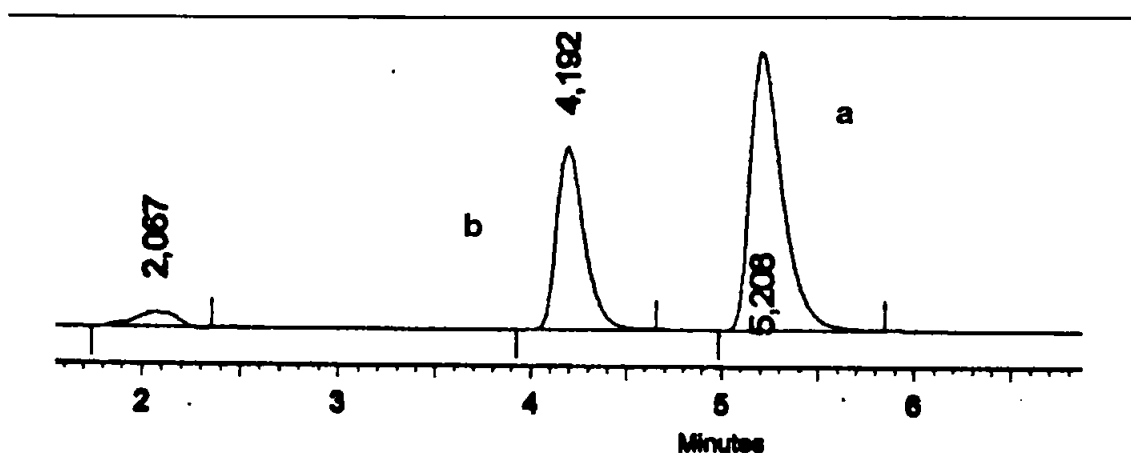


FIGURA 4 - Cromatograma (HPLC) referente a amostra de soro enriquecido com olanzapina (a) e padrão interno (b)

Coluna: CN - Merck (250 x 4,6 mm), partículas de 5,0 μ m

Fase móvel: tampão de acetato de sódio 0,75 N diluído 50%:
acetonitrila (1:2, v/v)

Fluxo: 0,8 mL/min

Detector: por absorvância no UV ($\lambda = 254$ nm)

5.2 Validação do método analítico

5.2.1 Curva de Calibração

A curva de calibração da olanzapina, elaborada conforme 4.3.2.1 e apresentada na FIGURA 5, foi obtida a partir das relações de áreas obtidas entre os picos da olanzapina e do padrão interno. A análise de regressão linear foi efetuada para obtenção da equação da reta: $y = 0,0183.X - 0,0483$; coeficiente de correlação (r) igual a 0,9988.

5.2.2 Limites de Detecção e de Quantificação

O limite de detecção do método foi de 0,25 ng/mL, com desvio padrão de 0,003 e coeficiente de variação de 11,2%, nas condições padronizadas.

O limite de quantificação do método foi de 0,50 ng/mL, com desvio padrão de 0,002 e coeficiente de variação de 6,5%, nas condições padronizadas.

5.2.3 Linearidade

A resposta do detector, avaliada segundo 4.3.2.3, mostrou-se linear para concentrações do fármaco de 0,5 ng/mL a 500 ng/mL, com equação da

reta igual a $y = 0,0173.X - 0,0232$ e coeficiente de correlação (r) igual a 0,9998. Na FIGURA 6 observa-se a linearidade da resposta do detector a diversas concentrações de olanzapina.

5.2.4 Recuperação

A recuperação média da olanzapina, determinada através das análises das amostras enriquecidas, foi de 86,13% e do padrão interno foi de 89,44%. Os resultados obtidos estão apresentados na TABELA 8.

5.2.5 Precisão

A TABELA 9 apresenta os coeficientes de variação das concentrações de olanzapina adicionada ao soro branco de referência, determinados intra e interensaio.

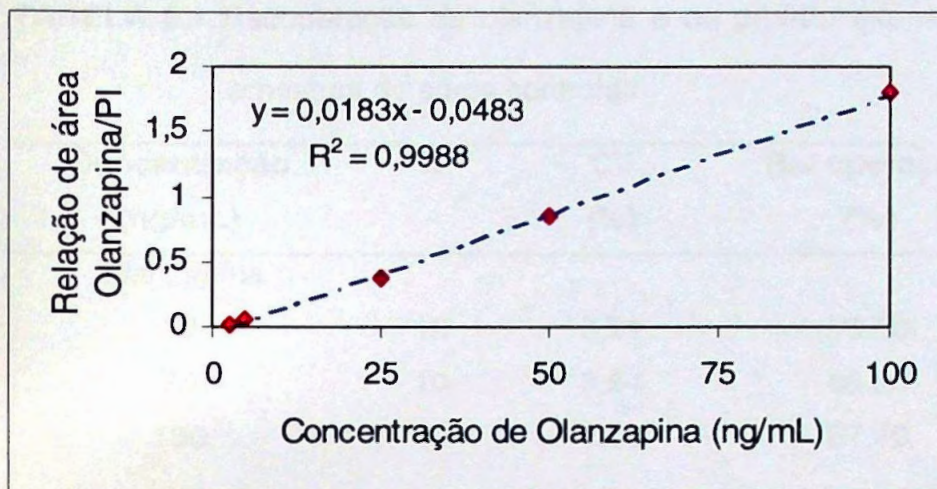


FIGURA 5 – Representação gráfica da curva de calibração

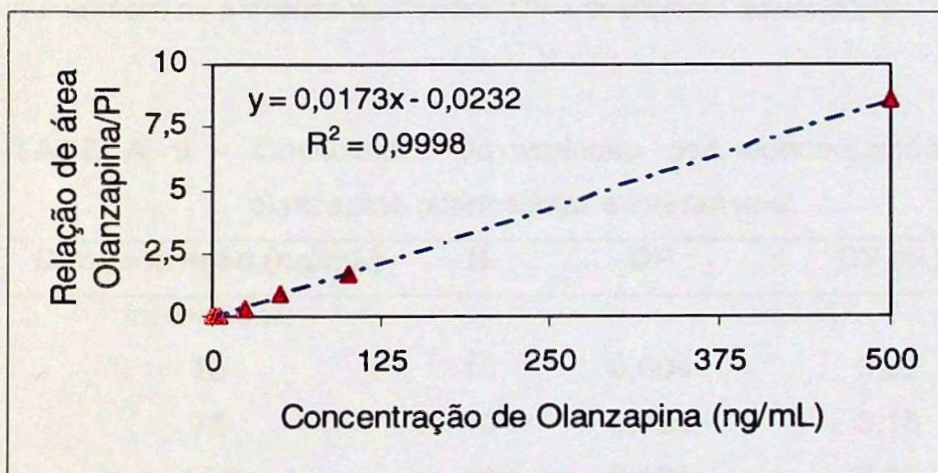


FIGURA 6 - Representação gráfica da linearidade da resposta do detector a diferentes concentrações de olanzapina.

TABELA 8 - Recuperação da olanzapina e do padrão interno nas amostras de soros controles

Concentração (ng/mL)	N	CV (%)	Recuperação (%)
<i>Olanzapina</i>			
10	10	3,91	86,00
75	10	3,54	85,30
150	10	3,00	87,10
<i>Padrão interno</i>			
25	10	3,42	86,20
50	10	3,64	88,91
100	10	3,00	93,20

n = número de amostras analisadas, CV = coeficiente de variação

TABELA 9 - Coeficientes de variação das concentrações de olanzapina obtidos intra e interensaio

Concentração (ng/mL)	N	DP	CV (%)
<i>Intra-ensaio</i>			
10	10	0,004	3,22
75	10	0,060	3,18
150	10	0,132	3,06
<i>Interensaio</i>			
10	30	0,003	3,11
75	30	0,058	3,12
150	30	0,143	3,26

n = número de amostras analisadas, DP = desvio padrão, CV = coeficiente de variação

5.2.6 Exatidão

Os resultados das análises dos soros realizadas por diferentes pesquisadores, obtidos pelo método proposto e comparados à quantidade adicionada, estão na TABELA 10.

TABELA 10 – Comparação dos resultados das concentrações de olanzapina obtidos pelo método proposto com a concentração média encontrada

Amostras	Concentração adicionada (ng/mL)	Concentração média obtida (n = 3) (ng/mL)	CV (%)
<i>A</i>	10,0	9,6	4,00
<i>B</i>	75,0	71,2	5,07
<i>C</i>	150,0	143,7	4,20

n - número de pesquisadores que realizaram a análise e cujos resultados foram usados para o cálculo da média, CV = coeficiente de variação

5.2.7 Estudo de Interferentes

Na TABELA 11 estão descritos os fármacos, considerados como possíveis interferentes na determinação da olanzapina, a OLA, o PI e os respectivos tempos de retenção absolutos. Os fármacos assinalados como não detectados não eluíram nas condições padronizadas, no intervalo de 0 a 30 minutos.

TABELA 11 - Tempos de retenção da olanzapina, padrão interno e alguns fármacos testados como interferentes

FÁRMACO	TR (min)
Olanzapina	5,2
PI	4,2
Amitriptilina	9,1
Clomipramina	11,5
Imipramina	10,0
Fluoxetina	8,2
Trifluoperazina	ND
Risperidona	ND
Haloperidol	7,0

TR = tempo de retenção, ND = não detectado no intervalo de 0 a 30 min

5.2.8 Estabilidade

As amostras de soro controle contendo olanzapina na concentração de 10; 75 e 150 ng/mL, apresentaram-se estáveis durante 24 horas, quando armazenadas à temperatura ambiente; durante um período de 15 dias à temperatura de 4°C e, finalmente, 45 dias quando armazenadas à temperatura de -20°C. No entanto, amostras de soro controle contendo olanzapina nas mesmas concentrações acima mencionadas, às quais foram adicionadas ácido ascórbico (10 µL de uma solução 0,25%), apresentaram-se estáveis durante 24 horas, quando armazenadas à temperatura ambiente; durante um período de 30 dias à temperatura de 4°C e, finalmente, 60 dias

quando armazenadas à temperatura de -20°C . Todas as amostras foram armazenadas ao abrigo da luz.

5.3. Determinação das concentrações séricas de olanzapina e de haloperidol em pacientes com esquizofrenia

A concentração média dos níveis séricos de olanzapina (OLA) na visita 1 foi de $24,7 \pm 9,9$ ng/mL; na visita 2 foi de $24,1 \pm 9,4$ ng/mL; na visita 3 foi de $23,7 \pm 8,6$ ng/mL. A média das determinações cromatográficas da olanzapina no soro dos pacientes avaliados nas diferentes visitas foi $24,2$ ng/mL (DP = 9,4; n = 18).

Para o haloperidol (HA), a média dos níveis séricos na visita 1 foi de $10,3 \pm 5,8$ ng/mL; na visita 2 foi de $10,6 \pm 4,9$ ng/mL; na visita 3 foi de $10,9 \pm 5,7$ ng/mL; sendo a concentração média dos níveis séricos de HA durante o período de tratamento de $10,6$ ng/mL (DP = 5,6; n = 16).

Através dos resultados obtidos, verificou-se a existência de uma forte correlação entre as concentrações séricas médias de OLA ($p < 0,001$ e $r = 0,72$) e de HA ($p < 0,001$ e $r = 0,86$), frente a diferentes doses dos respectivos fármacos administrados diariamente a pacientes com esquizofrenia.

Foi encontrada também uma correlação estatisticamente significativa entre as concentrações séricas de OLA e a variação do peso ao longo do

tempo ($r = 0,53$, $p < 0,05$), embora não se tenha verificado correlação entre concentrações séricas de OLA e a variação de leptina ($r = 0,19$, $p = 0,44$).

Não foi encontrada uma correlação entre as concentrações séricas de HA e a variação do peso ao longo do tempo ($r = 0,03$, $p = 0,37$), e nem com a variação de leptina ($r = 0,24$, $p = 0,37$).

5.4. Avaliação laboratorial

5.4.1 Níveis séricos de leptina e de neuropeptídeo Y

Os níveis séricos de leptina, de neuropeptídeo Y (NPY) e, ainda, o peso dos pacientes foram obtidos antes do início do tratamento com olanzapina ou haloperidol (basal); na liberação médica (final da hospitalização – visita 1); três meses após a alta médica (visita 2) e nove meses após a alta médica (visita 3).

Os resultados da variação da leptina e do NPY no soro dos pacientes avaliados, a cada visita, estão apresentados na TABELA 12

A maioria dos pacientes avaliados (25/34; 73,5%) teve um ganho de peso e aumento dos níveis séricos de leptina e (18/34; 52,9%) nos níveis de NPY.

Os níveis séricos de leptina aumentaram em média $5,9 \pm 9,7$ ng/mL em pacientes usando OLA e $2,2 \pm 6,3$ ng/mL em pacientes usando HA.

Os níveis séricos de NPY aumentaram em média $11,0 \pm 16,3$ pMol/L em pacientes usando OLA e $2,6 \pm 12,1$ pMol/L em pacientes usando HA. Foi verificada uma correlação negativa entre os níveis séricos de NPY e a concentração média de OLA ($r = -0,65$; $p < 0,01$). Na FIGURA 7 é possível perceber uma maior variação nos níveis de NPY nas duas últimas visitas clínicas, em pacientes sob terapia com OLA.

TABELA 12 – Valores de peso, índice de massa corpórea, leptina e neuropeptídeo Y nos pacientes antes e durante o tratamento com olanzapina e haloperidol

Tratamento	Basal		Visita 1		Visita 2		Visita3	
	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP
Olanzapina* (n = 18)	-							
Peso (kg)	$63,3 \pm 9,1$		$64,7 \pm 8,9$		$68,3 \pm 11,1$		$70,3 \pm 12,7$	
IMC (kg/m ²)	$22,7 \pm 2,6$		$23,6 \pm 2,8$		$24,1 \pm 3,4$		$25,2 \pm 4,2$	
Leptina (ng/mL)	$7,9 \pm 4,4$		$8,8 \pm 4,9$		$10,3 \pm 6,3$		$13,8 \pm 8,4$	
NPY (pMol/L)	$39,8 \pm 11,3$		$40,1 \pm 11,7$		$42,5 \pm 14,9$		$50,8 \pm 23,3$	
Haloperidol* (n = 16)								
Peso (kg)	$69,0 \pm 18,7$		$69,1 \pm 17,4$		$70,9 \pm 18,8$		$74,9 \pm 21,5$	
IMC (kg/m ²)	$24,4 \pm 5,6$		$24,4 \pm 5,1$		$25,1 \pm 5,8$		$27,0 \pm 7,1$	
Leptina (ng/mL)	$6,7 \pm 4,9$		$7,2 \pm 6,1$		$7,9 \pm 6,5$		$9,1 \pm 7,1$	
NPY (pMol/L)	$37,8 \pm 12,0$		$38,0 \pm 11,6$		$38,8 \pm 13,3$		$40,4 \pm 15,5$	

* valores médios obtidos de 2 replicatas

X = média, DP = desvio padrão

Após o tratamento, o peso corporal aumentou em média $7,0 \pm 7,7$ kg para pacientes em uso de OLA e $5,9 \pm 5,5$ kg para pacientes em uso de HA. As FIGURAS 8 e 9 mostram, respectivamente, o ganho de peso induzido pelos antipsicóticos e a variação no índice de massa corpórea (IMC) ao longo do tratamento.

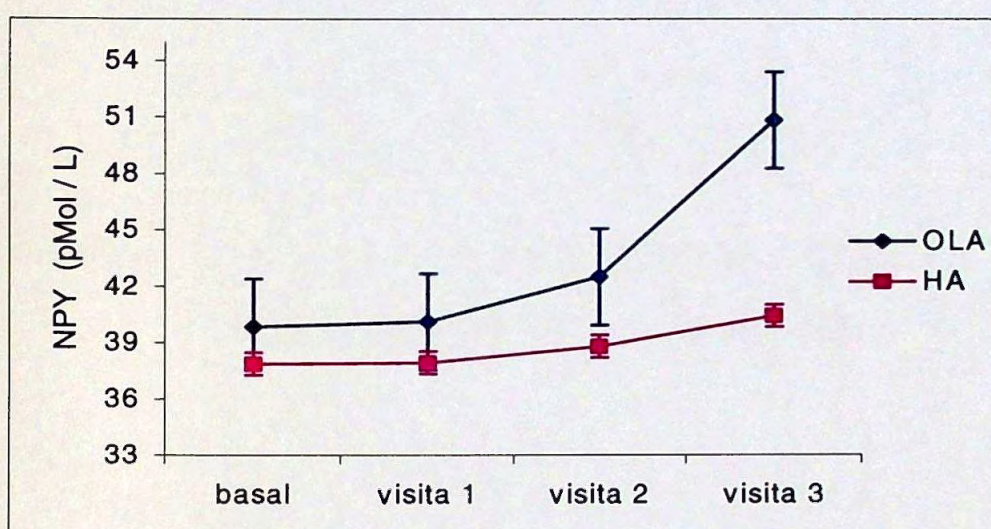


FIGURA 7 – Aumento dos níveis séricos de neuropeptídeo Y durante o tratamento com olanzapina (OLA) e haloperidol (HA)

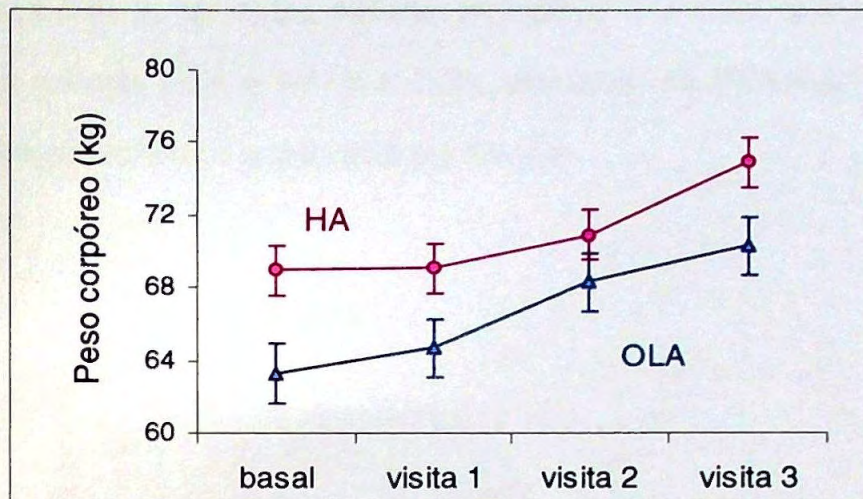


FIGURA 8 – Ganho de peso induzido por olanzapina (OLA) e haloperidol (HÁ) durante as visitas clínicas

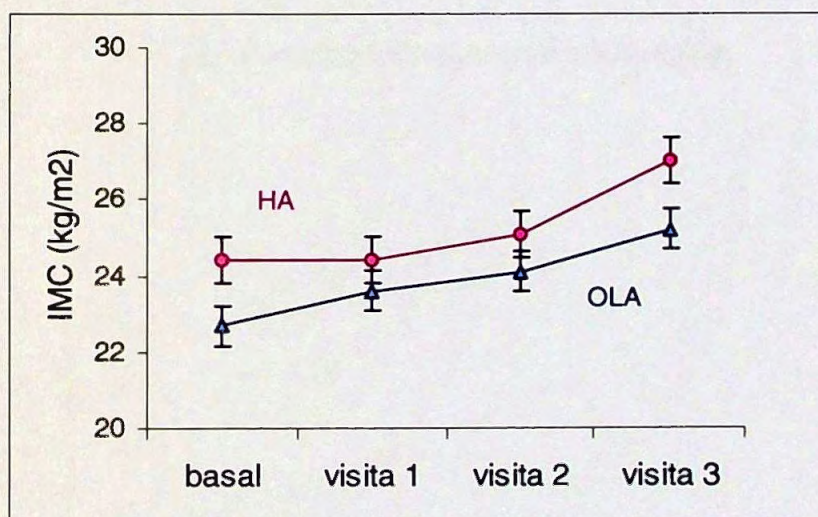


FIGURA 9 – Aumento do índice de massa corpórea (IMC) ao longo do tratamento com olanzapina (OLA) e haloperidol (HA)

Há uma correlação positiva entre o ganho de peso e/ou índice de massa corpórea e os níveis séricos de leptina ($r = 0,64$, $p < 0,001$) para pacientes usando OLA e HA ($r = 0,73$, $p < 0,001$). As FIGURAS 10 e 11 permitem a visualização entre estas correlações.

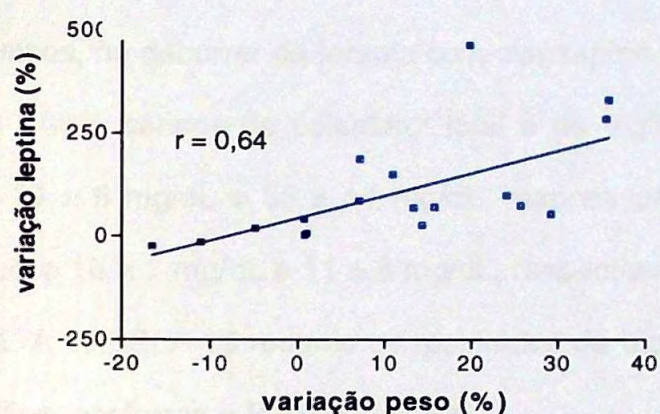


FIGURA 10 – Análise de correlação entre a variação de peso e de leptina induzida pela olanzapina

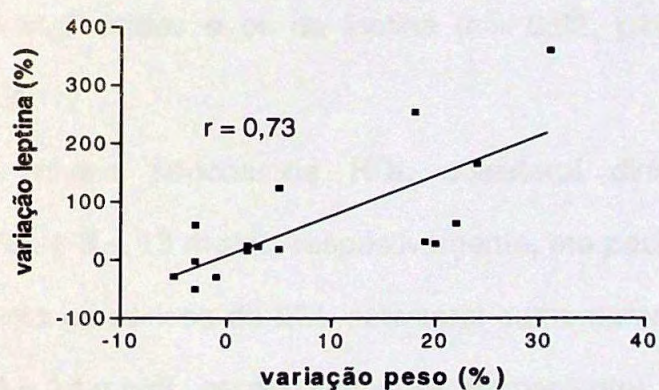


FIGURA 11 - Análise de correlação entre a variação de peso e de leptina induzida pelo haloperidol

5.4.2. Perfil lipídico

A maioria dos pacientes avaliados (25/34; 73,5%) teve um aumento dos níveis séricos de colesterol total e de triglicérides.

As FIGURAS 12 e 13, demonstram, respectivamente, a alteração nos níveis séricos de triglicérides e colesterol total em pacientes esquizofrênicos, no decorrer da terapia com olanzapina e haloperidol.

Os níveis séricos de colesterol total e de triglicérides aumentaram em média 19 ± 8 mg/dL e 35 ± 11 mg/dL, respectivamente, em pacientes usando OLA e 16 ± 7 mg/dL e 11 ± 6 mg/dL, respectivamente, em pacientes usando HA. A TABELA 13 resume os resultados de triglicérides e colesterol total e frações, conforme a farmacoterapia.

Existe uma correlação positiva entre o ganho de peso e/ou índice de massa corpórea e a variação dos níveis séricos de colesterol total ($r = 0,79$, $p < 0,001$) e triglicérides ($r = 0,84$, $p < 0,001$) para a OLA.

Também foi encontrada uma correlação positiva entre os níveis séricos de triglicérides e os de leptina ($r = 0,62$, $p < 0,01$) para pacientes usando OLA.

Os níveis séricos de HDL colesterol diminuíram em média 9 ± 12 mg/dL e 3 ± 13 mg/dL, respectivamente, em pacientes usando OLA e HÁ, enquanto os séricos de LDL colesterol aumentaram em média 21 ± 15 mg/dL e 15 ± 14 mg/dL, respectivamente, em pacientes usando OLA e HA.

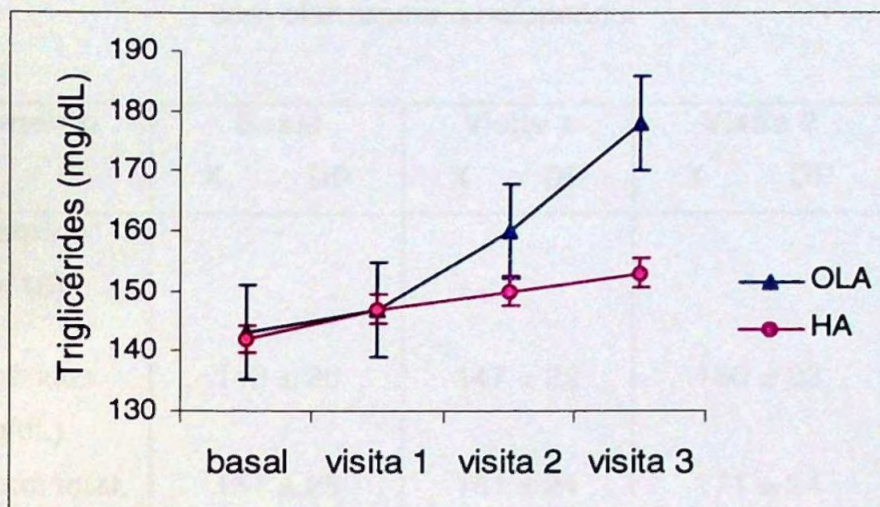


FIGURA 12 - Variação nos níveis séricos de triglicérides em esquizofrênicos, no decorrer da terapia com olanzapina (OLA) e haloperidol (HA).

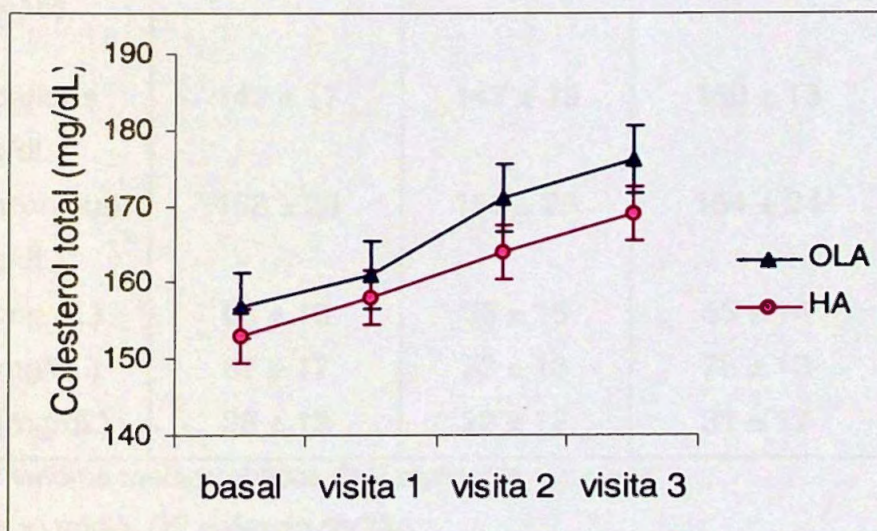


FIGURA 13 - Variação nos níveis séricos de colesterol total em esquizofrênicos, no decorrer da terapia com olanzapina (OLA) e haloperidol (HA).

TABELA 13– Perfil lipídico dos pacientes antes e durante o tratamento com olanzapina e haloperidol

Tratamento	Basal		Visita 1		Visita 2		Visita3	
	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP
Olanzapina* (n = 18)	-							
Triglicérides (mg/dL)	143 ± 26		147 ± 22		160 ± 22		178 ± 41	
Colesterol total (mg/dL)	157 ± 25		161 ± 24		171 ± 24		176 ± 31	
HDL (mg/dL)	52 ± 11		49 ± 14		45 ± 10		43 ± 12	
LDL (mg/dL)	76 ± 13		80 ± 13		92 ± 17		97 ± 16	
VLDL (mg/dL)	28 ± 10		30 ± 11		33 ± 14		36 ± 13	
Haloperidol* (n = 16)								
Triglicérides (mg/dL)	142 ± 17		147 ± 13		150 ± 13		153 ± 20	
Colesterol total (mg/dL)	153 ± 28		158 ± 25		164 ± 24		169 ± 29	
HDL (mg/dL)	58 ± 10		56 ± 15		55 ± 14		55 ± 12	
LDL (mg/dL)	67 ± 17		73 ± 13		78 ± 13		82 ± 15	
VLDL (mg/dL)	28 ± 13		29 ± 12		31 ± 17		32 ± 12	

* valores médios obtidos de 2 replicatas

X = média, DP = desvio padrão

Os valores de referência para CT, LDL e HDL nos adultos (idade >20 anos), atualmente aceitos, são os recomendados pelas Sociedade Brasileira de Cardiologia, de Patologia Clínica e de Análises Clínicas. Os valores para os TG são os recomendados pela Sociedade Européia de Aterosclerose: CT <200 mg/dL; LDL<130 mg/dL; HDL>35mg/dL; TG <200 mg/dL.

5.5 Avaliação Clínica

A maioria dos pacientes avaliados (24/34 ;70,6%) teve uma melhora clínica, o que pode ser observado pelos valores na escala PANSS (TABELA 14).

Não foram encontradas correlações entre as doses administradas de OLA e as variações nas sintomatologias positiva ($p = 0,59$ e $r = -0,14$), negativa ($p = 0,28$ e $r = 0,27$) e geral ($p = 0,06$ e $r = 0,83$) e nem para as de HA com as variações nas sintomatologias positiva ($p = 0,28$ e $r = -0,28$), negativa ($p = 0,11$ e $r = -0,40$) e geral ($p = 0,27$ e $r = -0,29$). Entretanto, foi evidenciada uma correlação entre concentração sérica de OLA e a sintomatologia negativa ($p < 0,01$ e $r = 0,61$).

Os pacientes tiveram uma redução significativa na pontuação da escala PANNS após 9 meses de tratamento com antipsicóticos: de nova geração e tradicional, conforme mostra a TABELA 14. Não há diferenças entre os grupos tratados com olanzapina ou haloperidol, com relação aos sintomas positivo ($p = 0,47$), negativo ($p = 0,42$) e geral ($p = 0,50$).

Foram estudadas as correlações dos parâmetros: concentrações séricas de leptina, de colesterol total e triglicérides com os sintomas medidos pela PANSS para os pacientes avaliados. Houve correlação entre a melhora na sintomatologia positiva e os níveis séricos de triglicérides ($r = 0,55$, $p < 0,05$) e entre uma melhora psicopatologia geral e a variação da leptina ($r = 0,54$, $p < 0,05$) para pacientes sob uso de olanzapina, mas não para aqueles fazendo uso de haloperidol.

TABELA 14 - Pontuação na escala PANNS antes e depois (9 meses) do tratamento com olanzapina e haloperidol

Tratamento	Basal		Visita3	
	X	DP	X	DP
Olanzapina (n = 18)				
Sintomas Positivos	26,11	± 6,52	16,47	± 7,11
Sintomas Negativos	25,94	± 5,84	19,47	± 5,96
Psicopatologia Geral	43,56	± 7,18	31,59	± 9,23
Haloperidol (n = 16)				
Sintomas Positivos	20,9	± 4,9	13,0	± 6,1
Sintomas Negativos	24,6	± 6,6	20,0	± 6,6
Psicopatologia Geral	42,1	± 9,8	30,8	± 9,7

X = média, DP = desvio padrão

Discussão

6. DISCUSSÃO

Este é um projeto, realizado em parceria com a Escola Paulista de Medicina, que faz parte de um estudo randomizado, naturalístico, multicêntrico, onde participaram 200 pacientes com diagnóstico de esquizofrenia (DSM-IV) (APA, 1994), incluídos em três centros urbanos brasileiros distantes geográfica e culturalmente entre si (Caxias, Salvador e Goiânia), iniciado em 1999. No entanto, somente a partir do primeiro trimestre do ano de 2000, a participação do Laboratório de Neurociências foi efetivada.

O primeiro aspecto que chama a atenção neste estudo é o tamanho reduzido da amostra (trinta e quatro pacientes) em relação ao número de pacientes que se apresentaram para o estudo propriamente dito. Como a participação do laboratório neste estudo iniciou-se efetivamente no ano de 2000, a avaliação dos pacientes da cidade de Caxias já havia terminado, portanto, uma parte dos pacientes não entrou no nosso sub-grupo.

Perdas no decorrer do estudo aconteceram (aproximadamente 16%) e buscando minimizar a perda de informação por paciente incluído; foi realizada minuciosa busca de dados nos documentos fontes e, eventualmente, contactados novamente pacientes e familiares. No entanto, em termos de análises laboratoriais, alguns destes pacientes tiveram que ser

excluídos, pois algumas coletas de sangue apresentavam-se inadequadas para análise ou não foram enviadas adequadamente ao laboratório de Neurociências.

Do total de 86 pacientes, dos quais foram enviadas amostras ao laboratório, 46 deles faziam uso de outros antipsicóticos que não OLA ou HÁ ou foram submetidos a regime de politerapia (associação com outros antipsicóticos ou com fármacos de diferente classe farmacológica), pelo menos no momento inicial do estudo. Do universo de 50 pacientes que faziam uso de olanzapina ou haloperidol, em regime de monoterapia, uma parcela (16 pacientes) foi excluída posteriormente, pois era do sexo feminino e possuía níveis séricos de leptina elevados, deslocando a média do grupo. Portanto, foram avaliados neste estudo trinta e quatro (34) pacientes com idades entre 18 e 60 anos (35 ± 12 anos), do sexo masculino, pontuando 60 ou mais na *Positive and Negative Symptoms Scale* (PANSS), sem uso de antipsicóticos por pelo menos 2 semanas, oriundos do ambulatório Hospital São Rafael em Salvador – BA e do Hospital Nossa Senhora Aparecida em Goiânia – GO. Entre os pacientes, 18 faziam uso de olanzapina em doses que variaram de 5-20 mg/dia ($11,3 \pm 4,3$ mg/dia) e 16 de haloperidol em doses que variaram de 5-20 mg/dia ($9,9 \pm 4,7$ mg/dia), ambos em regime de monoterapia.

Os antipsicóticos de nova geração têm demonstrado indiscutíveis vantagens terapêuticas frente aos antipsicóticos típicos ou convencionais. Tais vantagens comprovam-se especialmente em melhor perfil de tolerabilidades extrapiramidal e neuroendócrina, além de uma inédita

eficácia sobre os sintomas negativos da esquizofrenia crônica, com uma adicional demonstração de utilidade em outros quadros neuropsiquiátricos graves, com morbidade considerável, como as psicoses afetivas. Este novo perfil clínico-farmacológico possibilitou que, para muitos, o seu surgimento representasse o prenúncio de uma nova revolução terapêutica na especialidade, equivalente à iniciada nos anos 50 com o advento dos antipsicóticos típicos. Seja como for, inegavelmente, passam a representar uma nova e importante esperança para a imensa população de psicóticos crônicos, institucionalizados ou não, em todo o mundo.

Entretanto, é sabido que o índice de descumprimento nos tratamentos ambulatoriais com medicamentos de uso contínuo chega a alcançar valores superiores a 50%, mesmo em países desenvolvidos, invariavelmente, mostrando-se superior entre os pacientes psiquiátricos (Bernstein, 1987). Neste caso, a monitorização das concentrações séricas de alguns psicofármacos poderia ser útil. Também o seria, naqueles numerosos pacientes, diagnosticados como refratários, mas que não melhoram apenas por descumprimento não admitido, e não devidamente verificado, das prescrições médicas com preparações orais.

Para a monitorização das concentrações séricas de psicofármacos, recomenda-se que a amostra de sangue seja coletada após se atingir o estado de equilíbrio no organismo (período de tempo equivalente a 5 meias-vidas do fármaco) e antes da administração da próxima dose (a fim de se obterem as concentrações de vale). Tempos diferentes dos recomendados, pode ter conseqüências desagradáveis: um ajuste de dose baseado em uma

determinação sérica feita antes de se atingir o estado de equilíbrio pode levar o clínico a prescrever uma dose excessiva aumentando, desta forma, os riscos de intoxicação; se uma concentração obtida no pico (concentração sérica máxima) for interpretada como no vale (concentração sérica mínima), a dose administrada pode ser diminuída indevidamente, não se obtendo o efeito desejado (MacReady *et al.*, 1990). Neste estudo, a primeira coleta de sangue para a dosagem sérica da olanzapina ocorreu na liberação médica (final da hospitalização), que corresponde a aproximadamente 30 dias após o início da farmacoterapia e antes da administração da próxima dose de cada fármaco. As coletas de sangue foram realizadas nos locais de origem de cada participante do estudo.

Em fluidos biológicos, a olanzapina pode ser determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), em fase reversa ou normal, com detector eletroquímico (ECD) e ultravioleta (UV) e cromatografia líquida de alta eficiência associada ao espectrômetro de massas (LC-MS). A cromatografia gasosa associada ao espectrômetro de massas (GC-MS) também pode ser empregada (Jenkins *et al.*, 1998). Procedimentos utilizando extração em fase sólida (SPE) convencional e completamente automatizado (*on-line*) também têm sido descritos (Catlow *et al.*, 1995; Kasper *et al.*, 1999; Olesen *et al.*, 2001). No entanto, estes últimos procedimentos são complexos, caros e não facilmente disponíveis em nosso meio.

A escolha do cromatógrafo a líquido, com detector de absorvância na região do ultravioleta, para a padronização de um método analítico,

visando à determinação da olanzapina em fluidos biológicos, foi efetuada considerando-se a crescente disponibilidade e versatilidade desse aparelho. Some-se a elas, o fato de a maioria dos estudos empregarem-no tanto para a pesquisa farmacocinética quanto para fins de controle terapêutico (Olessen e Linnet, 1998; Walter *et al.*, 1998; Callaghan *et al.*, 1999; Olessen *et al.*, 2001).

Métodos cromatográficos baseados na detecção UV podem ser preferidos aos que usam ECD, para aplicação em rotina, porque estes últimos demandam longo tempo de análise, requerido em parte, para estabilizar e deixar o detector em condições de uso. Em nosso estudo, a detecção na região do UV mostrou ser suficientemente específica e menos dispendiosa do que aqueles que empregam o ECD e/ou a espectrometria de massas. A disponibilidade de um método cromatográfico com detecção na região do UV e isocrático, que permita a análise simultânea de uma ampla faixa de psicofármacos, auxilia na elucidação da importância da monitorização terapêutica na clínica psiquiátrica.

O procedimento para extração líquido-líquido da olanzapina, em meio alcalino conferido pela solução de hidróxido de sódio, do material biológico, empregando-se a mistura de *n*-heptano e álcool isoamílico, semelhante ao descrito por Callaghan *et al.* (1999), foi considerado simples, de custo operacional reduzido e de fácil implantação em nosso laboratório e ainda apresentou resultados satisfatórios, permitindo seu emprego tanto na monitorização terapêutica das concentrações plasmáticas de olanzapina quanto em estudos de farmacocinética.

Tal procedimento baseou-se naquele executado por Callaghan *et al.* (1999), com algumas modificações, quais sejam, a pequena diferença entre a proporção de solventes empregados com extratores; maiores tempo e velocidade de centrifugação e a temperatura de evaporação do extrato, em banho de água, se deu à temperatura de 37°C, a fim de garantir a integridade química dos constituintes presentes no material biológico e de outros fármacos testados. A não utilização das mesmas condições, no entanto, não acarretou prejuízo para a eficiência da extração do fármaco do material biológico.

Para otimização das condições cromatográficas para separação da olanzapina, de soro adicionado e extraído com *n*-heptano:álcool isoamílico (98:2, v/v), foram avaliados os parâmetros: colunas cromatográficas, composição e fluxo da fase móvel e ainda comprimentos de onda. As condições cromatográficas foram testadas com 2 colunas, as quais apresentavam características semelhantes àquelas descritas por Callaghan *et al.* (1999) e Walter *et al.*, 1998) para a determinação de antipsióticos.

Para a coluna Spherisorb S5W (150 x 4,6 mm), a fase móvel acetonitrila: água (3: 7, v/v) com fluxos de 1 e 0,8 mL/min não promoveu a resolução dos picos dos componentes endógenos presentes no soro branco de referência e do padrão interno. Modificando-se a fase móvel para solução de tampão de acetato de sódio 0,75 N diluído 50%: acetonitrila (1: 2, v/v) houve um aumento no tempo de retenção, mas que não foi suficiente para separar o pico do branco de referência e do padrão interno, tanto para os comprimentos de onda de 220 como para 254nm.

A coluna CN (250 x 4,6 mm), foi inicialmente testada com a fase móvel que havia apresentado tempos de retenção superiores para a coluna anteriormente usada e, observando-se a resolução dos picos do branco de referência e do padrão interno, contudo, a OLA passou a apresentar um pico assimétrico (no comprimento de onda de 220 nm). Em virtude de resultados não satisfatórios, a modificação seguinte consistiu na mudança do comprimento de onda para 254 nm, com manutenção da fase móvel. Trabalhou-se, então, com a coluna CN. Esta coluna permitiu boa separação entre os picos do branco de referência, do PI e da OLA e, os mesmos foram simétricos (FIGURA 4). Portanto, a coluna CN foi a escolhida, pois mostrou-se mais adequada do que a Spherisorb S5W, evidenciando melhor resolução. Os melhores tempos de retenção (PI e OLA) foram obtidos, quando o fluxo da fase móvel foi fixado em 0,8 mL/min, tendo sido estabelecido em 10 minutos o tempo para o desenvolvimento cromatográfico.

Inicialmente, a fase móvel (acetonitrila:água) na proporção 3:7, v/v foi empregada utilizando-se fluxo de 1 mL/min. Contudo, os resultados mostraram-se pouco satisfatórios (saída rápida dos analitos). Conseqüentemente, o fluxo da fase móvel foi modificado para 0,8 mL/min na tentativa de se obter tempos de retenção maiores tanto para o PI quanto para OLA e, ainda, produzir cromatogramas livres de interferentes endógenos e simétricos. No entanto, a fase móvel, constituída por uma solução de tampão de acetato de sódio 0,75 N diluído 50%: acetonitrila (1:2, v/v) foi considerada mais eficiente do que a solução de acetonitrila: água

ultrapura inicialmente testada, pois sob esta condição foi possível obter maiores tempos de retenção; melhorar a simetria dos picos e, ainda, produzir cromatogramas livres de interferentes.

Embora a máxima absorvância para olanzapina seja observada em 270nm, o comprimento de onda de 254 nm foi adotado por razões práticas (permite detectar um número maior de fármacos simultaneamente) e também foi o utilizado por Walter *et al.*, 1998). Para comprimento de onda de 220 nm, os resultados não foram satisfatórios (assimetria dos picos).

O padrão interno (PI) utilizado foi a clozapina, análogo estrutural do fármaco em estudo. A concentração da solução de padrão interno que apresentava uma área próxima a do ponto médio da curva de calibração foi de 50 ng/mL, sendo esta a concentração escolhida para as análises.

Segundo Schumacher (1995), a identificação e quantificação de substâncias químicas em fluídos biológicos pressupõe a utilização de metodologia cuja validação tenha sido devidamente estabelecida. Essa tem a intenção de minimizar os erros, no sentido de assegurar a máxima qualidade do trabalho analítico e, conseqüentemente, a obtenção de resultados fidedignos. Para que os resultados deste estudo fossem considerados confiáveis, a validação metodológica foi devidamente estabelecida.

Para conseguir sensibilidade adequada, alguns métodos empregam uma quantidade de amostra relativamente grande (2mL de soro) (Gorgia *et al.*, 1985; Ulrich, 1995). No entanto, a coleta de grande volume de sangue pode ser um inconveniente, especialmente em situações nas quais várias

amostras podem ser requeridas (por exemplo, para análises farmacocinéticas). Empregando-se 1 mL de soro, os valores de limites de detecção e de quantificação obtidos neste estudo foram de 0,25 ng/mL (DP = 0,003 e CV = 11,2%) e de 0,50 ng/mL (DP = 0,002 e CV = 6,5%), respectivamente. Estes resultados indicam que o método é aplicável tanto para a pesquisa farmacocinética quanto para fins de controle terapêutico do fármaco, assumindo o intervalo terapêutico de 5-75 ng/mL proposto por Xue *et al.* (1998).

Os resultados obtidos na avaliação da resposta do detector e os dados da curva de calibração demonstram que a correlação entre as concentrações de olanzapina e as respectivas relações de áreas do antipsicótico e do padrão interno é linear no intervalo das concentrações analisadas. A linearidade do método (0,5 ng/mL a 500 ng/mL), (FIGURA 6) está de acordo com os valores obtidos por outros autores (Olessen *et al.*, 1998; Boguz *et al.*, 1999).

A recuperação média da olanzapina, determinada através das análises das amostras enriquecidas foi de 86,13% e do padrão interno foi de 89,44%. Os resultados obtidos estão apresentados na TABELA 8 e estão dentro da faixa considerada desejável (superior a 80%), não necessitando de correção nos resultados das amostras. Tais resultados demonstram a eficiência do procedimento de extração da olanzapina e do padrão interno, no intervalo das concentrações avaliadas.

A TABELA 9 apresenta os coeficientes de variação das concentrações de olanzapina adicionada ao soro branco de referência,

determinados intra e interensaio. Todos os resultados exibiram coeficientes de variação inferiores a 5% e, portanto, demonstram que a repetibilidade e a reprodutibilidade do procedimento analítico são consideradas satisfatórias no intervalo das concentrações avaliadas.

No estudo da exatidão do método, os resultados médios das análises dos soros, realizadas por diferentes pesquisadores, obtidos pelo método proposto comparados à quantidade adicionada foram considerados satisfatórios e estão na TABELA 10. Não foi possível utilizar padrões certificados oriundos, por exemplo, do "*Heath Control External Quality Assessment Scheme for Therapeutic Drug Assays*" (HEQAS), pois este órgão não tem disponível para análise, o principal fármaco de interesse nesse estudo, a olanzapina.

Aplicando-se o método validado, mantidas fixas as condições cromatográficas como descritas em 5.1.2, foram analisados alguns fármacos que ocasionalmente poderiam estar associados à olanzapina, durante o tratamento. Para tanto, o tempo para o desenvolvimento cromatográfico foi fixado em 30 minutos. As únicas substâncias não detectadas, nas condições anteriormente validadas, foram a trifluoperazina e a risperidona. As demais substâncias químicas analisadas foram detectadas, mas eluíram em tempos de retenção diferentes do fármaco de interesse. Assim, dentre os fármacos testados (TABELA 11), não se observou a possibilidade de interferências, quer seja por não serem detectadas, quer por apresentar tempo de retenção diferente da olanzapina e PI. Desta forma, só quando houver co-

administração de algum destes fármacos que foram detectados, deve-se aguardar sua separação através do desenvolvimento cromatográfico.

As amostras de soro controle contendo olanzapina na concentração de 10; 75 e 150 ng/mL, apresentaram-se estáveis durante 24 horas, quando armazenadas à temperatura ambiente; durante um período de 15 dias à temperatura de 4°C e, finalmente, 45 dias quando armazenadas à temperatura de -20°C. Os resultados foram avaliados considerando-se a variação de até 90% da original (t_{90}). Tais resultados indicam que a amostra não necessita ser processada imediatamente após a sua coleta. A estabilidade da olanzapina, a 4° C ou -20° C, permite que sejam realizadas coletas múltiplas ou de vários pacientes em horários, datas e locais diferenciados e que tais amostras possam ser processadas em uma mesma bateria de análises, o que caracteriza uma vantagem metodológica.

Segundo Olesen e Linnet (1998), o composto é facilmente oxidável durante o procedimento de extração, gerando valores subestimados, caso precauções não sejam tomadas. Portanto, foram adicionadas 10 µL de uma solução 0,25% ácido ascórbico às amostras de soro controle contendo olanzapina nas mesmas concentrações acima mencionadas. As novas amostras apresentaram-se estáveis durante 24 horas, quando armazenadas à temperatura ambiente; durante um período de 30 dias à temperatura de 4°C e 60 dias quando armazenadas à temperatura de -20°C. Todas as alíquotas foram mantidas ao abrigo da luz. Tais resultados demonstram a eficiência do ácido ascórbico, como agente antioxidante, para manter a estabilidade do fármaco na matriz biológica de interesse.

Completada a validação do método analítico, o mesmo foi aplicado a amostras de soro dos pacientes com esquizofrenia. Os resultados da determinação cromatográfica (HPLC) da olanzapina e do haloperidol no soro dos pacientes avaliados nas diferentes visitas estão apresentados na TABELA 12.

A média dos níveis séricos de olanzapina nas três visitas clínicas foi de 24,2 ng/mL (DP = 9,4; n = 18) e enquanto a média dos níveis séricos de haloperidol (HA) nas três visitas clínicas foi de 10,6 ng/mL (DP = 5,6, n = 16). Seguindo o esquema de dosagem recomendado, as concentrações séricas estariam compreendidas entre 5-75 ng/mL para a OLA (embora este intervalo pareça estreito e não esteja confirmado como faixa terapêutica); e entre 5-20 ng/mL para o HA. Os resultados da determinação da olanzapina e do haloperidol nos pacientes em tratamento indicam, portanto, uma proximidade da faixa terapêutica proposta.

Verificou-se a existência de uma correlação positiva entre as concentrações séricas médias de OLA ($p < 0,001$ e $r = 0,72$) e de HA ($p < 0,001$ e $r = 0,86$) frente a diferentes doses dos respectivos fármacos administrados diariamente em pacientes com esquizofrenia. Isto significa que as concentrações séricas de OLA e de HA são dose dependentes.

A dicotomia positivo/negativo foi introduzida na esquizofrenia nestas últimas décadas, criando-se a necessidade de se ter instrumentos válidos e confiáveis para avaliar esse tipo de sintomatologia. Com o objetivo de suprir a falta de um instrumento com melhor padronização psicométrica para

estudar a fenomenologia da esquizofrenia, Kay *et al.*, (1987) desenvolveram a Escala das Síndromes Positiva e Negativa (PANSS). A avaliação é feita por meio das informações do corpo clínico, da família e de uma entrevista clínica que dura 30 a 40 minutos e a gravidade do sintoma é avaliada de acordo com sua proeminência, sua extensão e, acima de tudo, com seu impacto no cotidiano e no funcionamento do paciente. Quando comparada com outras escalas, esta apresenta bom desempenho, apesar de as concordâncias entre os critérios serem baixas. Neste estudo não foram encontradas correlações entre as doses administradas de OLA e as variações nas sintomatologias positiva ($p = 0,59$ e $r = -0,14$), negativa ($p = 0,28$ e $r = 0,27$) e geral ($p = 0,06$ e $r = 0,83$) e nem para as de HA com as variações nas sintomatologias positiva ($p = 0,28$ e $r = -0,28$), negativa ($p = 0,11$ e $r = -0,40$) e geral ($p = 0,27$ e $r = -0,29$). Entretanto, foi evidenciada uma correlação entre concentração sérica de OLA e a sintomatologia negativa ($p < 0,01$ e $r = 0,61$). Isto implica que a concentração sérica da OLA, em níveis considerados terapêuticos, pode estar relacionada com a melhora dos sintomas negativos (por exemplo a apatia, afastamento social).

Ainda hoje, há alguma conjectura de que os medicamentos que causam maior aumento de peso são os mais efetivos. Planansky e Heilizer, em 1959, relataram que o aumento de peso esteve associado à melhora sintomática, com redução do peso sendo associada à deterioração dos sintomas. Os resultados, no entanto, são inconsistentes e imprecisos (Amdisen, 1964; Lawson e Karson, 1994; Umbricht *et al.*, 1994; Bustillo *et al.*, 1996). A disponibilidade subsequente de múltiplas medicações

antipsicóticas levou à constatação de que o aumento de peso é um efeito colateral comum ao tratamento antipsicótico.

Se existe correlação entre a resposta terapêutica e o aumento de peso, esse aumento do peso após longo prazo pode ser mais elevado do que estimamos. A fim de colocar esse fato em perspectiva, é útil levarmos em consideração que o Instituto de Medicina, sugeriu que reduções do peso menores do que 5% em indivíduos obesos podem acarretar reduções clinicamente significantes da morbidade e do risco de mortalidade precoce. Deve ser plausível, portanto, a previsão de que aumentos do peso corpóreo de até 5% poderiam causar aumentos correspondentes e significativos da morbidade e do risco de mortalidade precoce.

O aumento do peso induzido por antipsicóticos pode também desencorajar os pacientes de utilizar sua medicação com confiança. Esse fato poderia, conseqüentemente, aumentar a probabilidade de recidiva. Embora tenhamos conhecimento da ausência de dados que possibilitariam a quantificação exata do impacto do peso sobre a adesão à medicação, constatamos que diversos pacientes se queixam dessa situação e ocasionalmente relatam-na como motivo para não-adesão.

Em estudos realizados com a olanzapina por Tollefson *et al.* e Beasley *et al.* demonstram que, em ensaios agudos e em estudos de duração de um ano, a suspensão do medicamento atribuída ao aumento do peso foi extremamente rara.

No nosso estudo, a maioria dos pacientes avaliados (25/34; 73,5%) teve um ganho de peso. Após o tratamento, o peso corporal aumentou em

média $7,0 \text{ kg} \pm 7,7$ para pacientes em uso de OLA e $5,9 \text{ kg} \pm 5,5$ para pacientes em uso de HA. Três (16,7%) destes pacientes tratados com olanzapina abandonaram o tratamento em decorrência do aumento de peso (situação de dislipidemia). Embora não haja diferença estatisticamente significativa entre o ganho de peso induzido por estes dois fármacos, o abandono não foi verificado em pacientes em uso de haloperidol.

As evidências que vêm se acumulando ao longo das últimas décadas, desde os trabalhos de Vague, nos quais foi sugerido que a distribuição da gordura teria um impacto específico sobre a morbimortalidade associada à obesidade (Vague, 1947 *apud* Bray, 1998), indicam que o depósito de tecido adiposo que apresenta maior potencial aterogênico é aquele que ocorre dentro da cavidade abdominal, ao redor das vísceras. Em uma revisão recente sobre o ganho de peso induzido por antipsicóticos, Baptista *et al.*, (2002) relataram que os antipsicóticos de última geração parecem promover um depósito de gordura justamente nesta região, o que é compatível com os efeitos em nível de perfil lipídico provocados por estes fármacos (dislipidemia). Nossos achados corroboram os achados de alteração no perfil lipídico em pacientes fazendo uso de olanzapina (16,7% dos nossos pacientes).

A maioria dos pacientes avaliados (25/34; 73,5%) teve um aumento nos níveis séricos de leptina e (18/34; 52,9%) nos níveis de NPY. Os níveis séricos de leptina aumentaram em média $5,9 \text{ ng/mL} \pm 9,7$ em pacientes usando OLA e $2,2 \text{ ng/mL} \pm 6,4$ em pacientes usando HA. Foi encontrada também uma correlação entre as concentrações séricas de OLA e a

variação do peso ao longo do tempo ($r = 0,53$, $p < 0,05$), embora não se tenha verificado correlação entre concentrações séricas de OLA e a variação de leptina ($r = 0,19$, $p = 0,44$), apesar de esta última parecer interferir na sinalização para a ingestão de alimentos e na regulação do metabolismo energético em função do incremento do peso. Isto sugere que a presença da OLA no soro, em concentrações terapêuticas, é um fator importante para induzir o ganho de peso e que este não é dose-dependente.

Os níveis séricos de NPY aumentaram em média $11,0 \pm 16,3$ pMol/L em pacientes usando OLA e $2,6 \pm 12,1$ pMol/L em pacientes usando HA. Foi verificada uma correlação negativa entre os níveis séricos de NPY e a concentração média de OLA ($r = -0,65$; $p < 0,01$).

Constatamos que níveis séricos de leptina e de NPY variaram diretamente com os valores de IMC ($r = 0,64$, $p < 0,01$) nos pacientes esquizofrênicos usando OLA e HA ($r = 0,73$, $p < 0,001$). Tais achadas são concordantes com os de Ferron *et al.* (1997).

A maioria dos pacientes avaliados (25/34; 73,5%) teve um aumento dos níveis séricos de colesterol e triglicérides e ainda, verificou-se a existência de uma correlação positiva entre o ganho de peso e/ou índice de massa corpórea e a variação dos níveis séricos de colesterol total ($r = 0,79$, $p < 0,001$) e triglicérides ($r = 0,84$, $p < 0,001$) para pacientes.

No presente estudo foi utilizado o IMC ou índice de *Quelet* para a estimativa do excesso de tecido adiposo. Este índice foi escolhido devido a facilidade e ao custo baixo de aplicação, a suas adequadas validades, a presença destas medidas numa grande parte dos estudos clínicos e

epidemiológicos e à recomendação da Organização Mundial de Saúde, para que se tenha uma idéia mais próxima do risco de co-morbidades da obesidade (WHO, 1997; Bray *et al.*, 1998; Heymsfield *et al.*, 1998, Monteiro, 1998). A limitação principal do IMC, assim como de qualquer outra relação peso/altura, encontra-se no fato de que estes tipos de índices não distinguem a origem do peso (massa magra ou gordura), nem a distribuição da gordura (andróide ou ginóide). Sua aplicabilidade clínica é, mesmo assim, alta, tanto em estudos epidemiológicos e clínicos, quanto na prática diária (WHO, 1997; Monteiro, 1998).

Neste estudo 3 pacientes em uso de olanzapina tiveram seu IMC aumentado, chegando a valores superiores a 30, caracterizando-o como grande obeso, tornando-se um fator de risco. O aumento de peso e, conseqüentemente do IMC, pode favorecer insulino resistência e *diabetes mellitus* tipo II, além de contribuir para a instalação de dislipidemia, crescendo ainda mais a incidência de doença cardiovascular. Estes mesmos pacientes apresentaram um perfil lipídico compatível com dislipidemia (mista).

Pacientes com anorexia nervosa acompanhadas durante recuperação de peso tiveram a leptina medida no plasma e no líquido (Mantzoros *et al.*, 1997). As concentrações de leptina nos dois compartimentos foram diretamente relacionadas com IMC. Observou-se nesse estudo que a relação de leptina no líquido e plasma é alta nos estágios de recuperação de peso e, mais ainda, pacientes com anorexia nervosa têm seus níveis de leptina normalizados antes que seu IMC volte

ao normal. Um outro grupo independente também observou que a elevação dos níveis de leptina ocorreu antes da recuperação integral de peso, em pacientes com anorexia (Hebebrand *et al.*, 1997). Os autores postulam que a recuperação precoce da leptina plasmática poderia explicar a resistência ao ganho de peso, observada em pacientes em tratamento, em particular nas fases em que os pacientes estão próximos ao peso desejado. A leptina em níveis normais pode levar muitos pacientes a ter uma recuperação apenas parcial do peso.

Heymsfield *et al.*, (1997) demonstraram que a administração diária subcutânea de leptina acompanhada de dieta durante 6 meses em pacientes obesos (dose de 0,01 a 0,3 mg/kg) levou a uma perda de peso significativamente maior, apenas no grupo que recebeu doses mais elevadas de leptina quando comparado ao grupo que recebeu placebo.

Um segundo estudo demonstrou que a administração subcutânea diária de leptina durante 9 meses em uma criança com deficiência congênita de leptina decorrente de uma mutação no gene da leptina levou a uma importante redução do peso corporal e melhora do controle metabólico.

Apesar de a leptina, em teoria, parecer muito atraente para o tratamento da obesidade, ainda existem poucos estudos voltados para a avaliação da terapia com leptina em humanos. A leptina é responsável pela principal via aferente de comunicação entre o tecido gorduroso periférico (estocagem) e o cérebro, através da inibição da produção do neuropeptídeo Y produzido no hipotálamo e implicado como peptídeo da fome (Considine *et*

al., 1996). É o principal hormônio implicado na adiposidade humana, correlacionando-se, no entanto, com a massa gordurosa e não com a dose administrada ou sérica dos fármacos avaliados. Em alguns indivíduos, parece haver uma resistência à ação da leptina, traduzida por níveis aumentados de NPY.

Estes achados (leptina e NPY elevados) sugere que os antipsicóticos, principalmente a olanzapina possa alterar a relação leptina-NPY através de interações com múltiplos receptores/neurotransmissores que modulam a expressão do NPY, resultando em alterações metabólicas importantes e perturbando o processo de saciedade no hipotálamo.

É importante levamos em consideração métodos para minimizar o impacto do aumento de peso induzidos pelos medicamentos antipsicóticos. Uma abordagem poderia ser a implementação de procedimentos de controle do peso em indivíduos esquizofrênicos sob uso de medicações antipsicóticas. Diversos esforços nesse sentido foram realizados no passado, incluindo abordagens farmacológicas e não farmacológicas.

O uso de tratamentos farmacológicos da obesidade nessa população, no entanto, pode representar desafios. A maioria dos agentes farmacológicos para o tratamento da obesidade atualmente disponíveis, proporcionam efeitos por meio do aumento da atividade noradrenérgica, dopaminérgica e/ou serotoninérgica. Ao contrário, as medicações antipsicóticas tipicamente propiciam a maior parte de seu efeito pela diminuição das atividades dopaminérgica e serotoninérgica. Desta forma, o

uso de agentes farmacológicos para o tratamento da obesidade em indivíduos com esquizofrenia pode exacerbar seus sintomas psicóticos.

A eficácia de drogas supressoras do apetite dependerá tanto da eficiência destas em diminuir a disponibilidade de sinais orexígenos e/ou aumentar a disponibilidade de sinais anorexígenos, bem como prevenir o desenvolvimento da super-sensibilidade de receptores. Adicionalmente, intervenções sobre múltiplos alvos do sistema de homeostase energética serão, provavelmente, necessárias para alcançar e manter a perda de peso na grande parte dos indivíduos obesos.

Conclusões

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

7. CONCLUSÕES

- O método proposto apresenta características satisfatórias (sensibilidade, especificidade, precisão, exatidão, tempo de análise reduzido) para que seja empregado tanto na monitorização terapêutica quanto nos estudos de farmacocinética dos fármacos de interesse;
- A olanzapina e haloperidol induziram graus de incremento do peso clinicamente significantes, mas este efeito não é dose-dependente.
- O aumento do peso induzido pela olanzapina parecem aumentar o risco de dislipidemia;
- O grau de aquisição do peso e do índice de massa corpórea aumentaram significativamente no decorrer do tempo, para os fármacos analisados, e correlacionaram-se positivamente com o incremento da leptina e de NPY;
- Os antipsicóticos interferiram na via de sinalização da leptina e do neuropeptídeo Y ao longo do tratamento, prejudicando os efeitos dos mesmos no controle do comportamento alimentar, sendo este efeito estatisticamente mais significativo com a olanzapina.

Nota da BCQ: No impresso, não consta a página 113

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- ALLISON, D.B., FONTAINE, K.R., HEO, M., MENTORE, J.L., CAPPELLERI, J.C., CHANDLER, L.P., WEIDEN, P.J., CHESKIN, L.J. The distribution of body mass index among individuals with and without schizophrenia. **J. Clin. Psychiatry**, Memphis, v.60, p.215–220, 1999.
- ALMEIDA, O.P.; DRACU, L.; LARANJEIRA, R. eds., **Manual de Psiquiatria**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1996.
- AMDISEN, A. Drug-produced obesity: experiences with chlorpromazine, perphenazine, and clopenthixol. **Dan. Med. Bull.**, Copenhagen, v.11, p.182–189, 1964.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**. Fourth edition. American Psychiatric Press. Washington, DC, 1994.
- AQUILA, R.; EMANUEL, M. Weight gain and antipsychotic medications. **J. Clin. Psychiatry**, Memphis, v.60, n.5, p.336-337, 1999.
- ARAVAGIRI, M.; AMES, D.; WIRSHING, W.C.; MARDER, S. Plasma level monitoring of olanzapine in patients with schizophrenia: determination by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **Ther. Drug Monit.**, New York, v.19, p. 307-313, 1997.

De acordo com a NBR6023/2000 preconizada pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). As abreviaturas dos títulos de periódicos seguem o CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE SOURCE INDEX (CASSI) 1997.

Referências
Bibliográficas

- ATKINSON, R.L. Use of drugs in the treatment of obesity. **Annu. Rev. Nutr.** v.17, p.383-403, 1997.
- ATKINSON, R.L.; HUBBARD, van S. Report on the NIH workshop on pharmacologic treatment of obesity. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.60, p.153-156, 1994.
- AWINBURN, B.A.; NYOMBA, B.L.; SAAD, M.F. *et al.* Insulin resistance associated with lower rates of weight gain in Pima Indians. **J. Clin. Invest.**, New York, v.88, p.118-173, 1997.
- BARNES-JOSIAH D., POTTER, J.D., SELLERS, T.A, HIMES, J.H. Early body size and subsequent weight gain as predictors of breast cancer incidence (Iowa, United States). **Cancer Causes Control**, v.6, p.112–118, 1995.
- BAPTISTA, T., KIN, N.M.K.N.Y., BEAULIEU, S., BAPTISTA, E.A Obesity and related metabolic abnormalities during antipsychotic drug administration: mechanisms, management and research perspectives. **Pharmacopsychiatry**, v.35, p.205-219, 2002.
- BEASLEY, C.M. Jr, TOLLEFSON, G.D., TRAN, P.V: Safety of olanzapine. **J. Clin. Psychiatry**, Memphis, v.58, n.s10, p.13-21, 1997.
- BERNSTEIN, J.G: Induction of obesity by psychotropic drugs. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**; New York, v.499, p.203–215, 1987.
- BLIN, O. A comparative review of new antipsychotics. **Can. J. Psychiatry**, Ottawa, v.44, n.3, p.235-244, 1999.
- BODEN, G. Pathogenesis of type 2 diabetes insulin resistance. **Endocrinol. Metab. Clin.**, Roma, v.30, n.4, p.801-815, 2001.

- BODEN, G. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. **Diabetes**, New York, v.46, p.3-10, 1997.
- BOGUZ, M.J., KRÜGER, K.D., MAIER, R.D., ERKWOH, R., TUCHTENHAGEN, F. Monitoring of olanzapine in serum by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. **J. Chromatogr. B**, Amsterdam, v.732, p.257-269, 1999.
- BORCHARD, C.; TREMBLAY, A.; DESPRES, D.J. *et al.* The response a long-term over feeding in identical twins. **New Engl. J. Med.**, Boston, v.322, p.1477-1482, 1990.
- BRAMBILLA, F., GUASTALLA, A, GUERRINI, A, RIGGI, F., ROVERE, C., ZANOBONI, A, ZANOBONI-MUCIACCIA, W. Glucose-insulin metabolism in chronic schizophrenia. **Dis Nerv Syst**; Memphis, v.37, p.98–103, 1976.
- BRAY, G,A. Health Hazards Associated with overweight In: BRAY, GA. ed Contemporary Diagnosis and Management of Obesity PA: **Handbooks in Health Care**, p.68-103, 1998.
- BRIEF, D.J. Chronic treatment with neuroleptic drugs and weight gain. **Dissertation Abstracts International**; v.45, n.11B, 3653p., 1985.
- BUSTILLO, Jr, BUCHANAN, R.W., IRISH, D., BREIER, A. Differential effect of clozapine on weight: a controlled study. **Am J Psychiatry**; Washington, v.153, p.817–819, 1996.
- CALLAGHAN, J.T., BERGSTROM, R.F., PTAK, L.R., BEASLEY, C.M. Olanzapine – pharmacokinetic and pharmacodynamic profile. **Clin. Pharmacokinets.**, New York, v.37, n.3, p.177-193, 1999.
-

- CAMPFIELD, L.A.; SMITH, F.J. & BURN, P. The OB protein (leptin) pathway - a link between adipose tissue mass and central neural networks. **Horm Metabol. Res.**, Stuttgart, v.28, n.12, p.619-632, 1996.
- CAMPFIELD, L.A., SMITH, F.J., GUISEZ, Y., DEVOS, R., BURN, P. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. **Science**, Washington, v.269, p.546-549, 1995.
- CASEY, D. Side effect profiles of new antipsychotic agents. **J. Clin. Psychiatry**, Memphis, v.57, n.S11, p.40-45, 1996.
- CATLOW, J.T., BARTON, R.D., CLEMENS, M., GILLESPIE, T.A., GOODWIN, M., SWANON, S.P. Analysis of olanzapine in human plasma utilizing reversed-phase high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **J. Chromatogr. B**, Amsterdam, v.668, p.85-90, 1995.
- CARO JF, KOLACZYNSKI JW, NYCE MR, et al. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. **Lancet.**; v.348, p.159-161, 1997.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL: **Update: prevalence of overweight among children, adolescents, and adults—United States, 1988–1994.** **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**; v.46, p.198–202, 1997.
- CERHAN, J.R., TORNER, J.C., LYNCH, C.F., RUBENSTEIN, L.M., LEMKE, J.H., COHEN, M.B., LUBAROFF, D.M., WALLACE, R.B. Association of smoking, body mass, and physical activity with risk of prostate cancer in

- the Iowa rural health study (United States). **Cancer Causes Control**; v.8, p.229-238, 1997.
- CHAN, J.M.; RIMM, E.B.; COLDITZ, G.A.; STANPFER, M.J.; WILLET, W. Obesity, fat distribution and weight gains as risk factors for clinical diabetes in men. **Diabetes Care**, Alexandria, v.17, p.961-969, 1994.
- CHEN, H., CHARLAT, O., TARTAGLIA, L.A., WOOLF, E.A., WENG, X., ELLIS, S.J., LAKEY, N.D., CULPEPPER, J., MOORE, K.J., BREITBART, R.E., DUYK, G.M., TEPPER, R.I., MORGENSTERN, J.P. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: Identification of a mutation in the leptin receptor gene in ob/ob mice. **Cell**, Cambridge, v.84, p.491-495, 1996.
- CLEMENT, K.; VAISSE, C.; LAHLOU, N. et al. – A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. **Nature**, London, v.392, n.6674, p.398-401, 1998.
- COLEMAN, D.L. Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice. **Diabetologia**, Berlin, v.9, p.294-298, 1973.
- COLEMAN, D.L., HUMMEL, K.P. The influence of genetic background on the expression of the obese (ob) gene in the mouse. **Diabetologia**, Berlin, v.9, n.4, p.287-293, 1973.
- CONSIDINE, R.V., SINHA M.K., HEIMAN M.L., et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **N. Engl. J. Med.**; Boston, v.334, p.292-295, 1996.

- CORDÁS, T.A.; NEGRÃO, A.B. – Anorexia nervosa. In: Assumpção Jr., F. (ed.) – **Psiquiatria da Infância e Adolescência**. São Paulo, Livraria Santos Editora, p. 283-290, 1994.
- CRETELLA, Y.A Controle terapêutico de anticonvulsivantes. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, p.101, 1993.
- DUBERN B, CLÉMENT K, PELLOUX V, FROGUEL P, GIRARDET JP, GUY-GRAND B, TOUNIAN P. Mutational analysis of melanocortin-4 receptor, agouti-related protein, and α -melanocyte-stimulating hormone genes in severely obese children. **J Pediatr**, v.139, p.204-9, 2001.
- EHARA, D.; UEDA, M.; MAMBO, T. et al. Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndrome. **Circulation**, Dallas, v.103, p.1955, 2001.
- ERICKSON, J.C., CLEGG, K.E., PALMITER, R.D. Sensitivity to leptin and susceptibility to seizures of mice lacking neuropeptide Y. **Nature**, London, v.381, p.415-418, 1996a.
- ERICKSON, J.C., HOLLOPETER, G., PALMITER, R.D. Attenuation of the obesity syndrome of ob/ob mice by the loss of neuropeptide Y. **Science**, Washington, v.274, p.1704-1707, 1996b.
- ESCRIVÃO *et al.* Obesidade exógena na infância e na adolescência. **J. Ped.**, Porto Alegre, 2000, v.76, n.s3, p.s305-309.
- FERRARINI, E.; NATELI. A. et al. Insulin resistance and hypersecretion in obesity. **J. Clin. Invest.**, New York, v.100, p.1166-73, 1997.
- FERRON, F.; CONSIDINE, R.V.; PEINO, R. et al. – Serum leptin concentrations in patients with anorexia nervosa, bulimia nervosa and

non-specific eating disorders correlate with the body mass index but are independent of the respective disease. **Clin. Endocrinol.**, Oxford, v.46, n.3, p.289-93, 1997.

FRIEDMAN, J.M., HALAAS, J. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature**, London, v.395, p.763-770, 1998.

FROTA, L.H.; BRASIL, M.A.A.; BUENO, J.R.; ALVES, J.M.F.; SILVA FILHO, J.F. Olanzapina: comentários e sugestões ao protocolo preliminar do Ministério da Saúde. **J. Bras. Psiquiatr.**, Rio de Janeiro, v.50, n.1-2, p.23-34, 2001.

GHILARDI, N., ZIEGLER, S., WIESTNER, A., STOFFEL, R., HEIM, M.H., SKODA, C. Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, Washington, v.93, p.6231-6235, 1996.

GOLD, P.W.; GWIRTSMAN, H.; AVGERINOS, P.C. et al. – Abnormal hypothalamic-pituitary-adrenal function in anorexia nervosa. Pathophysiologic mechanisms in underweight and weight-corrected patients. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.314, n.21, p.1335-42, 1986.

GORGIA, M.R., GOLD, P.W.T. Determination of olanzapine in serum by high-performance liquid chromatography using ultraviolet detection considering the oxidability of the compound and the presence of other psychotropic drugs. **J. Chromatogr. B**, Amsterdam, v.514, p.300-315, 1985.

HAGG, S., JOELSSON, L., MJORNDAL, T., SPIGSET, O., DAHLQVIST, R. Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance in patients treated

with clozapine compared with patients treated with conventional depot neuroleptic medications. **J. Clin. Psychiatry**; Memphis, v.59, p.294–299, 1998.

HALAAS, J.L., GAJIWALA, K.S., MAFFEI, M., COHEN, S.L., CHAIT, B.T., RABINOWITZ, D., LALLONE, R.L., BURLEY, S.K., FRIEDMAN, J.M. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. **Science**, Washington, v.269, p.543-546, 1995.

HEBE BRAND J. Breast feeding and obesity. Prolonging breast feeding to reduce obesity may be a burden. **Br Med J**; v.319, p.1576, 1997.

HEIMAN, M.L.; AHIMA, R.S.; CRAFT, L.S. et al. – Leptin inhibition of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in response to stress. **Endocrinology**, Baltimore, v.138, p.3859-3863, 1997.

HERVEY, G. The effects of lesions in the hypothalamus in parabiotic rats. **J. Physiology**, Cambridge, v.145, p.336-352, 1959.

HEYMSFIELD, S.B.; ALLISON, D.B.; WANG, Z.M.; BAUMGARTNER, R.N.; ROSS, R. Evaluation of total and regional body composition. In: BRAY, G.A.; BOUCHARD, C.; JAMES, W.P.T. eds., **Handbook of obesity**. New York, Marcel Dekker, 1998, p.41-77.

HITMAN, G.A. Molecular genetics of obesity. In: KOPELMAN, P.G.; STOCK, M.J. eds., **Clinical obesity**. Oxford, Blackwell Science, 1998, p.73-85.

HOTTA, M.; SHIBASAKI, T.; MASUDA, A. et al. – The responses of plasma adrenocorticotropin and cortisol to corticotropin-releasing hormone (CRH) and cerebrospinal fluid immunoreactive CRH in anorexia nervosa patients. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Philadelphia, v.62, n.2, p.319-24, 1986.

- HU, R.J.; MALHOTRA, A.K.; PICKAR, D. Previsão de resposta à clozapina – estágio atual de pesquisa. **Drugs**, New York, v.11, n.4, p.317-26, 1999.
- INSTITUTE OF MEDICINE: Weighing the Options: Criteria for Evaluating Weight-Management Programs. Washington, DC, National Academy Press, 1995.
- JENKINS, A.J., SARCONI, K.M., RAAF, H.N. Determination of olanzapine in a postmortem case. **J. Anal. Toxicol.**, Niles, v.22, p.605-608, 1998.
- KAY, S. R., FISZBEIN, A., OPLER, L. A. The Positive and Negative Syndromje Scale for schizophrenia, **Schizophr Bull**, London, v.13, p.261-276, 1987.
- KAY, S. R., OPLER, L. A., LINDENMAYER, J.P. The Positive and Negative Syndromje Scale (PANSS): rationale and standartization. **Br J Psychiatry**, London, v.155, n.s7, p.59-65, 1989.
- KASPER, S.C., MATTIUZ, E.L., SWANSON, S.P., CHIU, J.A, JOHNSON, J.T., GARNER, C.O Determination of olanzapine in human breast milk by high-performance liquid chromatography with eletrochemical detection, **J. Chromatogr. B**, Amsterdam, v.726, p.203-209, 1999.
- KENNEDY, G.C. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. **Proceedings of the Royal Society of London**, London, v.140, p.578-592, 1953.
- LAWSON, W.B., KARSON, C.N. Clinical correlates of body weight changes in schizophrenia. **J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.**; Washington, v.6, p.87–188, 1994.

- LEE, G.H., PROENÇA, R., MONTEZ, J.M., CARROLL, K.M., DARVISH-ZADEH, J.G., LEE, J.I., FRIEDMAN, J.M. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. **Nature**, London, v.379, p.632-635, 1996.
- LEE, I.M., PAFFENBARGER, R.S.J.R. Changes in body weight and longevity. **JAMA**; Chicago, v.268, p.2045–2049, 1992.
- LICINIO, J.; MANTZOROS, C.; NEGRÃO, A.B. et al. – Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary-adrenal function. **Nat. Med.** New York, v.3, n.5, p.575-579, 1997.
- LOUZÃ, M.R., BARROS, L., SHIRAKAWA, I. **Esquizofrenia: dois enfoques complementares**. São Paulo, Lemos, 69P., 1999.
- MACREADY, M.; SHIBASAKI, T.; MASUDA, A. et al. – The responses of plasma adrenocorticotropin and cortisol to corticotropin-releasing hormone (CRH) and cerebrospinal fluid immunoreactive CRH in anorexia nervosa patients. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Philadelphia, v.62, n.4, p.319-24, 1990.
- MANNINEN, V.; TENKANEN, L.; KOSKINEN, P.; HUTTNER, J.K.; MANTTARI, M. et al. Joint effects of serum triglycerides and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentration on coronary heart disease risk in the Helsinki hearth study implications for treatment, **Circulation**, Dallas, v.87, p.37-47, 1992.
- MANTZOROS, H.; AVGERINOS, P.C. et al. – Abnormal hypothalamic-pituitary-adrenal function in anorexia nervosa. Pathophysiologic mechanisms in underweight and weight-corrected patients. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.307, n.22, p.1335-42, 1997.

- McKEE, H.A, D'ARCY, P.F., WILSON, P.J. Diabetes and schizophrenia - a preliminary study. **J. Clin. Hosp. Pharm.**; v.11, p.297-299, 1986.
- MEHMET M, MERGEN H, OZATA M, ONER R, ONER C. A novel melanocortin 4 receptor (MC4R) gene mutation associated with morbid obesity. **M Clin Endocrinol Metab**, v.86, p.3448-51, 2001.
- MEIER, C. A. Advances in the understanding of the molecular basis of obesity. **Eur. J. Endocrinol.**; Oslo, v.133, n.6, p.761-763, 1995.
- MELTZER, H.Y.; MATSUBARA, S.; LEE, J.C. The ratios of serotonin 2 and dopamine 2 affinities differentiate atypical and typical antipsychotic drugs. **Psychopharmacol. Bull.**, Bethesda, v.25, n.3, p.390-92, 1989.
- MERCER, J.G., HOGGARD, N., WILLIAMS, L.M., LAWRENCE, C.B., HANNAH, L.T., TRAYHURN, P. Localization of leptin receptor mRNA and the long form splice variant (Ob-Rb) in mouse hypothalamus and adjacent brain regions by in situ hybridization. **FEBS Lett.**, Amsterdam, v.387, p.113-116, 1996.
- MONTAGUE, C.T.; FAROOQI, I.S.; WHITEHEAD, J.P. et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. **Nature**, London, v.387, p.903-908, 1997.
- MONTEIRO, J.C. Obesidade: diagnóstico, métodos e fundamentos. In: HALPERN, A.; MATOS, A.F.G.; SUPPLY, H.L.; MANCINI, M.C.; ZANELLA, M.T. eds., **Obesidade**. São Paulo, Lemos, p.31-53, 1998.
- MUKHERJEE, S., DECINA, P., BOCOLA, V., SARACENI, F., SCAPICCHIO, P.L. Diabetes mellitus in schizophrenic patients. **Compr. Psychiatry**; New York, v.37, p.68-73, 1996.

- MUST, A. Morbidity and mortality associated with elevated body weight in children and adolescents. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.63, p.445-7, 1996.
- OLESEN, O.V., LINNET, K. Determination of olanzapine in serum by high-performance liquid chromatography using ultraviolet detection considering the easy oxidability of the compound and the presence of other psychotropic drugs. **J. Chromatogr. B**, Amsterdam, v.714, p.309-315, 1998.
- OLESEN, O.V., POULSEN, B., LINNET, K. Fully automated on-line determination of olanzapine in serum for routine therapeutic drug monitoring. **Ther. Drug Monitor.**, New York, v.23, p.51-55, 2001.
- PARROTT, R.F., HEAVENS, R.P., BALDWIN, B.A. Stimulation of feeding in the satiated pig intracerebro-ventricular injection of neuropeptide Y. **Physiol. Behav.**, Elmsford, v.36, p.523-525, 1986.
- PELLEYMOUNTER, M.A., CULLEN, M.J., BAKER, M.B., HECHT, R., WINTERS, D., BOONE, T., COLLINS, F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. **Science**, Washington, v.269, p.540-543, 1995.
- PLANANSKY, K., HEILIZER, F. Weight changes in relation to the characteristics of patients on chlorpromazine. **J Clin and Experimental Psychopathology and Q Rev Psychiatry Neurol**; v.20, p.53-57, 1959.
- POPLI, AP., KONICKI, P.E., JURJUS, G.J., FULLER, M.A., JASKI IW, G.E. Clozapine and associated diabetes mellitus. **J. Clin. Psychiatry**; Memphis, v.58, p.108-111, 1997.

- PORTE Jr., D.; SEELY, R.J.; WOOD, S.C. et al. Obesity diabetes and central nervous system. **Diabetologia**, Berlin, v.41, p.863-81, 1998.
- PRENTICE *et al.* Energy expenditure in overweight and obese adults in affluent societies: an analysis of 319 doubly – labelled water measurements. **Eur. J. Clin. Nutr.**, London, v.50, p.93-7, 1996.
- QUESENBERRY, C.P, CAAN, B. & JACOBSON, A. Obesity, **Arch. Inter. Med.**, Chicago, v.158, p.466-72, 1998.
- RAVUSSIN, E., Low resting metabolic rate as a risk factor for weight gain: role of the sympathetic nervous system. **Int. J. Obes.**, London, v.7, n.s8-9, 1995.
- RUPP, A., KEITH, S.J. The costs of schizophrenia: assessing the burden. **Psychiatr. Clin. N. A.**, Philadelphia, v.16, n.2, p.413-423, 1999.
- SAHU, A. Evidence suggesting that galanin (GAL), melanin-concentrating hormone (MCH), neurotensin (NT), proopiomelanocortin (POMC) and neuropeptide Y (NPY) are targets of leptin signaling in the hypothalamus. **Endocrinology**, Baltimore, v.139, p.795-798, 1998.
- SAKURAI, Y., NAKAMURA, K., SAKURAI, M., MUTO, T., TANAKA, H. Relationship between weight change in young adulthood and the risk of NIDDM: the Sotetsu study. **Diabetes Care**; Alexandria, v.20, p.978–982, 1997.
- SALOMON, M.S. Histamine: a new factor in the control of feeding behavior. **Dissertation Abstracts International**; v.53, n.2B, p.1102, 1992.
- SANTOMAURO, A.; BODEN, G.; SILVA, M. *et al.* Overnight lowering of free fatty acids with acipmox improves insulin resistance and glucose tolerance

- in obese diabetic and non diabetic subjects. **Diabetes**, New York, v.48, p.1836-41, 1999.
- SCHOTTE, A, JANSSEN, P.F., MEGENS, AA, LEYSEN, J.E. Occupancy of central neurotransmitter receptors by risperidone, clozapine and haloperidol, measured ex vivo by quantitative autoradiography. **Brain Res.**; v.63, p.191–202, 1993.
- SCHUMACHER, G.E. **Therapeutic Drug Monitoring**. Appleton & Lange, 684p., Boston, 1995.
- SCHWARTZ, M.W., SEELEY, R.J., CAMPFIELD, L.A., BURN, P., BASKIN, D.G. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. **J. Clin. Invest.**, New York, v.98, p.1101-1106, 1996.
- SEGAL, A. **Obesidade e Co-morbidade Psiquiátrica: caracterização e eficácia Terapêutica de Atendimento Multidisciplinar na Evolução de 34 pacientes**. São Paulo, 1999. 289p. **Tese de Doutorado** – Faculdade de Medicina da universidade de São Paulo.
- SEIDELL, J.C. Epidemiology: definition and classification of obesity. In: KOPELMAN, P.G.; STOCK, M.J. eds, **Clinical obesity**. Oxford, Blackwell Science, p.1-17, 1998.
- SEIDELL, J.C.; RISSANEN, A.M. Time trends in the worldwide prevalence of obesity. In: BRAY, G.A.; BOUCHARD, C.; JAMES, W.P.T. eds., **Handbook of obesity**. New York, Marcel Dekker, p.79-91, 1998.
- SIGULEM, D.M., TADDEI, J.AAC., ESCRIVÃO, M.AS., DEVICENZI, M.U.. Diagnóstico do estado nutricional da criança e do adolescente. **J. Ped.**, São Paulo, v.76, n.s3, p.s275-284, 2000.

- STEPHENS, T.W., BASINSKI, M., BRISTOW, P.K., BUE-VALLESKEY, J. M., BURGETT, S.G., CRAFT, L., HALE, J., HOFFMANN, J., HSIUNG, H.M., KRIAUCIUNAS, A., MACKELLAR, W., ROSTECK Jr, P.R., SCHONER, B., SMITH, D., TINSLEY, F. C., ZHANG, X.-Y. and HEIMAN, M. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature*, London, v.377, p.530-534, 1995.
- SUADICANI, P., HEIN, H.O, GYNTELBERG, F. Weight changes and risk of ischaemic heart disease for middle-aged and elderly men: an 8-year follow-up in the Copenhagen male study. *J. Cardiovasc. Risk*; v.4, p.25–32, 1997.
- SUTTON, R.E.; KOOB, G.F.; LEMOAL, M. et al. – Corticotropin-releasing factor produces behavioural activation in rats. *Nature*, London, v.297, p.331-333, 1982.
- TARTAGLIA, L.A., DEMBSKI, M., WENG, X., DENG, N., CULPEPPER, J., DEVOS, R., RICHARDS, G.J., CAMPFIELD, L.A., CLARK, F.T., DEEDS, J., MUIR, C., SANKER, S., MORIARTY, A., MOORE, K.J., SMUTKO, J.S., MAYS, E.A., WOOLF, E.A., MONROE, C.A., TEPPER, R.I. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell*, Cambridge, v.83, p.1263-1271, 1995.
- TOLLEFSON, G.D., BEASLEY, C.M.J.R., TRAN, P.V., STREET, J.S., KRUEGER, J.A, TAMURA, R.N., GRAFFEO, K.A, THIEME, M.E. Olanzapine versus haloperidol in the treatment of schizophrenia and schizoaffective and schizophreniform disorders: results of an international

- collaborative trial. **Am. J. Psychiatry**; Washington, v.154, p.457–465, 1997.
- TSUANG, M.T., PERKINS, K., SIMPSON, J.C. Physical diseases in schizophrenia and affective disorder. **J. Clin. Psychiatry**; Memphis, v.44, p.42–46, 1983.
- UMBRICHT, D.S., POLLACK, S., KANE, J.M. Clozapine and weight gain. **J. Clin. Psychiatry**; Memphis, v.55, p.157–160, 1994.
- VAISSE, C., HALAAS, J., HORVATH, C.M., DARNEL Jr., J.E., STOFFEL, M., FRIEDMAN, J.M. Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type and ob/ob mice not db/db mice. **Nature Genetics**, v.14, p.95-97, 1996.
- VANITALLIE, T.B. Prevalence of obesity. **Endocrinol. Metabol. Clin. N. A.** v.25, n.4, p.887-905, 1996.
- VESSONI, A L. N. 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.
- VILLARES, S.M.F. Obesidade e genética. In: HALPERN, A.; MATOS, A.F.G.; SUPLICY, H.L.; MANCINI, M.C.; ZANELLA, M.T. eds., **Obesidade**. São Paulo, Lemos, p.67-79, 1998.

- XUE, L., CROOKHAM, S.B., DIAMOND, F.X., DAVIS, D.J., REIBER, T.M.,
Clin. Chem., v.44, 1998.
- ZHANG, Y., PROENÇA, R., MAFFEI, M., BARONE, M., LEOPOLD, L.,
FRIEDMAN, J.M. Positional cloning of the mouse obese gene and its
human homologue. **Nature**, London, v. 372, p.425-432, 1994.
- WALKER, M., WANNAMETHEE, G., WHINCUP, P.H., SHAPER, AG. Weight
change and risk of heart attack in middle-aged British men. **Int. J.**
Epidemiol.; v.24, p.694–703, 1995.
- WALTER, S., BAUER, S., ROOTS, I., BROCKMÖLLER, J., Quantification of
the antipsychotics flupentixol and haloperidol in human serum by high-
performance liquid chromatography with ultraviolet detection. **J.**
Chromatogr. B, Amsterdam, v.720, p.231-237, 1998.
- WARDEN, C.H.; FISLER, J.S. Molecular genetics of obesity. In: BRAY, G.A.;
BOUCHARD, C.; JAMES, W.P.T. eds., **Handbook of obesity**. New York,
Marcel Dekker, p.223-242, 1998.
- WARDEN NAS, WARDEN CH. Biological influences on obesity. **Pediatr Clin**
N. A., v.48, p.879-91, 2001.
- WARDEN, N.S.; WANDER, C.H. Pediatric obesity: an overview of etiology
and treatment. **Ped. Clin. N. A.**, v.44, n.2, p.339-61, 1997.

- WILLIAMSON, D.F. Prevalence and demographics of obesity. In: BROWNELL, K.D.; FAIRBURN, C.G. eds., **Eating disorders and obesity – a comprehensive handbook**. New York, Guilford, p.484-90, 1995.
- WIRSHING, D.A, SPELLBERG, B.J., ERHART, S.M., MARDER, S.R., WIRSHING, W.C. Novel antipsychotics and new onset diabetes. **Biol. Psychiatry**; v.44, p.778–783, 1998.
- WIRTH, A Cardiac adaptation in obese subjects with and without hypertension – therapeutic implications. In: GUY-GRAND, B & AILHAUD, G. Progress in obesity research. Proceedings of the 8th International Congress on Obesity. London, John Libbey & Company Ltd, 1999, p.593.
- WHITE, B.D.; MARTIN, R.J. Evidence for a central mechanism of obesity in the Zucker rat: role of neuropeptide Y and leptin. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.214, p.222-232, 1997.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders. Geneva, WHO, 1992.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: Preventing and managing the global epidemic – Report of a WHO consultation on Obesity. Geneva, WHO, 1997.

Anexos

Escala das Síndromes Positiva e Negativa – PANSS

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

Escala Positiva

P1	Delírios	1	2	3	4	5	6	7
P2	Desorganização conceitual	1	2	3	4	5	6	7
P3	Comportamento alucinatorio	1	2	3	4	5	6	7
P4	Excitação	1	2	3	4	5	6	7
P5	Grandeza	1	2	3	4	5	6	7
P6	Desconfiança	1	2	3	4	5	6	7
P7	Hostilidade	1	2	3	4	5	6	7

Score da Escala Positiva: _____

Número de sintomas avaliados >3: _____

Escala Negativa

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

Score da Escala Negativa: _____

Número de sintomas avaliados >3: _____

Escala de Psicopatologia Geral

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

Escala de Psicopatologia Geral: _____

Tipo sintomatológico:

Positivo (3 ou mais sintomas com o score ≥ 4 na escala positiva e menos de 3 sintomas com score ≥ 4 na escala negativa);

Negativo (3 ou mais sintomas com o score ≥ 4 na escala negativa e menos de 3 sintomas com score ≥ 4 na escala positiva);

Misto (3 ou mais sintomas com score \geq em ambas as escala);

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

FICHA DE CARACTERIZAÇÃO DOS PACIENTES

NOME: _____

RAÇA: () branca () preta () outra

FUMANTE: () sim () não

IDADE: _____ anos

SEXO: () masculino () feminino

PESO: _____ Kg

ALTURA: _____ m

DIAGNÓSTICO: _____

PATOLOGIA PRÉ-EXISTENTE ? () sim () não

() renal

() gastrintestinal

() hepática

() endócrina

() cardíaca

() outra (s) _____

MEDICAMENTO (Olanzapina - Zyprexa[®]) – Via oral

Dose: _____

Frequência: _____

Reação adversa: () sim () não Citar: _____

CO-MEDICAÇÃO (nos últimos 07 dias)? () sim () não

MEDICAMENTO	VIA DE ADMINISTRAÇÃO	DOSE	FREQUÊNCIA

Data e horário da coleta

Data e horário da última dose de olanzapina

INFORMAÇÃO ESCRITA

A olanzapina é um novo agente antipsicótico que foi, em 1996, aprovado para uso no tratamento da esquizofrenia e vem sendo utilizada como agente terapêutico de escolha no tratamento da esquizofrenia não satisfatoriamente controlada por outros medicamentos e relativo êxito em outras desordens psicóticas relacionadas.

No Brasil, este fármaco está sendo comercializado como ZYPREXA[®], pela ELI LILLY é usado com frequência e de maneira crescente. Entretanto, nenhuma metodologia foi ou está sendo aplicada por laboratórios nacionais no que diz respeito à monitorização terapêutica deste fármaco.

A monitorização das concentrações séricas da olanzapina parece ser útil no esquema de dosagem, particularmente, naqueles pacientes que possuem fatores de risco associados e que fazem uso concomitante de outros fármacos, pois permite otimizar a farmacoterapia atingindo um máximo de benefícios e minimizando os riscos de toxicidade, uma vez que os efeitos terapêuticos e tóxicos parecem estar mais relacionados à concentração sérica do que à dose administrada.

Uma vez que a determinação sérica de olanzapina poderá otimizar seu uso e que a compreensão dos mecanismos envolvidos no ganho de peso podem contribuir para novas estratégias de aderência ao tratamento medicamentoso e melhorar a reabilitação do paciente, este trabalho pretende realizar a determinação sérica da olanzapina e avaliação da relação leptina-neuropeptídeo Y e sua influência no ganho de peso em portadores de esquizofrenia e de desordens psicóticas relacionadas.

Para tanto, serão coletados, de cada indivíduo aproximadamente 20 mL de sangue venoso periférico com tubos Vacutainer[®], adequados para cada tipo de análise a ser realizada e submetido o soro à determinação de olanzapina por cromatografia líquida de alta eficiência. Haverá uma avaliação de possíveis alterações bioquímicas, através de determinadas análises como: colesterol total e triglicérides, leptina e neuropeptídeo Y.

REGISTRO E/OU DOCUMENTO DE IDENTIFICAÇÃO:

PACIENTE: _____

RESPONSÁVEL: _____

GRAU DE PARENTESCO: _____

TÍTULO DO PROJETO:

OLANZAPINA E GANHO DE PESO: CORRELAÇÃO COM NÍVEIS SÉRICOS

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Declaro que em ___/___/200_ concordei em participar, como paciente, do projeto de pesquisa acima referido. Fui devidamente informado em detalhes pelo médico responsável que:

- 1- O estudo implica em que eu me submeta a procedimentos, exames complementares e tratamentos devidamente planejados.
- 2- Os procedimentos não incluem, necessariamente, os já reconhecidos como aplicáveis em casos como o meu e podem visar à avaliação de tratamentos novos ou a compará-los com os tradicionais.
- 3- Não sou obrigado a continuar participando do projeto e posso, a qualquer momento sair do mesmo, sem que isto leve a que eu deixe de ser tratado como os demais pacientes assistidos na instituição.
- 4- A pesquisa não será feita se houver, relacionados à mesma, grandes riscos para mim. Da mesma forma, caso algum risco proibitivo venha a se revelar no decurso do estudo, o pesquisador se compromete a me alertar sobre o fato e a suspender de imediato minha participação como paciente.

Cidade, ___ de _____ de 200_.

Assinatura do paciente ou
responsável

Assinatura do médico que
obteve o consentimento
(carimbo ou nome legível, com CRM)