

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO  
DEPTO. DE NEUROCIÊNCIAS E CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO  
DIVISÃO DE PSIQUIATRIA

---

---

CRISTIANO CHAVES

---

---

**Estudo piloto duplo-cego randomizado  
da adição de minociclina ou placebo  
ao tratamento usual de esquizofrenia  
de início recente**

---

---

RIBEIRÃO PRETO  
2010

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**CRISTIANO CHAVES**

**Estudo piloto duplo-cego randomizado da adição de minociclina  
ou placebo ao tratamento usual de esquizofrenia de início recente**

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Medicina de Ribeirão Preto,  
Universidade de São Paulo, para  
obtenção do título de Mestre em Saúde  
Mental.

Área de concentração: Saúde Mental  
Orientador: Prof. Dr. Antonio W.  
Zuardi

**Ribeirão Preto  
2010**

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

## **Ficha catalográfica**

Chaves, Cristiano.

Estudo piloto duplo-cego randomizado da adição de minociclina ou placebo ao tratamento usual de esquizofrenia de início recente / Cristiano Chaves; orientador: Prof. Dr. Antonio W. Zuardi – Ribeirão Preto, 2010.

85 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, 2010.

1. Esquizofrenia. 2. Minociclina. 3. Tratamento adjuvante 4. Glutamato.

Dedico esta dissertação de mestrado especialmente àqueles que mais amo, à minha família, que com desvelo alimenta meus sonhos, minhas buscas, minha formação pessoal e profissional. Assim consagro este trabalho a meu pai Públio, a minha mãe Marilene, a meu irmão Públio Júnior e a minha irmã Isabela, fontes de amor incondicional, aos quais devoto todo meu carinho e gratidão. Também dedico esta dissertação a minha magnânima avó Juraci, que com encanto se faz tão viva e presente em todas minhas leituras literárias ou acadêmicas.

## AGRADECIMENTOS

Sinto-me grato pelas inúmeras pessoas que me auxiliaram na concretização deste trabalho e é-me difícil encontrar as palavras perfeitas de agradecimento. Há ainda o fel de esquecer pessoas que foram importantes para esta realização. Assim, adianto-me, e peço que me perdoem a omissão daqueles que, embora não citados, merecem todo meu apreço.

Entre os corredores da pós-graduação, dizem que há uma filiação no meio acadêmico. Assim, na ciência, sou filho do Prof. Jaime e neto do Prof. Zuardi, que me orientaram neste trabalho. Destarte, agradeço ao Prof. Jaime tal qual um filho agradece ao pai, que me abriu as portas do conhecimento, convidando-me a ingressar na pós-graduação e, entre brincadeiras e seriedade, aponta-me o caminho a galgar. Também rendo graças ao Prof. Zuardi, que inspira sabedoria e serenidade a todos que se aproximam dele, alguém em que humildemente tento me espelhar.

Outrossim, há os irmãos nesta família acadêmica, os colegas de pós-graduação. Em primeiro lugar, agradeço ao psiquiatra João Paulo, amigo fiel destes anos de mestrado e que me auxiliou a coletar os dados. Em segundo lugar, agradeço à Crisinha, que realizou os testes neuropsicológicos. Também agradeço ao grande amigo Derê, à Tati, ao Futuco, à Ceci, à Suzana, ao psicólogo João Paulo, ao Dr. Sílvio e ao Prof. Crippa.

Há, ainda, os amados companheiros da labuta diária. Desse modo, agradeço especialmente aos grandes amigos Hamilton e Marluce, assim como a toda turma (Tobias, Fábio, Rodolfo, Alanina, Dú, Maira, Paulinha etc).

Também expresso gratidão aos demais familiares, que são meu apoio, minha segurança e meu estímulo de vida.

Agradeço, sobretudo, aos pacientes que participaram do estudo.

“Para ser grande, sê inteiro: nada  
Teu exagera ou exclui.  
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és  
No mínimo que fazes.  
Assim em cada lago a Lua toda  
Brilha, porque alta vive.”

Ricardo Reis  
(Heterônimo de Fernando Pessoa)

## RESUMO

CHAVES, C. **Estudo piloto duplo-cego randomizado da adição de minociclina ou placebo ao tratamento usual de esquizofrenia de início recente.** 85 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

A eficácia limitada dos atuais antipsicóticos sobre os diversos sintomas da esquizofrenia tem levado à busca de novos medicamentos para este transtorno. A minociclina é um antibiótico do grupo das tetraciclinas com evidências crescentes de neuroproteção em várias doenças neurológicas e pode potencialmente otimizar o tratamento antipsicótico da esquizofrenia. O objetivo deste estudo é determinar se a adição de minociclina ao tratamento usual irá prevenir o acúmulo de sintomas negativos e declínio cognitivo em pacientes com esquizofrenia de início recente e se irá estabilizar ou potencializar a eficácia dos antipsicóticos. Participaram do estudo 30 pacientes com esquizofrenia do Serviço de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, diagnosticados pelos critérios do Manual Diagnóstico e Estatístico da Associação Psiquiátrica Americana - 4a edição (DSM-IV), de início recente (<5 anos), em dose estável do antipsicótico há pelo menos 4 semanas, com idade entre 18 e 65 anos e sem condições médicas relevantes. O seguimento foi de 12 meses, com consultas mensais. Para avaliação de resultados primários, foram utilizadas as escalas PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale) e CGI (Clinical Global Impression scale). Testes neuropsicológicos foram realizados no início e após 12 meses. Os efeitos colaterais foram avaliados pela escala de movimentos involuntários anormais (Abnormal Involuntary Movement Scale-AIMS) e a escala de efeitos colaterais para drogas psicoterapêuticas UKU (UKU Side Effect Rating Scale for psychotherapeutic drugs). Os pacientes, familiares e pesquisadores assistentes eram cegos quanto à droga administrada. Os sujeitos (n=30) foram randomizados para receber minociclina 200 mg/d (n=16) ou placebo (n=14). Seis pacientes abandonaram o estudo, observando-se que houve mais pacientes que não completaram o estudo no grupo placebo (n=4) do que no grupo minociclina (n=2). Houve cuidadoso emparelhamento de parâmetros de confusão que podem interferir no curso da esquizofrenia, tais como idade, tempo de educação, tempo de doença, tempo de psicose sem tratamento, gênero, subtipo diagnóstico e tipos de antipsicótico em uso. Não houve efeitos colaterais significativos. A análise estatística foi feita com 24 pacientes (14 no grupo minociclina e 10 no grupo placebo). Para a PANSS e suas subescalas, realizou-se análise de variância de medidas repetidas (RANOVA) para o fator tempo, droga e interação entre os dois fatores, seguido de RANOVA para cada grupo individualmente. Para a CGI, que é uma variável ordinal, foi realizado teste de Friedman. Para os testes neuropsicológicos, utilizou-se teste t pareado para cada grupo independentemente. Os pacientes em uso de minociclina tiveram melhora significativa na pontuação da CGI e uma redução significativa das pontuações da PANSS e de suas subescalas a partir de 15 a 30 dias de tratamento com minociclina. Não houve diferenças significativas ao longo do tempo no grupo placebo. Não houve diferenças significativas em ambos os grupos no desempenho nos testes neuropsicológicos. Assim, o tratamento adjuvante com minociclina levou à melhora em sintomas positivos e negativos da esquizofrenia, sendo uma medicação segura e promissora na terapêutica adjuvante da esquizofrenia.

Palavras-chaves: Esquizofrenia. Minociclina. Tratamento adjuvante. Glutamato.



## ABSTRACT

CHAVES, C. **Double-blind, placebo-controlled pilot trial of minocycline added to treatment as usual on recent-onset schizophrenia**. 2010. 85 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

The limited efficacy of current antipsychotic drugs on the various symptoms of schizophrenia has led to the search for new drugs for this disorder. Minocycline is an antibiotic of the tetracycline group with growing evidence of neuroprotection in diverse neurological diseases and can potentially optimize the antipsychotic treatment of schizophrenia. The aim of this study is to determine whether the addition of minocycline to the usual treatment will prevent the accumulation of negative symptoms and cognitive decline in patients with recent-onset schizophrenia and if it will stabilize or increase the effectiveness of antipsychotics. This study included 30 outpatients with schizophrenia from the Department of Psychiatry of the Medical School of Ribeirão Preto, diagnosed by the criteria of the Diagnostic and Statistical Manual of the American Psychiatric Association - 4th edition (DSM-IV), with recent-onset schizophrenia (<5 years), on stable antipsychotic dose for at least 4 weeks, aged between 18 and 65 years and without relevant medical conditions. The follow-up was 12 months with monthly consultations. Primary outcomes were evaluated by PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale) and CGI (Clinical Global Impression scale). Neuropsychological tests were performed at the beginning and after 12 months. Side effects were assessed by the Scale of Abnormal Involuntary Movements (AIMS) and UKU Side Effect Rating Scale for psychotherapeutic drugs. Patients, their relatives and researchers were blind as to the drug administered. The subjects (n=30) were randomized to receive minocycline 200 mg/d (n=16) or placebo (n=14). Six patients left the study, noting that there were more patients who did not complete the study in the placebo group (n=4) than in the minocycline group (n=2). There was careful matching of confounding parameters that may interfere with the course of schizophrenia, such as age, length of education, duration of illness, duration of untreated psychosis, gender, diagnostic subtype and type of antipsychotic in use. There were no significant side effects. Statistical analysis was performed with 24 patients (14 in the minocycline group and 10 in the placebo group). For the PANSS and its subscales, it was used the analysis of variance with repeated measures (RANOVA) for the factor time, followed by RANOVA for each group individually. For the CGI, which is an ordinal variable, it was used the Friedman test. For the neuropsychological tests, we used paired t-test for each group independently. The patients taking minocycline had significant improvement in CGI scores and showed a significant reduction of PANSS and its subscales scores from 15 to 30 days of minocycline treatment. There were no significant differences in the placebo group. There were no significant differences in both groups in performance on neuropsychological tests. Thus, adjuvant treatment with minocycline led to improvement in positive and negative symptoms of schizophrenia. This medication may be safe and effective in the adjuvant therapy of schizophrenia.

Key words: Schizophrenia. Minocycline. Adjuvantive treatment. Glutamate.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Curso da esquizofrenia. ....	17
Figura 2. Sintomas negativos ao longo do curso da esquizofrenia. ....	19
Figura 3. Estrutura química da minociclina.....	25
Figura 4. Fluxograma dos pacientes incluídos no estudo.....	39

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Pontuação na escala de impressão clínica global (CGI).....	43
Gráfico 2. Pontuação total da PANSS.....	44
Gráfico 3. Pontuação na subescala positiva da PANSS.....	45
Gráfico 4. Pontuação na subescala negativa da PANSS.....	46
Gráfico 5. Pontuação na escala de psicopatologia geral da PANSS.....	47

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Mecanismos de neuroproteção da minociclina.....	26
Tabela 2. Características demográficas e clínicas dos sujeitos .....	41
Tabela 3. Testes neuropsicológicos .....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS

AIF	Fator indutor de apoptose
AIMS	Abnormal Involuntary Movement Scale (Escala de Movimentos Involuntários Anormais)
AREP	Ambulatório de Reabilitação Psicossocial
BNF	British National Formulary
CGI	Clinical Global Impression (Escala de Impressão Clínica Global)
CID-10	Classificação Internacional de Doenças, 10 <sup>a</sup> edição
DP	Desvio Padrão
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual (Manual Diagnóstico e Estatístico da Associação Psiquiátrica Americana, 4 <sup>a</sup> edição)
EPM	Erro Padrão da Média
g.l.	Grau de Liberdade
HCRP	Hospital das Clínicas da Faculdade Medicina de Ribeirão Preto
iNOS	Óxido nítrico sintetase indutível
ISRS	Inibidores seletivos da recaptção de serotonina
MAPK	Proteínas quinases ativadas por mitógeno
MMPs	Metaloproteínas de matriz
N	Número de Sujeitos
NMDA	N-metil-D-aspartato
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale (Escala das Síndromes Positiva e Negativa para esquizofrenia)
PI3-k	Proteína quinase fosfatidilinositol-3
SNC	Sistema Nervoso Central
USP	Universidade de São Paulo

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
1.1	Esquizofrenia - aspectos gerais e históricos	13
1.2	Apresentação clínica	14
1.3	Progressão dos sintomas da esquizofrenia	16
1.4	Hipótese glutamatérgica da esquizofrenia	20
1.5	Tratamento farmacológico da esquizofrenia	22
1.6	Efeitos neuroprotetores da minociclina	25
1.7	Hipóteses do estudo	27
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS DO ESTUDO</b>	<b>28</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>29</b>
3.1	Sujeitos	29
3.1.1	<i>Critérios de Inclusão</i>	29
3.1.2	<i>Critérios de Exclusão</i>	30
3.2	Instrumentos de avaliação	30
3.2.1	<i>Escalas de avaliação clínica</i>	30
3.2.2	<i>Testes neuropsicológicos</i>	31
3.3	Droga	34
3.4	Procedimento	36
3.4.1	<i>Recrutamento</i>	36
3.4.2	<i>Primeira avaliação</i>	36
3.4.3	<i>Randomização</i>	37
3.4.4	<i>Seguimento</i>	37
3.5	Análise dos resultados	39
3.5.1	<i>Análise Principal</i>	39
3.5.2	<i>Emparelhamento</i>	40
3.6	Padrões éticos e regulatórios	41
3.6.1	<i>Comitê de Ética em Pesquisa Local</i>	41
3.6.2	<i>Aprovação da Instituição Financiadora (Stanley Medical Research Institute)</i>	41
3.6.3	<i>Declaração de Helsinque e Resolução 196/96</i>	42
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>43</b>
4.1	Eficácia global	43
4.1.1	<i>Pontuação na CGI</i>	43
4.1.2	<i>Pontuação total da PANSS</i>	44
4.2	Eficácia em sintomas positivos	44
4.3	Eficácia em sintomas negativos	45
4.4	Eficácia em psicopatologia geral	46
4.5	Eficácia em sintomas cognitivos	47
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>49</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>56</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>57</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>63</b>
	ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido	63
	ANEXO B – Carta de aprovação do comitê de ética em pesquisa do HCRP	71
	ANEXO C – Carta de aprovação da comissão nacional de ética em pesquisa (CONEP)	72
	APÊNDICE A – Artigo de revisão publicado pelo autor	73

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Esquizofrenia - aspectos gerais e históricos

A esquizofrenia é provavelmente o mais grave dos transtornos psiquiátricos e afeta aproximadamente 1% da população mundial. O indivíduo acometido pode apresentar delírios, alucinações, desorganização da fala e do comportamento, apatia e deterioração do funcionamento social. Além disso, cerca de 10 % dos pacientes com esquizofrenia cometem suicídio. O típico aparecimento desta doença é observado em adultos jovens e seu curso é freqüentemente crônico. O impacto social e econômico é enorme e os efeitos em portadores desta doença e em seus familiares podem ser devastadores (ANDREASEN, 2000).

Embora descrições de pessoas que tiveram sintomas típicos de esquizofrenia possam ser encontradas ao longo da história, as primeiras descrições completas datam do início do século XVIII. O conceito moderno de esquizofrenia foi primeiramente formalizado pelo psiquiatra alemão Emil Kraepelin, na virada do século XX. Kraepelin, que fez descrições de síndromes como catatonia e hebefrenia, foi o primeiro a distinguir psicoses afetivas de psicoses não-afetivas. Ele descreveu um grupo de pacientes em que o quadro clínico era dominado por sintomas de humor proeminentes e seguiam um padrão cíclico de recaída e relativa remissão entre episódios. Ele denominou este quadro como “psicose maníaco-depressiva”. Descreveu outro grupo que apresentava uma doença degenerativa, caracterizada por sintomas psicóticos floridos, com início na adolescência. Este grupo evoluía com curso crônico e era marcado por profundos prejuízos funcional e social, apresentando um quadro demencial como desfecho final. Chamou este grupo de “demência precoce”. Desde então, este conceito tem influenciado a nossa percepção desta doença, apesar de Kraepelin reconhecer muitas de suas limitações. Observava que a doença não era restrita a indivíduos jovens, que a progressão para demência não era inevitável e que alguns indivíduos exibiam recuperação do quadro (KRAEPELIN, 1919).

Em 1911, o psiquiatra suíço Eugen Bleuler cunhou o termo “esquizofrenia”, o qual rapidamente substituiu o termo “demência precoce” (STEFAN; TRAVIS; MURRAY, 2002). O quadro clínico heterogêneo e diferentes abordagens teóricas da esquizofrenia, somados à falta de elementos prognósticos e à falha em descobrir

anormalidades patológicas, levaram à falta de confiabilidade do diagnóstico de esquizofrenia em diferentes países. Em 1959, Kurt Schneider estabeleceu uma lista de sintomas que provavelmente guiarão ao diagnóstico de esquizofrenia na ausência de doença orgânica cerebral. Ele denominou de “sintomas de primeira ordem”, os quais foram escolhidos por serem facilmente observáveis e identificados com maior confiabilidade. A posterior definição de critérios operacionais e regras para o diagnóstico da esquizofrenia facilitaram a consistência do diagnóstico e a investigação da epidemiologia da doença. Assim, o desenvolvimento e uso de definições operacionais foram criados pelo Manual de Diagnóstico e Estatística da Associação Psiquiátrica Americana (DIAGNOSTIC AND STATISTICAL MANUAL - DSM) e pela Classificação Internacional das Doenças (CID).

## **1.2 Apresentação clínica**

O início dos sintomas pode ocorrer de forma rápida ou insidiosa, podendo haver um período prodrômico prolongado em que o indivíduo torna-se lentamente introvertido e apático. Neste período, a pessoa afetada pode apresentar interesses incomuns, afastar-se das pessoas próximas e começar a ter prejuízos no desempenho laboral ou escolar. Este processo pode demorar semanas a anos e freqüentemente ocorre um evento precipitante antes do início dos sintomas psicóticos (STEFAN; TRAVIS; MURRAY, 2002). Os sintomas agudos são variáveis e geralmente incluem delírios, alucinações auditivas, alterações formais do pensamento e experiências de passividade ou influência externa.

A esquizofrenia pode ser mais bem entendida sob um modelo multidimensional, agregando os múltiplos sintomas em cinco agrupamentos: sintomas positivos, sintomas negativos, sintomas de desorganização, disfunção cognitiva e sintomas afetivos (ANDREASEN, 1982). Os sintomas positivos incluem delírios e alucinações e estão presentes no período de exacerbação psicótica. Apesar da melhora com o tratamento farmacológico, sintomas positivos freqüentemente persistem na esquizofrenia crônica, embora não tendam a ser predominantes (STEFAN; TRAVIS; MURRAY, 2002). Os sintomas negativos são compostos por embotamento afetivo, anedonia, alogia, retraimento social e diminuição da motivação, iniciativa e atividade. Mais de 50 % dos pacientes com esquizofrenia apresentarão evidência de um grau significativo de sintomas negativos



(STEFAN; TRAVIS; MURRAY, 2002). Os sintomas afetivos incluem afeto inapropriado, desmoralização, disforia e idéias de suicídio. Os sintomas de desorganização abrangem desorganização do pensamento e do comportamento. Por último, a disfunção cognitiva abarca alterações da memória, da atenção e de funções executivas. Além disso, podem ocorrer quadros com apresentação catatônica (STEFAN; TRAVIS; MURRAY, 2002).

Destaca-se que a presença de sintomas negativos e déficits cognitivos são relacionados a pior prognóstico, pior resposta a antipsicóticos, ajustamento pré-mórbido ruim e anormalidades cerebrais estruturais (STEFAN; TRAVIS; MURRAY, 2002; STAHL; BUCKLEY, 2007; MURPHY et al., 2006, BUCHANAN, 2007a). Estes sintomas são difíceis de tratar e são as características clínicas de maior associação com incapacidade funcional em longo prazo. Embora 90% dos pacientes em primeiro episódio de psicose apresentem remissão após um ano de tratamento, apenas 1 em cada 3 pacientes terá um bom resultado funcional, o que demonstra que o desfecho funcional não pode ser predito somente pela remissão dos sintomas psicóticos positivos (LIEBERMAN, 1993).

A presença de sintomas negativos e déficits cognitivos na esquizofrenia contribuem para um pior desfecho clínico e pior funcionamento global dos pacientes portadores desta doença (BUCKLEY; STAHL, 2007). Em muitos pacientes, o tratamento psicofarmacológico da esquizofrenia produz melhora principalmente em sintomas positivos, sendo que melhora de sintomas negativos e de sintomas cognitivos são mais difíceis de serem observados e os efeitos dos atuais antipsicóticos são em geral decepcionantes. Em geral, os sintomas positivos da esquizofrenia tendem a ser variáveis ao longo da doença, enquanto que sintomas negativos e cognitivos tendem a ser mais persistentes (STAHL; BUCKLEY, 2007; MURPHY et al., 2006).

A falta de tratamentos efetivos para sintomas negativos também é um problema particular porque esses sintomas estão associados à piora em diversos domínios, a saber: qualidade de vida, funcionamento social, relacionamentos interpessoais, reabilitação vocacional e funcionamento global (STAHL; BUCKLEY, 2007).

A presença de deterioração cognitiva na esquizofrenia é bem descrita na literatura desde Kraepelin e Bleuler, que já descreviam diversos prejuízos cognitivos em pacientes com esquizofrenia (OJEDA et al., 2007). O nome prévio da

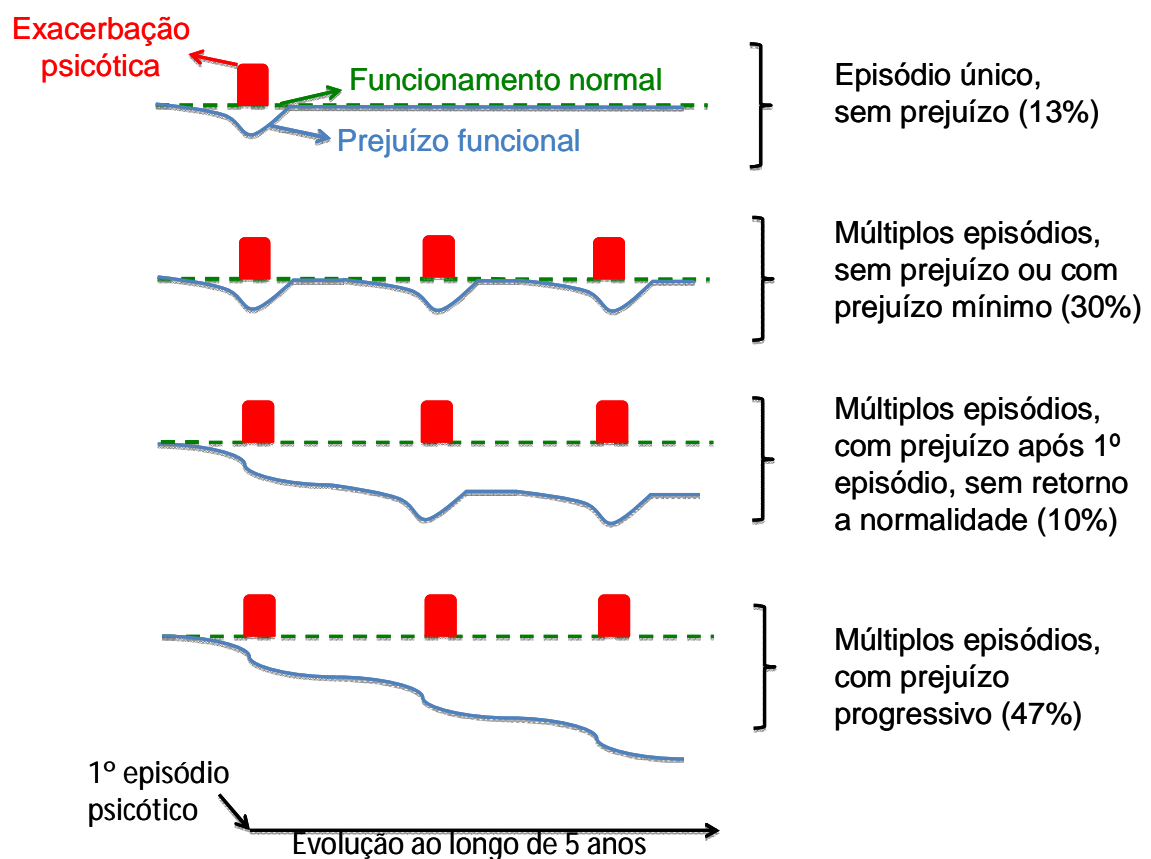
esquizofrenia, “demência precoce”, já refletia a importância do aspecto cognitivo da esquizofrenia (KRAEPELIN, 1919). A maior parte dos indivíduos com esquizofrenia apresenta uma grande gama de disfunções cognitivas, que incluem o processamento de informações, atenção, resolução de problemas, velocidade de processamento, memória operacional, memória e aprendizado verbal e visual (BUCHANAN, 2007a). A ocorrência de déficits cognitivos é estimada em 75 – 85 % dos pacientes com esquizofrenia, freqüentemente precede o início dos sintomas psicóticos e persiste mesmo após outros sintomas terem sido efetivamente tratados (GRAY; ROTH, 2007). Além do mais, uma metanálise de déficits cognitivos na esquizofrenia sugere que os índices de disfunção cognitiva são importantes preditores do prejuízo funcional que comumente acomete esses pacientes (GREEN, 1996). Adicionalmente, déficits cognitivos graves predizem pobre adesão medicamentosa e maior tendência de recaída de pacientes em primeiro episódio de psicose (GRAY; ROTH, 2007).

### **1.3 Progressão dos sintomas da esquizofrenia**

A teoria de alterações do neurodesenvolvimento da esquizofrenia postula que fatores etiológicos e patológicos precedem (provavelmente já no período gestacional) o aparecimento clínico desta doença. Isso ocorre devido a alterações no curso normal do neurodesenvolvimento, levando a alterações patológicas de neurônios específicos em circuitos neurais, resultando finalmente em disfunção que se apresenta geralmente após um período de latência de duas a três décadas (LIEBERMAN, 1999). Apesar das crescentes evidências de que alterações do neurodesenvolvimento têm importante papel na diátese para o surgimento da esquizofrenia, outros processos fisiopatológicos também podem estar envolvidos. Um dos aspectos principais concerne ao curso progressivo e deteriorativo que ocorre após o início do primeiro episódio de psicose.

A piora e a persistência de sintomas psicóticos, negativos e cognitivos, assim como a perda de funcionamento global que ocorre após o início da esquizofrenia, têm sido chamadas de deterioração clínica (LIEBERMAN, 1999). As causas subjacentes e os limites temporais dessa deterioração são incertos, embora sejam geralmente atribuídos à progressão da doença e associado a períodos de exacerbação psicótica. A tendência dos pacientes apresentarem deterioração é

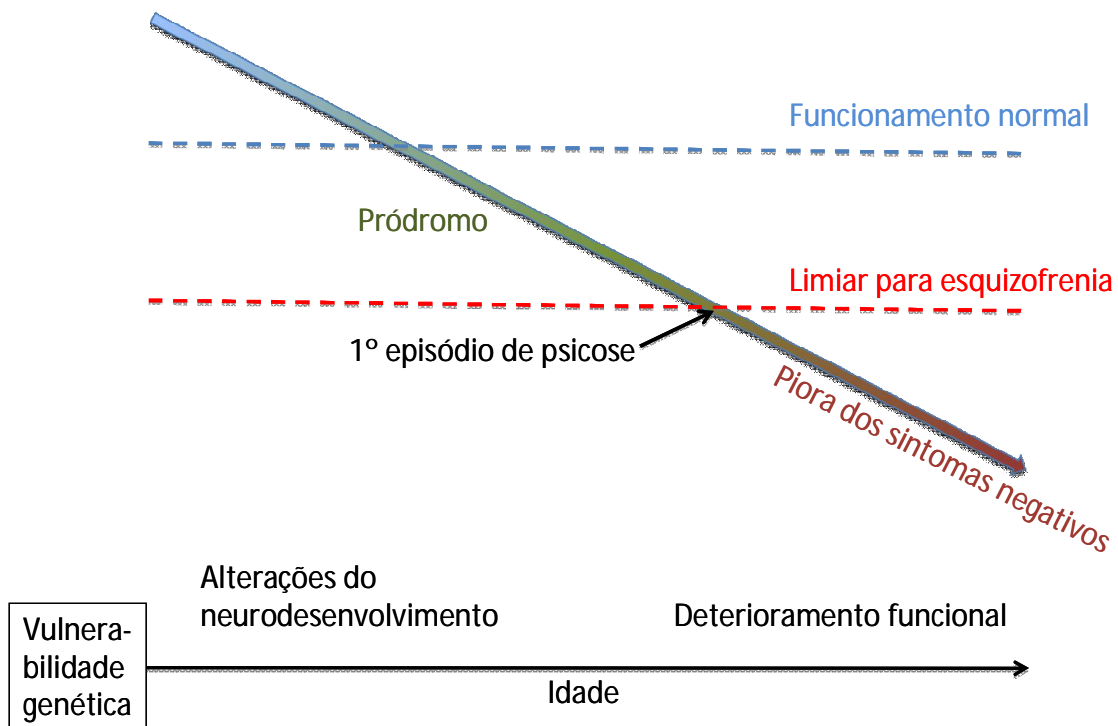
correlacionada com a duração e número de exacerbações psicóticas agudas e período de psicose não tratada, iniciando-se na fase prodrômica do primeiro episódio de psicose. Esta deterioração ocorre principalmente no estágio inicial da doença, havendo uma relativa estabilização após cinco anos do início da esquizofrenia (LIEBERMAN, 1999). Apesar de evidências clínicas de um curso progressivo da esquizofrenia, não foram observadas alterações histopatológicas características ou evidências de morte celular. Assim, a deterioração clínica na esquizofrenia difere de doenças neurodegenerativas clássicas, pois não se observa gliose cerebral em estudos post-mortem e nem progressão linear ou deterioração inexorável para morte ou incapacidade física grave na esquizofrenia (LIEBERMAN, 1999). Apesar da grande variabilidade de antipsicóticos disponíveis atualmente, o curso da esquizofrenia permanece bastante variável, ressaltando que uma deterioração funcional progressiva é o mais comumente observado (figura 1).



**Figura 1. Curso da esquizofrenia. Adaptado de Shepherd et al. (1989), mostrando quatro padrões típicos da evolução da esquizofrenia em um estudo coorte longitudinal durante um período de cinco anos**

O processo de deterioração na esquizofrenia fica mais visível quando pacientes no estágio inicial da doença são comparados com pacientes crônicos, que já tiveram múltiplos episódios de exacerbação psicótica (LIEBERMAN, 1999). De uma forma geral, pacientes crônicos têm maior morbidade na maioria das dimensões clínicas e biológicas da doença. Uma possível hipótese seria de que pacientes crônicos representam um subgrupo mais grave de pacientes. Todavia, diversos estudos coortes longitudinais com pacientes em primeiro episódio psicótico têm demonstrado progressão em vários índices da doença (MCGLASHAN, 1988; LIEBERMAN, 1996; STIRLING, 2003).

A deterioração clínica na esquizofrenia também é evidenciada pela evolução dos sintomas ao longo do curso da doença. Apesar da heterogeneidade e variabilidade dos sintomas entre pacientes, alguns aspectos distintos podem ser ressaltados em estudos de longo prazo. Há uma tendência dos sintomas positivos se sobreporem ao quadro clínico no estágio inicial da esquizofrenia, enquanto sintomas negativos tendem a ser menos comuns e menos graves nos estágios iniciais do que em estágios tardios (LIEBERMAN, 1999). Outro aspecto importante é que os sintomas negativos estão frequentemente presentes bem no início do curso da esquizofrenia, como sintomas prodrômicos, seguindo um processo de deterioramento funcional que pode contribuir para a piora dos sintomas negativos com a idade (STAHL; BUCKLEY, 2007), como mostrado na figura 2.



**Figura 2. Sintomas negativos ao longo do curso da esquizofrenia. Adaptado de Stahl e Buckley (2007).**

Diversos estudos de morfologia cerebral em esquizofrenia têm demonstrado alterações estruturais em várias regiões anatômicas em comparação com sujeitos controles. Alterações do neurodesenvolvimento são encontradas, tais como persistência e alargamento de cavum septum pellucidi, agenesia de corpo caloso e heterotopias de substância cinzenta (HALLAK et al., 2007). Pelo menos algumas alterações apresentam um curso progressivo após início da doença, o que sugere um processo neurodegenerativo ativo (PEREZ-NERI et al., 2006). Essas alterações envolvem principalmente redução de substância cinzenta (em hipocampo, amígdala, córtex frontal e temporal, tálamo, entre outros) e alargamento dos ventrículos, do espaço subaracnóideo e dos giros corticais (LIEBERMAN, 1999; PEREZ-NERI et al., 2006). Todavia, uma completa descrição das alterações morfológicas estruturais na esquizofrenia está além do escopo deste trabalho.

Dessa forma, há crescentes evidências clínicas, neuropsicológicas e de neuroimagem em relação a um possível envolvimento de um processo progressivo durante o curso da esquizofrenia, entre o primeiro episódio e os anos subseqüentes.

Entretanto, ainda não está claro quais sistemas ou áreas do cérebro seriam mais afetados. Diversas pesquisas têm investigado os possíveis processos fisiopatológicos que podem estar envolvidos na esquizofrenia. Talvez a hipótese mais extensivamente estudada na última década seja de uma disfunção glutamatérgica na esquizofrenia.

#### 1.4 Hipótese glutamatérgica da esquizofrenia

A dopamina foi o principal neurotransmissor estudado na fisiopatologia da esquizofrenia. A hipótese dopaminérgica da esquizofrenia nasceu em 1963, após a demonstração de que drogas antipsicóticas alteram o nível de catecolaminas no cérebro (CARLSSON; LINDQVIST, 1963). Foi reforçada após a descoberta de que a eficácia e a potência dos antipsicóticos eram diretamente relacionadas à capacidade destas drogas antagonizarem os receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> (CRESSE; BURT; SNYDER, 1976, FARDE et al., 1988). Todavia, apesar da desregulação do sistema dopaminérgico estar implicada na fisiopatologia da esquizofrenia, os antagonistas dopaminérgicos (antipsicóticos típicos) têm efeitos limitados sobre sintomas negativos e sobre o prejuízo cognitivo, embora sejam eficazes sobre os sintomas positivos (POTKIN et al., 1999).

Outros neurotransmissores começaram a ser investigados na fisiopatologia da esquizofrenia, como serotonina, noradrenalina, endocanabinóides, GABA (ácido  $\gamma$ -aminobutírico), acetilcolina e glutamato. O neurotransmissor glutamato tem sido implicado nos mecanismos de neurodegeneração e também na própria gênese da psicose. O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central (SNC) e está implicado em funções cognitivas como memória e aprendizado (BRESSAN; PILOWSKY, 2003). Duas hipóteses opostas, mas não totalmente contraditórias, assinalam o papel do glutamato na esquizofrenia: 1) hipótese da hipofunção glutamatérgica e 2) hipótese da hiperfunção glutamatérgica (HALLAK, 2003).

Deakin publicou evidências de que marcadores glutamatérgicos estão anormalmente expressos em amostras post-mortem de cérebros de pacientes com esquizofrenia (DEAKIN; SIMPSON, 1997). A hipótese glutamatérgica da esquizofrenia postula que uma disfunção da neurotransmissão mediada pelos receptores glutamatérgicos N-metil-D-aspartato (NMDA) pode representar um déficit

primário neste transtorno (OLNEY; NEWCOMWEL; FARBER, 1999), e possivelmente tem como conseqüência o aumento compensatório da liberação de glutamato nos receptores glutamatérgicos não NMDA. A principal evidência de que a disfunção glutamatérgica esteja envolvida na psicose é sustentada pelo fato de que antagonistas do receptor NMDA induzem sintomas psicóticos em voluntários saudáveis (KRYSTAL et al., 1994) e levam à exacerbação dos sintomas psicóticos em pacientes com esquizofrenia (LAHTI et al., 1995). Além disso, o modelo de psicose induzida por antagonistas NMDA é mais próximo de certos aspectos clínicos da esquizofrenia do que o modelo anfetamina/dopamina, principalmente devido à produção adicional de sintomas negativos e déficits cognitivos (OLNEY; NEWCOMWEL; FARBER, 1999, KRYSTAL et al., 1994, MALHOTRA et al., 1997).

É provável que a esquizofrenia envolva uma alteração complexa dos receptores glutamatérgicos em diferentes redes neurais, de forma que haja áreas cerebrais em estado hipoglutamatérgico e outras em estado hiperglutamatérgico (HALLAK, 2003). Complementarmente, o sistema glutamatérgico está integrado ao sistema dopaminérgico, apresentando grandes interações no SNC (BRESSAN; PILOWSKY, 2003). Estudos em animais demonstram que a administração de antagonistas NMDA também produz um estado hiperdopaminérgico em via mesocortical, o qual está associado aos sintomas positivos da esquizofrenia (ZHANG et al., 2007).

Outro ponto de interesse diz respeito à idéia de que o glutamato possa estar envolvido nas respostas neuroquímicas adaptativas de longo prazo ao uso de antipsicóticos, o que implicaria que uma disfunção do sistema glutamatérgico cerebral possa fazer com que essas drogas antipsicóticas fiquem menos efetivas com o decorrer do tempo e predisponha à ocorrência de novos surtos psicóticos nos portadores de esquizofrenia.

Disfunções do sistema glutamatérgico também estão envolvidas em outras doenças neurológicas como epilepsia, isquemia cerebral, doença de Alzheimer, doença de Huntington, entre outras (BRESSAN; PILOWSKY, 2003, PI et al., 2004). Dessa forma, drogas com efeitos neuroprotetores contra a neurotoxicidade induzida por glutamato são de particular interesse no tratamento de doenças neurodegenerativas e na esquizofrenia. Vale ressaltar que os sintomas psicóticos e a progressão dos sintomas da esquizofrenia podem ser, pelo menos em parte, mediados por um aumento compensatório da liberação de glutamato em receptores

não NMDA no cérebro. Assim, justifica-se a hipótese de que drogas com efeitos neuroprotetores contra a neurotoxicidade mediada por glutamato podem ter efeitos antipsicóticos e também neuroprotetores na esquizofrenia.

### **1.5 Tratamento farmacológico da esquizofrenia**

A descoberta dos efeitos antipsicóticos da clorpromazina em 1952 iniciou uma nova era de tratamentos farmacológicos efetivos para a esquizofrenia. Desde então os antipsicóticos são a base do tratamento da esquizofrenia e o conhecimento da química e farmacologia dessas medicações levou a um grande avanço no entendimento da fisiopatologia da esquizofrenia. Johnstone et al. (1988) mostrou que a pimozida era antipsicótico (reduziu os sintomas positivos da psicose) em pacientes com diferentes tipos de psicose, independentemente se os pacientes tinham sintomas maníacos ou depressivos proeminentes. Este estudo sugeriu que os “neurolépticos”, como eram popularmente chamados, fossem na verdade antipsicóticos em vez de simplesmente “anti-esquizofrênicos”. Uma das limitações dos antipsicóticos típicos consistia que estes por vezes produziam sintomas parkinsonianos nos pacientes.

Nas últimas décadas, houve a introdução de antipsicóticos de segunda geração, com grande entusiasmo de se obter maior eficácia no tratamento da esquizofrenia. Estes antipsicóticos apresentam a mesma eficácia em sintomas positivos da esquizofrenia, porém com menor propensão a induzirem efeitos extrapiramidais, sendo então chamados de “atípicos” (TANDON et al., 2008). Psiquiatras clínicos consideraram que estas drogas também tinham maior espectro de ação em sintomas negativos, afetivos e cognitivos. Todavia, dois estudos em grande escala patrocinados pelos governos dos Estados Unidos (Clinical Antipsychotic Trial of Intervention Effectiveness in schizophrenia – CATIE; LIEBERMAN et al., 2005) e da Grã Bretanha (Cost Utility of the Latest Antipsychotics in Severe Schizophrenia – CUtLASS; JONES et al., 2006) não encontraram superioridade significativa dos antipsicóticos de segunda geração em relação aos de primeira geração. Os achados de melhor eficácia dos antipsicóticos de segunda geração em sintomas negativos e cognitivos da esquizofrenia foram inconsistentes e o pequeno benefício encontrado consistia na capacidade destes antipsicóticos provirem melhora equivalente de sintomas positivos com menor risco de causarem



efeitos colaterais extrapiramidais (TANDON et al., 2008). Somente a clozapina se mostrou mais eficaz para o tratamento de esquizofrenia refratária, como já era conhecido. Apesar de evidências iniciais de superioridade de antipsicóticos atípicos (como olanzapina e risperidona) em produzir melhora em sintomas negativos e na performance cognitiva, os benefícios são relativamente pequenos e não foram consistentemente reproduzidos (GRAY; ROTH, 2007).

Dessa forma, apesar da importante eficácia dos antipsicóticos nos sintomas positivos da esquizofrenia, existe grande limitação destas drogas em aliviar todos as dimensões patológicas desta doença (sintomas negativos, déficits cognitivos e incapacidade funcional), de forma que nenhum tratamento individual seja suficientemente completo, o que estimula a busca de novos agentes que possam ser utilizados em adição aos antipsicóticos (MIYAMOTO et al., 2005).

Diversos compostos têm sido testados para o tratamento de sintomas negativos da esquizofrenia. Os inibidores da recaptção de serotonina (ISRS) têm sido investigados para este fim, porém os achados são inconsistentes e com falhas na metodologia empregada, além dos riscos de retardo do tratamento antipsicótico ou reincidência de sintomas positivos (MÖLLER, 2004). Há evidências em modelos animais de que o estrógeno pode modular o sistema dopaminérgico e serotoninérgico. Supõe-se que o estrógeno tenha um papel protetor contra o início precoce da esquizofrenia, já que as mulheres apresentam o primeiro episódio de psicose cerca de cinco anos depois dos homens. Outro dado epidemiológico que sustenta essa hipótese é que as mulheres são mais vulneráveis ao surgimento de psicose em dois períodos de mudança hormonal: durante o período puerperal e durante a menopausa (MÖLLER, 2004). Todavia, os resultados do tratamento adjuvante com estrógenos têm sido desanimadores (MÖLLER, 2004). O achado comum de associação entre a presença de sintomas negativos da esquizofrenia e pior desfecho clínico sugere que o tratamento efetivo de sintomas negativos na fase inicial da doença pode ser crítico na prevenção de um curso deteriorativo (MURPHY et al., 2006). Assim, diante do significado funcional e terapêutico dos sintomas negativos, novas medicações que melhorem este domínio são de particular interesse.

Apesar dos tratamentos com antipsicóticos de primeira e segunda geração, indivíduos portadores de esquizofrenia continuam a exibir acentuados déficits cognitivos (BUCHANAN, 2007a). A falta de eficácia dos atuais antipsicóticos neste

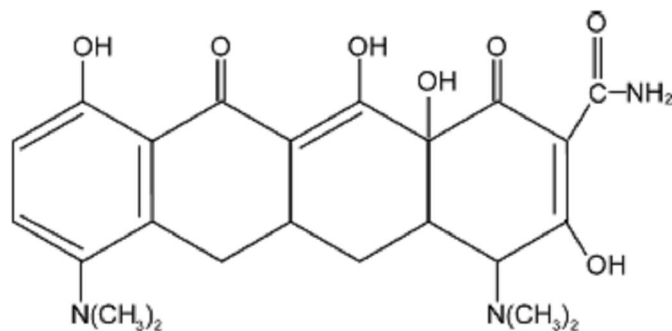
domínio levou à investigação de novas medicações para o tratamento desses déficits. O tratamento dos déficits cognitivos da esquizofrenia é de grande relevância para o desfecho e evolução deste transtorno, e tem sido alvo de pesquisa com diversos agentes farmacológicos, entre eles: agonistas do receptor dopaminérgico D<sub>1</sub>, antagonistas do receptor serotoninérgico 5-HT<sub>2A</sub>, agonistas do receptor nicotínico  $\alpha$ 7, agonistas do receptor muscarínico M<sub>1</sub> e agentes moduladores da neurotransmissão glutamatérgica (GRAY, ROTH, 2007). Apesar da eficácia de agonistas no receptor colinérgico nicotínico  $\alpha$ 7 na neurocognição em pacientes com esquizofrenia, particularmente na atenção, estes efeitos são limitados devido a taquifilaxia (diminuição rápida da resposta) e não são clinicamente significativos (BUCHANAN, 2007a). Outros agentes farmacológicos para melhora da função cognitiva também têm mostrado efeito limitado sobre esses sintomas (HARVEY, 2009). Dessa forma, faz-se premente o desenvolvimento de novas abordagens farmacológicas para tratamento dos sintomas cognitivos da esquizofrenia.

Uma das mais relevantes estratégias para tratamento dos sintomas negativos e cognitivos da esquizofrenia tem se baseado em agentes moduladores da transmissão glutamatérgica, particularmente com ação nos receptores NMDA. Como o glutamato e agonistas diretos deste receptor são neurotóxicos, o principal foco consiste em agonistas do sítio de ligação da glicina insensível a estriquinina. A glicina tem dois sítios principais de ação no SNC, sendo um localizado na medula espinhal e sensível a estriquinina e outro que se localiza no receptor NMDA, funcionando como um coagonista obrigatório para ativação deste receptor (BRESSAN; PILOWSKY, 2003). Desta forma, experimentos têm sido realizados com agonistas glicinérgicos (que incluem glicina, d-serina, d-cicloserina e d-alanina) ou inibidores da recaptção da glicina. Um importante estudo duplo-cego randomizado multicêntrico com glicina e d-cicloserina não encontrou efeito da adição destes agentes ao tratamento antipsicótico habitual, de forma contrária a resultados anteriores (BUCHANAN et al., 2007b). Dentre as possíveis limitações dos agentes glicinérgicos, ressalta-se que o transportador-1 da glicina é a principal rota de inativação da glicina através de sua recaptção. Desta forma, a ingestão de glicina pode ser limitada da mesma forma que a ingestão do precursor da serotonina (L-triptofano) é pouco eficiente para aumentar a transmissão serotoninérgica quando comparado ao efeito dos inibidores seletivos da recaptção da serotonina. Assim, a sarcosina e outros inibidores da recaptção da glicina (ainda em investigação pré-

clínica) podem ser mais eficazes em potencializar a neurotransmissão NMDA. Coerentemente, estudos iniciais com sarcosina têm mostrado bons resultados no tratamento de sintomas positivos, negativos e cognitivos da esquizofrenia (TSAI et al., 2004; LANE et al., 2005).

### 1.6 Efeitos neuroprotetores da minociclina

A minociclina é uma tetraciclina de segunda geração com amplo espectro de atividade antibiótica e propriedades antiinflamatórias, possuindo uma molécula altamente lipofílica que penetra facilmente na barreira hematoencefálica (KIM;SUH, 2009) (figura 3).



**Figura 3.** Estrutura química da minociclina. Todas as tetraciclina compartilham uma estrutura básica que consiste na união de quatro anéis de carbono-6 e diferem apenas no tipo e localização da substituição química na estrutura comum. A minociclina se distingue por uma substituição de uma única dimetilamina na estrutura central.

Tem sido utilizada para tratamento da acne comum, dermatite perioral, sarcoidose cutânea, artrite reumatóide, entre outros (KIM;SUH, 2009). Entre os derivados da tetraciclina, a minociclina é a única que foi relatada como possuidora de propriedades neuroprotetoras (KIM;SUH, 2009). O primeiro relato de suas propriedades neuroprotetoras ocorreu em 1999, através de evidência de neuroproteção contra isquemia cerebral em roedores (YRJANHEIKKI et al 1999). Desde então, há evidências crescentes de efeitos neuroprotetores da minociclina em diversos modelos animais e em humanos com doenças neurológicas, como doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica, doença de Huntington, isquemia cerebral, lesão cerebral traumática e doença de Alzheimer (KIM;SUH, 2009).

O exato mecanismo pelo qual a minociclina exerce seus efeitos neuroprotetores é desconhecido. Sua ação neuroprotetora tem sido atribuída a efeitos anti-inflamatórios, anti-apoptóticos e ao envolvimento em cascatas de

sinalização (Tabela 1). Destaca-se que a inibição da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) p38 e a manutenção da ativação da via de sinalização da proteína quinase fosfatidilinositol-3 (PI-3)/Akt são apontados como os principais mecanismos de proteção da minociclina contra a excitotoxicidade glutamatérgica (PI et al., 2004). Isto ocorre porque a ação neurotóxica do glutamato parece ser mediada pela ativação da MAPK p38 e pela supressão da via PI-3/Akt.

**Tabela 1.** Mecanismos de neuroproteção da minociclina

---



---

**1) Ação anti-inflamatória**

Modulação da micróglia

Reduz a proliferação/ativação das células microgliais, subsequentemente diminuindo a liberação de citocinas, quimocinas, mediadores inflamatórios lipídicos, MMPs e inibindo a iNOS

Alteração da ativação de células imunológicas

Inibição da transmigração de linfócitos T

**2) Ação anti-apoptótica**

Ações antiapoptóticas dependentes da caspase

Inibição da liberação de citocromo c

Inibição da expressão da caspases-1 e -3.

Ações anti-apoptóticas independentes da caspase

Aumento da expressão de proteínas anti-apoptóticas Bcl-2

Inibição da liberação de AIF pela mitocôndria

**3) Envolvimento em cascatas de sinalização**

Inibição da ativação de MAPK p38

Manutenção da ativação da via de sinalização PI3-k/AkT

---



---

MMPs=metaloproteinases de matriz; iNOS=óxido nítrico sintetase induzível; AIF=fator indutor de apoptose; MAPK=proteínas quinases ativadas por mitógeno; PI3-k= proteína quinase fosfatidilinositol-3.

Dados neurocientíficos translacionais a partir de estudos em animais e em humanos têm indicado que a minociclina pode ser um potencial tratamento para a esquizofrenia. A primeira evidência que indicou a eficácia antipsicótica da minociclina foi observada em uma paciente com doença de Huntington, o qual apresentava movimentos involuntários anormais, agitação, agressividade e comportamento psicótico, obtendo melhora clínica global após a introdução de minociclina 200 mg/d (DENOVA-WRIGHT et al., 2002). Em estudos com modelos animais de psicose, o pré-tratamento com minociclina (40 mg/kg) em camundongos atenuou significativamente o nível de dopamina no estriado após a administração

repetida de metanfetaminas (ZHANG et al., 2006). Em outro estudo, o pré-tratamento com minociclina reduziu o aumento extracelular de dopamina no córtex frontal e no estriado de camundongos após a administração de dizolcipina, um antagonista NMDA (ZHANG et al., 2007). Posteriormente, a administração subcrônica de minociclina reverteu os efeitos comportamentais da administração de fenciclidina (outro antagonista NMDA) em camundongos (FUJITA et al., 2008). Por último, a administração subcrônica de minociclina também reverteu os déficits em memória visuo-espacial que ocorrem após a administração de MK801 (antagonista NMDA) em ratos (LEVKOVITZ et al., 2007).

### **1.7 Hipóteses do estudo**

- A minociclina deve produzir eficácia em sintomas positivos, negativos e cognitivos da esquizofrenia.
- Estes efeitos da minociclina podem também acentuar os efeitos antipsicóticos dos bloqueadores dopaminérgicos e prevenir a atenuação da eficácia com o tratamento de longa duração.

## 2 OBJETIVOS DO ESTUDO

**2.1. Objetivo primário:** Determinar se a adição de minociclina ao tratamento usual de pacientes com esquizofrenia de início recente irá melhorar a sintomatologia positiva e prevenir o acúmulo de sintomas negativos e a sua deterioração cognitiva.

**2.2. Objetivo secundário:** Determinar se a minociclina potencializa o efeito antipsicótico dos tratamentos-padrão e auxilia a manter esse efeito terapêutico.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Sujeitos

Participaram do estudo 30 pacientes portadores de esquizofrenia, diagnosticados pelos critérios do Manual Diagnóstico e Estatístico da Associação Psiquiátrica Americana – 4ª edição (Diagnostic and Statistical Manual – DSM IV), com até cinco anos de doença. Os pacientes foram selecionados dentre os pacientes em seguimento no Serviço de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e que estavam em tratamento com dose estável de antipsicótico por pelo menos 4 semanas antes da primeira avaliação do estudo.

##### 3.1.1 Critérios de Inclusão

- Idade de 18 a 65 anos.
- Diagnóstico pelo DSM-IV de esquizofrenia
- Início recente (dentro dos primeiros 5 anos de diagnóstico)
- Em tratamento com dose estável de medicação por pelo menos 4 semanas antes da primeira avaliação do estudo
- Usuário de medicações orais e concordando completar as avaliações necessárias solicitadas.
- Participantes do sexo feminino, em idade fértil, deveriam estar em uso de método anticoncepcional adequado durante o período do estudo e aceitar a realização de um teste de gravidez pré-tratamento e a intervalos de 10 semanas enquanto tomando a medicação do estudo. Contracepção adequada é definida como o uso de um sistema de barreira dupla contraceptiva (por ex. preservativo e espermicida) ou implante contraceptivo, contraceptivo oral ou contraceptivo injetável de depósito mais outra forma de contracepção, por ex. preservativo. As participantes do sexo feminino serão consideradas incapazes de engravidar se estiverem há 1 ano na menopausa ou forem cirurgicamente esterilizadas de maneira irreversível.

### 3.1.2 Critérios de Exclusão

- Condição médica relevante (doenças graves renais, hepáticas, cardíacas, dermatológicas tais como dermatite esfoliativa e lúpus eritematoso sistêmico) segundo opinião dos investigadores. Condição médica relevante foi determinada, em primeira instância, perguntando à equipe de saúde mental do paciente se este apresenta alguma condição ou problema médico. Após consentimento obtido, uma enfermeira ou médico pesquisador tinha acesso ao prontuário do paciente e então avaliou a elegibilidade deste para participar do experimento clínico através do exame cuidadoso de sua história médica, resultados dos exames de sangue mais recentes, eletrocardiogramas e quaisquer testes físicos que tenham sido realizados.
- História prévia de intolerância a qualquer uma das tetraciclinas.
- Terapia concomitante com penicilina.
- Terapia anticoagulante concomitante
- Presença de desordem convulsiva, não incluindo crises induzidas por clozapina.
- Qualquer mudança nas medicações psicotrópicas nas últimas 6 semanas.
- Diagnóstico de abuso de substância (exceto nicotina e cafeína) ou dependência dentro dos últimos 3 meses de acordo com os critérios do DSM-IV.
- Gravidez ou amamentação.

## 3.2 Instrumentos de avaliação

### 3.2.1 Escalas de avaliação clínica

- Escala de Avaliação das Síndromes Positiva e Negativa para Esquizofrenia (Positive and Negative Syndrome Scale – PANSS) (KAY; FISZBEIN; OPLER, 1987), traduzida e adaptada para o português por Vessoni (1993); A PANSS possui 30 itens divididos em três subescalas, a saber: subescala positiva (7 itens), subescala negativa (7 itens) e subescala de psicopatologia geral (16 itens). Cada item possui um grau de gravidade colocado de forma progressiva com valores de 1 a 7, sendo 1 a ausência do sintoma e 7 a presença de



forma extremamente grave. A pontuação total mínima da PANSS é 30 e a pontuação máxima é 210;

- Escala de Impressão Clínica Global (CGI) (NATIONAL INSTITUTE OF MENTAL HEALTH, 1976). Esta escala compreende 7 itens em ordem crescente de gravidade clínica, pontuados de forma ordinal de 1 a 7, sendo 1 a ausência de sintomas e 7 a presença de sintomatologia extremamente grave;
- Escala de efeitos colaterais para drogas psicoterapêuticas UKU (UKU Side Effect Rating Scale for psychotherapeutic drugs) (LINGJAERDE et al., 1987);
- Escala de Movimentos Involuntários Anormais (Abnormal Involuntary Movement Scale – AIMS) (GUY, 1976) para avaliação de efeitos colaterais motores e discinesia tardia; esta escala tem pontuação entre 0 e 4 conforme gravidade das alterações motoras em sete tipos de movimentos. Avalia-se se a AIMS é positiva ou negativa em vez de gravidade (ou pontuação total), de forma que um exame positivo para AIMS ocorre quando se pontua 2 em dois ou mais movimentos ou se foi pontuado 3 ou 4 em um único movimento.

### 3.2.2 *Testes neuropsicológicos*

A bateria de testes foi compilada pelo grupo de neuropsicólogos da universidade de Manchester, Paul Richardson e John Stirling, sob orientação do professor Bill Deakin. Foi feita uma seleção de testes que avaliam funções que tem evidência de comprometimento em pacientes com esquizofrenia e que podem apresentar deterioração ao longo do tempo, como memória, função executiva e atenção (STIRLING et al. 2003). Estes testes, originalmente em inglês, foram traduzidos para o português pelos psicólogos Cristiane R. de Marque e João Paulo M. de Souza, sob a orientação do professor Jaime E. Hallak. A psicóloga Cristiane R. de Marque recebeu um treinamento específico para a aplicação e avaliação das técnicas utilizadas na Universidade de Manchester, pelo citado grupo de pesquisa.

A bateria neurocognitiva incluiu: quatro subescalas Wechsler (1955), denominadas como cubos, raciocínio matricial, completar figuras, armar objetos; teste de cores Stroop (1935); teste de reconhecimento de faces e palavras de Warrington (1984) através do sistema informatizado Matlab; teste Coughlan (1955) de aprendizagem verbal e visual; memória de reconhecimento verbal (forma

adaptada da CANTAB Eclipse – CAMBRIDGE COGNITION LIMITED, 2004) e análise dos cubos (WARRINGTON, 1991).

Foram utilizadas versões paralelas dos testes para a avaliação final e estas foram comparadas com os resultados da avaliação inicial, com o objetivo de se obter uma medida de comparação intra-sujeito, considerando-se os dois momentos de avaliação.

Encontra-se a seguir a descrição dos testes neuropsicológicos utilizados:

a) Teste de cores Stroop

Este teste de atenção possui duas partes: nomear a palavra e nomear a cor da palavra. O sujeito recebe uma lista de palavras coloridas impressa em cores incongruentes, de forma que a palavra “vermelho” pode aparecer em azul, por exemplo. Inicialmente, o sujeito deve ler as palavras, ignorando a cor destas. Em um segundo momento, o sujeito deve dizer o nome da cor em vez da palavra escrita. O “efeito Stroop” é a diferença de tempo (em segundos) que o sujeito leva para completar as duas partes da tarefa.

b) Cubos

Um conjunto de padrões geométricos bidimensionais impressos ou formados com cubos que o examinando deve reproduzir usando cubos coloridos. O sujeito deve construir uma série de modelos que vão ficando progressivamente mais difíceis, começando com quatro blocos e chegando a nove.

c) Raciocínio matricial

Uma série de padrões incompletos colocados em uma matriz que o examinando deve completar, apontando o número da alternativa correta entre cinco alternativas possíveis. O sujeito deve escolher a alternativa que mais efetivamente combina com os outros modelos mostrados e que completa o espaço em branco.

d) Completar figuras

Este teste inclui 21 cartões em preto e branco, compondo um conjunto de figuras que representam objetos e ambientes comuns, em que cada figura falta uma parte importante, a qual o examinando deve identificar.

e) Armar objetos

Este teste é composto por uma série de quatro quebra-cabeças de objetos comuns, apresentados numa disposição padronizada, que o examinando monta para formar um todo significativo.

f) Teste de reconhecimento de palavras e faces Warrington

Nestes testes são apresentados estímulos visuais, um a cada 3 segundos, até completar 50. O sujeito deve dizer “sim” ou “não” conforme eles acham o estímulo agradável com o único objetivo de favorecer a manutenção da atenção e memorização. Posteriormente, são apresentados dois estímulos na mesma tela, sendo que o examinando é solicitado a apontar qual deles já foi visto na lista anterior. Em uma das versões os estímulos são palavras e na outra são faces em preto e branco. Este teste é apresentado em um formato de computador que utiliza uma biblioteca de comandos do sistema Matlab.

g) Teste Coughlan de aprendizagem verbal e visual

O teste Coughlan de aprendizagem verbal é muito similar ao teste de aprendizagem auditivo-verbal de Rey (1958). Consiste, inicialmente, na leitura pelo examinador de uma lista de 15 palavras (lista A). Depois, o sujeito deve repetir todas as palavras que conseguir se lembrar. Este procedimento é repetido cinco vezes. Posteriormente, uma outra lista de palavras é apresentada (lista B), seguida por teste de lembrança. Após o sujeito terminar esta lista para distração, o mesmo é solicitado que recorde as palavras da lista A, sem reapresentá-la. Após o término, o examinador conta em sua lista o número de palavras corretamente lembradas em cada vez.

No teste Coughlan de aprendizagem visual, uma figura (um padrão), que consiste em uma linha conectando alguns pontos juntos, é mostrada por 10 segundos. Logo após, o sujeito é instruído a desenhar a mesma figura, de memória, em uma grade semelhante de pontos. Este procedimento é repetido cinco vezes com a mesma figura a fim de obter maior precisão. Posteriormente, é mostrada uma nova figura, enquanto o sujeito é instruído a repetir, de memória, a nova figura com a maior precisão possível. Após o paciente fazer este teste para distração, o mesmo é solicitado que desenhe de memória a primeira figura que foi mostrada, sem apresentá-la novamente. Após o término, o examinador perpassa cada um dos

desenhos e conta o número total de linhas individuais corretamente reproduzidas para cada um deles.

#### h) Memória de reconhecimento verbal

Este teste é uma forma adaptada de um dos subtestes da CANTAB™ (Cambridge Automated Neuropsychological Test Automated Battery) – Eclipse (CAMBRIDGE COGNITION LIMITED, 2004), em versão powerpoint do Windows XP, que avalia memória imediata, reconhecimento imediato e reconhecimento tardio de palavras. É aplicado através da tela de um computador, na qual é inicialmente apresentada uma lista de 12 palavras, uma por vez. O examinando é solicitado a dizer quantas palavras consegue recordar desta lista. Imediatamente depois são apresentadas as 12 palavras juntamente com 12 distratores numa ordem aleatória de apresentação, e o sujeito deve ir dizendo a cada palavra se esta já foi vista naquela primeira lista ou não. Vinte minutos depois, o experimento com distratores é repetido e o sujeito deve dizer novamente quais palavras já foram vistas na primeira lista e quais não foram. Desta técnica são obtidas cinco pontuações diferentes: palavras lembradas corretamente; palavras reconhecidas corretamente na 1ª e 2ª apresentação e distratores reconhecidos corretamente para 1º e 2º momento.

#### i) Análise de cubos

Este é um subteste da bateria de percepção visual de objeto e espaço (VOSP – Visual Object and Spatial Perception. WARRINGTON, 1991), sendo um teste de compreensão espacial que inclui 12 figuras em que o examinando precisa dizer quantos cubos (inclusive os escondidos, uma vez que os cubos estão desenhados tridimensionalmente) aparecem em cada figura.

### 3.3 Droga

A minociclina é um antibiótico amplamente utilizado, usualmente administrado em doses de 100 mg duas vezes ao dia, sendo muito bem tolerada (Denovan-Wright et al., 2002). Trata-se de uma tetraciclina de segunda geração, com comprovada segurança, inclusive em doses altas em humanos. É rotineiramente utilizada no

tratamento da acne comum e da artrite reumatóide, demonstrando que, além de antibiótico, atua como antiinflamatório não esteróide. A minociclina é rapidamente e quase completamente absorvida pelo trato gastrointestinal após a ingestão oral e é excretada principalmente na bile, possuindo meia-vida sérica média de 16 horas. A minociclina não possui interação medicamentosa com antipsicóticos.

Diferente das tetraciclina em geral, a minociclina cruza a barreira hematoencefálica. É um agente amplamente disponível no Brasil, sendo utilizada em doses que variam de 50 mg duas vezes ao dia a 200 mg diários, divididos em doses de 100 mg duas vezes ao dia (British National Formulary - BNF). Os pacientes foram informados quanto aos possíveis efeitos-colaterais, que embora pouco frequentes, incluem náusea, vômitos, diarreia, disfagia, irritação esofágica, anorexia, zumbidos, tontura, vertigem, reações de hipersensibilidade (rash, dermatite esfoliativa, urticária, angioedema, anafilaxia, pericardite), cefaléia, distúrbios visuais, hepatotoxicidade, pancreatite, colite associada com antibióticos, discrasias sanguíneas, exacerbação de lupus eritematoso sistêmico e miastenia gravis, fotossensibilidade, descoloração de pele ou conjuntiva. Também foi informado o possível efeito teratogênicos em grávidas, ressaltando a necessidade de contracepção adequada em mulheres e a necessidade da realização de testes para gravidez antes e durante o estudo.

A minociclina foi iniciada em 100 mg diários e aumentada após 4 semanas para 200 mg/dia, com a dose total sendo tomada duas vezes ao dia. O placebo tinha a forma de 1 tablete de lactose, com aspecto organoléptico e embalagens idênticos, sendo tomado duas vezes ao dia.

A minociclina e o placebo foram fornecidos pela indústria farmacêutica "Stiefel Laboratories Inc.".

### **3.4 Procedimento**

#### *3.4.1 Recrutamento*

Os psiquiatras responsáveis pelos pacientes de diferentes serviços de psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP (Enfermarias de Psiquiatria, Ambulatório de Esquizofrenia de Difícil Controle, Serviço de Emergência Psiquiátrica, Ambulatório de Reabilitação Psicossocial), foram informados a respeito do estudo e, após aprovação dos setores de chefia dos diferentes serviços, permitiram aos pesquisadores convidar seus pacientes a participarem do estudo. As sessões de avaliação para recrutamento de pacientes foram realizadas no Laboratório de Psicofarmacologia ou nas dependências do Ambulatório de Esquizofrenia de Difícil Controle do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

Com a concordância do paciente, o médico pesquisador explicou a pesquisa verbalmente e lhe deu um “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” (ANEXO A). Após o paciente ter tido tempo para ler e entender a folha de informação e aceitar participar, um encontro (primeira visita) era marcado entre o paciente, um familiar responsável (ou responsável legal) e o médico pesquisador, com o objetivo de obter o consentimento para a pesquisa e também consentimento para que a equipe de pesquisa pudesse ter acesso ao prontuário médico do paciente. Conforme determinação da resolução CNS 196/96, o paciente e seu responsável legal assinaram o “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” para que o paciente iniciasse sua participação na pesquisa.

#### *3.4.2 Primeira avaliação*

Após consentimento para participação no estudo, os sintomas clínicos, cognitivos, neurológicos e nível geral de funcionamento foram avaliados. Nessa avaliação foram checados os critérios de inclusão/exclusão, confirmado o diagnóstico e realizado o teste de gravidez, se apropriado. O início da avaliação clínica e os testes neuropsicológicos foram discutidos com os pacientes e seus familiares. Estes testes podiam levar ao menos 2 visitas e podiam durar até uma semana para serem completados. Após completar os testes, o paciente era

randomizado para um dos dois tratamentos, recebendo um único número de identificação antes de começar o estudo. Foi dado ao paciente um cartão de informação do estudo, explicando que ele estava participando de um estudo clínico, as drogas que ele poderia estar usando (minociclina ou placebo), o número de telefone da equipe de pesquisa e do consultório de triagem clínica e o nome do investigador principal.

#### *3.4.3 Randomização*

Os pacientes foram randomizados para um dos 2 grupos do tratamento: minociclina ou placebo. Os pacientes, a equipe de saúde mental, médicos e enfermeiras pesquisadores e outros co-investigadores que realizaram as avaliações clínicas e neuropsicológicas (os avaliadores) não estavam avisados sobre qual droga que o paciente avaliado estava em uso. Um médico, não envolvido com as avaliações, tinha conhecimento da droga que o paciente utilizava e estava disponível para intervir no caso do paciente desenvolver efeitos colaterais. A segurança e o bem estar do pacientes foram prioridades em todos os momentos.

#### *3.4.4 Seguimento*

A medicação selecionada foi administrada por 1 ano. Durante o período do estudo, o paciente foi cuidado por médicos e psicólogos da equipe de pesquisa e pela sua equipe de saúde mental. Se necessário, membros da equipe de pesquisa estavam disponíveis 24 horas por dia, 7 dias por semana.

Devido à natureza do período de escalonamento da medicação, foi necessário que uma nova prescrição da droga fosse realizada a cada duas semanas nas primeiras quatro semanas. Após as primeiras quatro semanas, as drogas do estudo foram renovadas mensalmente e entregues para o paciente pelo médico pesquisador, assegurando contínuo contato com a equipe de pesquisa.

A aderência do paciente ao tratamento foi monitorada de duas maneiras. Primeiro, os pacientes foram solicitados a retornar com as cartelas de medicação para a próxima prescrição, ocasião em que era conferida a quantidade de medicação utilizada. Segundo, os familiares foram envolvidos para ajudar a monitorar a aderência, acompanhando os pacientes na avaliação.

Os pacientes foram incorporados para seguimento no Ambulatório de Reabilitação Psicossocial (AREP) e continuam em seguimento pela mesma equipe de saúde mental após o término do estudo. A avaliação laboratorial, com hemograma e testes de função hepática e renal, faz parte dos cuidados normais desta população de pacientes, sendo usualmente realizada a intervalos de 6 meses. Assim sendo, não foi necessária a realização de coleta de amostras sanguíneas adicionais. Caso alguma preocupação ocorresse com respeito à pesquisa, a equipe de pesquisa poderia ser contatada para a discussão destas preocupações 24 horas por dia, todos os dias da semana. Os pacientes tinham seu cartão do estudo com os números de telefone dos pesquisadores no caso de terem dúvidas ou perguntas. Um dos co-investigadores e/ou médico do estudo estava disponível 24 h, 7 dias por semana e fazia contato com o paciente ou familiares do paciente se necessário.

Pacientes do sexo feminino com capacidade reprodutiva fizeram teste de gravidez a cada 10 semanas. Não ocorreu nenhuma gravidez durante o período de estudo.

Os pacientes podiam ser retirados do estudo pelas seguintes razões: a seu próprio pedido; a critério do investigador (ex., um evento adverso, baixa aderência); ou se a paciente engravidasse.

As avaliações clínicas foram realizadas na entrada e a cada mês por pesquisador cego quanto aos grupos experimentais, em entrevistas com duração aproximada de 50 minutos. As avaliações neuropsicológicas foram realizadas no início e no final do estudo, para evitar o efeito do aprendizado e levavam aproximadamente 2 a 3 horas e meia, sendo completadas em 2 a 3 visitas com o intuito de melhorar a performance e reduzir a fadiga. Se o paciente permitisse, as avaliações clínicas e neuropsicológicas eram realizadas tão perto quanto possível do tempo da última dose da medicação em estudo.

A equipe de pesquisa manteve os pacientes continuamente informados do progresso e de quaisquer problemas através do contato direto ou indireto com a equipe clínica. Após um ano tomando as medicações, a avaliação clínica e os testes neuropsicológicos foram repetidos do mesmo modo como na primeira visita. Após todas as avaliações estarem completas, a medicação foi retirada no prazo de duas semanas, o que permitia que a minociclina pudesse ser diminuída gradualmente, seguindo as instruções do BNF.



O fluxo de pacientes que participaram do estudo é mostrado na figura 4. Seis pacientes não completaram o estudo devido a abandono. Observa-se que houve mais pacientes que não completaram o estudo no grupo placebo (n=4) do que no grupo minociclina (n=2).

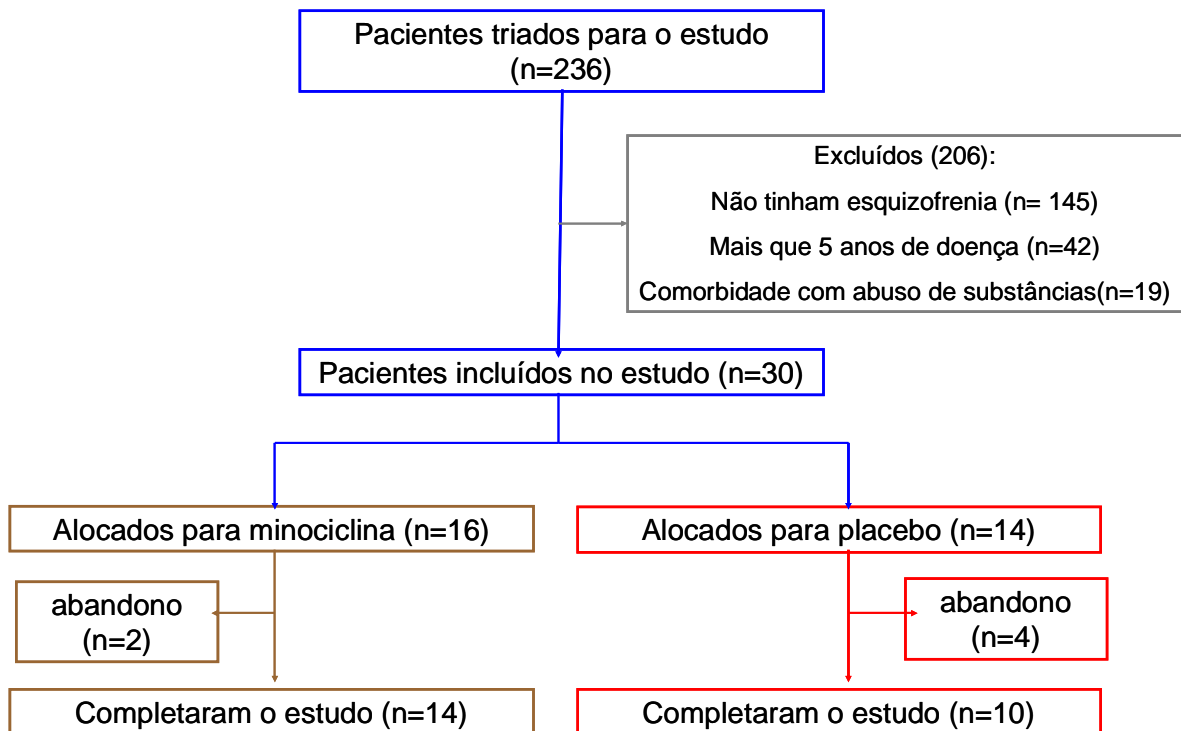


Figura 4. Fluxograma dos pacientes incluídos no estudo.

### 3.5 Análise dos resultados

#### 3.5.1 Análise Principal

A análise estatística deste estudo foi feita utilizando-se o “Statistical Package for the Social Sciences” (SPSS), versão 16.0.

Os escores totais da PANSS, bem como o de suas subescalas (POSITIVA, NEGATIVA E GERAL) foram submetidos à análise de variância de medidas repetidas (RANOVA) com os fatores tempo, droga e interação entre os dois fatores. Nos casos em que as condições de esfericidade não foram alcançadas, os graus de liberdade foram corrigidos pelo épsilon de Huynh-Feldt. Quando ocorreu uma interação significativa entre os fatores tempo e grupo, os dados de cada grupo individualmente (minociclina e placebo) foram submetidos a uma RANOVA,

analisando-se o fator tempo e o contraste simples da medida inicial com cada uma das 14 avaliações posteriores.

Por ser uma escala ordinal, os escores da CGI foram analisados para cada grupo independentemente (minociclina e placebo) pelo teste de Friedman, que é um teste estatístico não paramétrico utilizado para detectar diferenças no tratamento ao longo de medidas repetidas.

Como as avaliações cognitivas só foram realizadas no início e no fim do estudo, utilizou-se o teste t pareado para cada grupo independentemente.

As características clínicas e demográficas também foram comparadas através de análise não-paramétrica para os dados categoriais (teste do  $\chi^2$ ) e paramétrica para os dados nominais com distribuição normal (teste t para amostras independentes).

Foram considerados significativos valores de  $p \leq 0,05$ .

### 3.5.2 *Emparelhamento*

Para garantir que o efeito medido fosse decorrente da utilização da droga em estudo, foi feito o emparelhamento de variáveis de confusão durante o processo de randomização. As características clínicas e demográficas dos pacientes são apresentadas na tabela 2. Observa-se que estão pareados todos os parâmetros de confusão, tais como idade, tempo de educação, tempo de doença, tempo de psicose sem tratamento, gênero, subtipo diagnóstico e tipos de antipsicótico em uso.

Tabela 2. Características demográficas e clínicas dos sujeitos

	Grupos				Estatística		
	Minociclina (n=16)		Placebo (n=14)		t	GL	p
	Média	DP	Média	DP			
Idade	24	5,02	25	6,37	0,5	28	0,65
Educação (em anos)	11	1,54	10,5	1,6	0,7	28	0,46
Tempo de doença (em meses)	31,8	21,98	29,1	17,9	0,4	28	0,72
Tempo de psicose sem tratamento (em meses)	8	5,17	8,8	6,82	0,4	28	0,72
Internações psiquiátricas prévias (mediana; amplitude interquartis)	1	1	1	1	0,7	28	0,5
	N	%	N	%	$\chi^2$	GL	p
Gênero					0	1	0,85
Masculino	13	81,3%	11	78,6%			
Feminino	3	18,8%	3	21,4%			
Estado civil					0,2	1	0,63
Solteiros	14	87,5%	13	92,9%			
Casados	2	12,5%	1	7,1%			
Nível sócio-econômico					NA	NA	NA
Baixo	7	43,8%	4	28,6%			
Médio-baixo	7	43,8%	7	50,0%			
Médio	2	12,5%	3	21,4%			
Ocupação					NA	NA	NA
Desempregados	10	62,5%	8	57,1%			
Aposentados	2	12,5%	3	21,4%			
Estudantes	2	12,5%	0	0,0%			
Empregados	2	12,5%	3	21,4%			
Etnia					2,9	3	0,41
Branços	10	62,5%	5	35,7%			
Pardos	4	25,0%	5	35,7%			
Negros	2	12,5%	3	21,4%			
Asiáticos	0		1	7,1%			
Diagnóstico pelo DSM-IV					1,7	2	0,42
Esquizofrenia paranóide	14	87,5%	10	71,4%			
Esquizofrenia desorganizada	2	12,5%	3	21,4%			
Esquizofrenia indiferenciada	0	0,0%	1	7,1%			
Tratamento (medicações)					0,1	1	0,82
Antipsicótico típico	4	25,0%	3	21,4%			
Antipsicótico de 2ª geração	9	56,3%	9	64,3%			
Antipsicótico típico + 2ª geração	1	6,3%	0	0,0%			
clozapina	2	12,5%	2	14,3%			

DP=desvio padrão; N=número de sujeitos; %=porcentagem; t=teste t para amostras independentes;

$\chi^2$ =teste do qui-quadrado; GL= grau de liberdade; p=significância estatística; DSM-IV=Diagnostic and Statistical Manual (Manual de Diagnóstico e Estatística, 4ª e

### 3.6 Padrões éticos e regulatórios

#### 3.6.1 Comitê de Ética em Pesquisa Local

A aprovação ética foi obtida com processo HCRP 687/2005 (ANEXO B) e registro CONEP 11726 (ANEXO C).

#### 3.6.2 Aprovação da Instituição Financiadora (Stanley Medical Research Institute)

O estudo em questão foi submetido para apreciação pela Stanley Medical Research Institute, uma tradicional agência internacional financiadora de pesquisa com sede nos Estados Unidos, tendo sido aprovado e selecionado para financiamento integral por um período de 20 meses.

### *3.6.3 Declaração de Helsinque e Resolução 196/96*

O estudo em questão foi realizado de acordo com a “Declaração de Helsinque” (1974), revisada em Tóquio (1975), Veneza (1983), Hong Kong (1989), África do Sul (1996) e Escócia (2000) e com a Resolução CNS 196/96.

Todos os membros do time de pesquisa seguiram a “International Conference on Harmonisation / Good Clinical Practice” (ICHGCP) Guidelines (1996) que são consistentes com os princípios de origem da Declaração de Helsinque e da Resolução 196/96.

## 4 RESULTADOS

Não houve efeitos colaterais significativos e nem diferença entre os dois grupos, conforme análise de teste t para medidas independentes para a pontuação da escala de efeitos colaterais UKU ( $t=0,899$ ; g.l.=28;  $p=0,431$ ). Somente um paciente de cada grupo apresentava exame positivo para a Escala de Movimentos Involuntários Anormais (AIMS) na avaliação inicial. Na avaliação final, somente um paciente (grupo minociclina) permaneceu com exame positivo para a AIMS.

Houve a necessidade de modificação da prescrição (aumento da dose ou troca do antipsicótico) devido à reagudização ou à piora de sintomas positivos em oito pacientes, sendo que cinco pertenciam ao grupo placebo e três pertenciam ao grupo minociclina.

### 4.1 Eficácia global

#### 4.1.1 Pontuação na CGI

A realização de teste de Friedman individualmente para os grupos placebo e minociclina evidenciou melhora significativa no grupo minociclina ( $X_2=57,871$ ; g.l.=14;  $p<0,001$ ), mas não no grupo placebo ( $X_2=8,293$ ; g.l.=14;  $p=0,873$ ), como observado no gráfico 1.

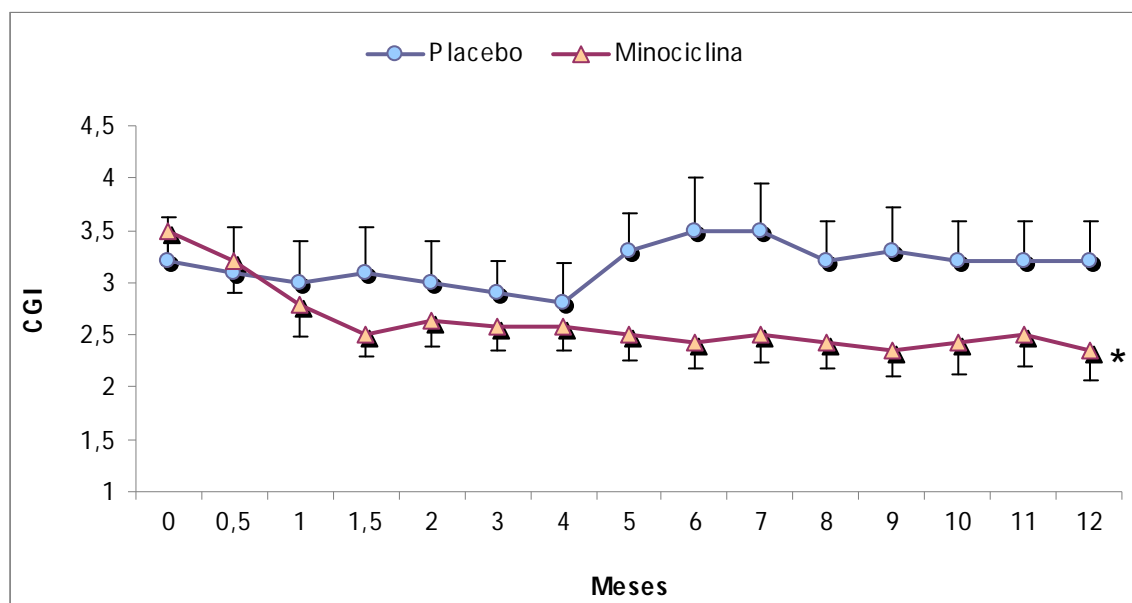


Gráfico 1. Pontuação na escala de impressão clínica global (CGI) para os dois grupos (minociclina e placebo) ao longo de doze meses, sendo que os dois primeiros meses foram medidos quinzenalmente. Os

ícones representam as médias e as barras de erro representam o erro padrão da média (EPM). O asterisco (\*) representa diferença significativa com  $p \leq 0,05$ .

#### 4.1.2 Pontuação total da PANSS

Analisando-se a pontuação total da PANSS, verificou-se efeito significativo na interação entre fator tempo e fator droga ( $F=3,241$ ; g.l.=4,1-91,0;  $p=0,015$ ), sem efeito significativo do fator tempo ( $F=1,56$ ; g.l.=4,1-91,0;  $p=0,19$ ) e droga ( $F=3,3$ ; g.l.=1-22;  $p=0,015$ ), conforme análise de variância de medidas repetidas.

A análise de variância de medidas repetidas para cada grupo individualmente evidenciou que os pacientes em uso de minociclina apresentaram redução significativa dos escores com o tempo ( $F=4,7$ ; g.l.=4,1-52,8;  $p=0,002$ ) e a análise de contraste evidenciou diferença significativa em relação à medida inicial a partir de 15 dias de uso de minociclina. No grupo placebo não ocorreu diferença significativa ao longo do tempo ( $F=0,9$ ; g.l.=3,0-26,9;  $p=0,53$ ). Os resultados são apresentados no gráfico 2.

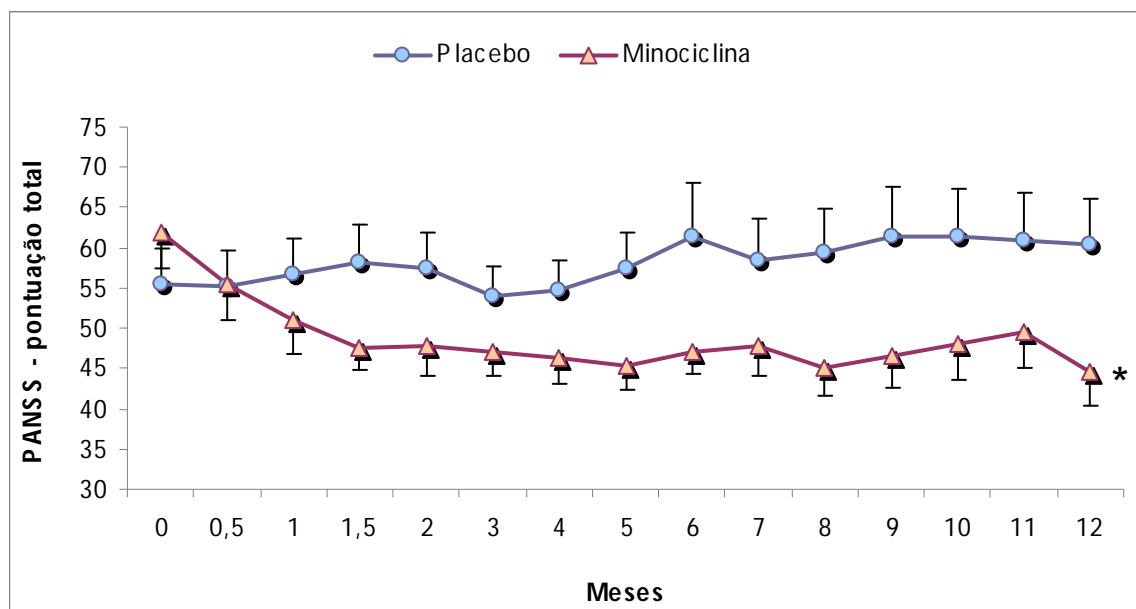


Gráfico 2. Pontuação total da PANSS para os dois grupos (minociclina e placebo) ao longo de doze meses, sendo que os dois primeiros meses foram medidos quinzenalmente. Os ícones representam as médias e as barras de erro representam o erro padrão da média (EPM). O asterisco (\*) representa diferença significativa com  $p \leq 0,05$ .

#### 4.2 Eficácia em sintomas positivos

Na subescala positiva da PANSS, não houve efeito significativo do fator tempo ( $F=1,272$ ; g.l.=3,3-71,6;  $p=0,29$ ) e droga ( $F=2,68$ ; g.l.=1-22;  $p=0,116$ ), mas ocorreu uma tendência a efeito significativo na interação entre os dois fatores ( $F=2,68$ ; g.l.=3,3-71,6;  $p=0,07$ ).

A análise de variância de medidas repetidas para cada grupo individualmente evidenciou melhora significativa no grupo minociclina ( $F=3,74$ ; g.l.=3,5-45,7;  $p=0,013$ ) a partir de 1 mês de uso de minociclina, mas não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas no grupo placebo ( $F=0,95$ ; g.l.=2,4-21,41;  $p=0,419$ ), como pode ser visto no gráfico 3.

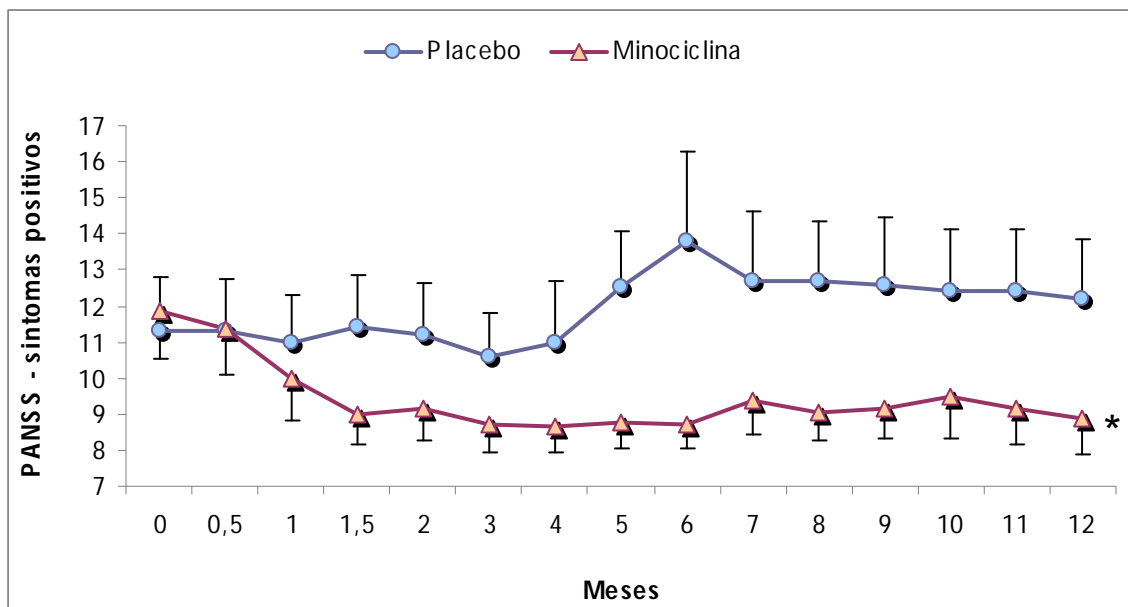


Gráfico 3. Pontuação na subescala positiva da PANSS para os dois grupos (minociclina e placebo) ao longo de doze meses, sendo que os dois primeiros meses foram medidos quinzenalmente. Os ícones representam as médias e as barras de erro representam o erro padrão da média (EPM). O asterisco (\*) representa diferença significativa com  $p \leq 0,05$ .

### 4.3 Eficácia em sintomas negativos

Na subescala de sintomas negativos da PANSS, não houve efeitos do fator tempo ( $F=1,165$ ; g.l.=5,4-118,9;  $p=0,301$ ) e droga ( $F=1,165$ ; g.l.=5,4-308;  $p=0,301$ ), mas ocorreu diferença significativa na interação entre os dois fatores ( $F=2,42$ ; g.l.=5,4-118,9;  $p=0,036$ ), após análise de variância de medidas repetidas.

Novamente, a análise de variância de medidas repetidas para os dois grupos individualmente não mostrou diferenças significativas no grupo placebo ( $F=3,74$ ;

g.l.=7,2-64,58;  $p=0,555$ ), mas evidenciou melhora significativa no grupo minociclina ( $F=2,85$ ; g.l.=4,3-56,3;  $p=0,029$ ) a partir de 15 dias (gráfico 4).

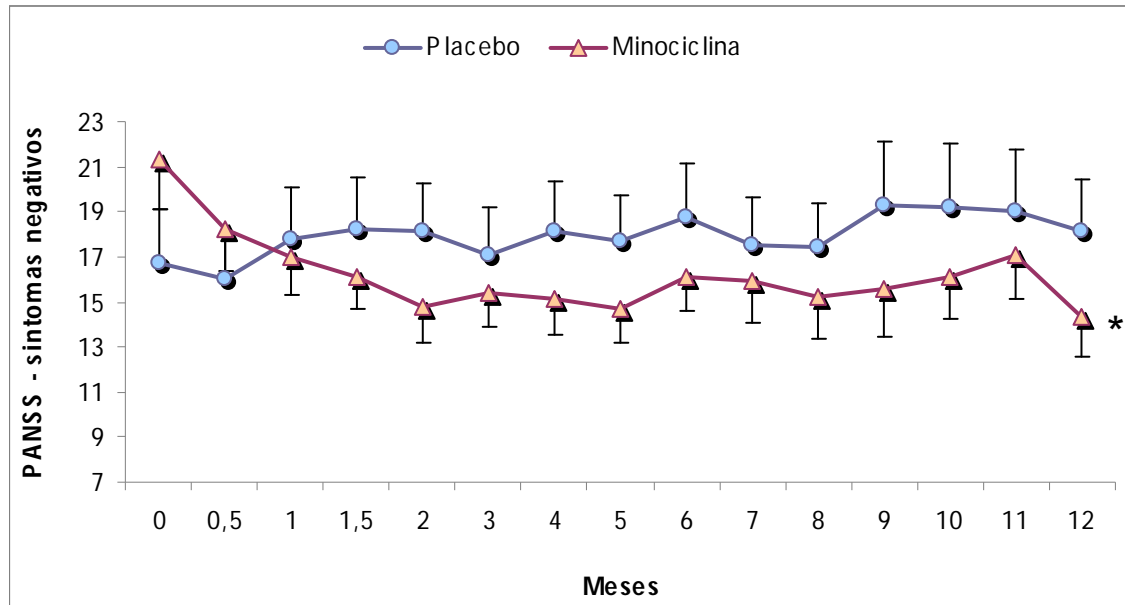


Gráfico 4. Pontuação na subescala negativa da PANSS para os dois grupos (minociclina e placebo) ao longo de doze meses, sendo que os dois primeiros meses foram medidos quinzenalmente. Os ícones representam as médias e as barras de erro representam o erro padrão da média (EPM). O asterisco (\*) representa diferença significativa com  $p \leq 0,05$ .

#### 4.4 Eficácia em psicopatologia geral

A análise de variância de medidas repetidas também não evidenciou efeitos do fator tempo ( $F=1,715$ ; g.l.=4,2-92,4;  $p=0,15$ ) para a pontuação na subescala de psicopatologia geral da PANSS, mas evidenciou efeitos significativos nos fatores droga ( $F=4,889$ ; g.l.=1-22;  $p=0,038$ ) e interação entre fator tempo e fator droga ( $F=3,116$ ; g.l.=4,2-92,4;  $p=0,017$ ).

A análise de variância de medidas repetidas para cada grupo individualmente mostrou que os pacientes em uso de minociclina apresentaram melhora significativa ( $F=4,65$ ; g.l.=5,4-70,6;  $p=0,001$ ) após o primeiro mês, não ocorrendo diferenças significativas no grupo placebo ( $F=1,06$ ; g.l.=2,8-24,9;  $p=0,398$ ), como observado no gráfico 5.



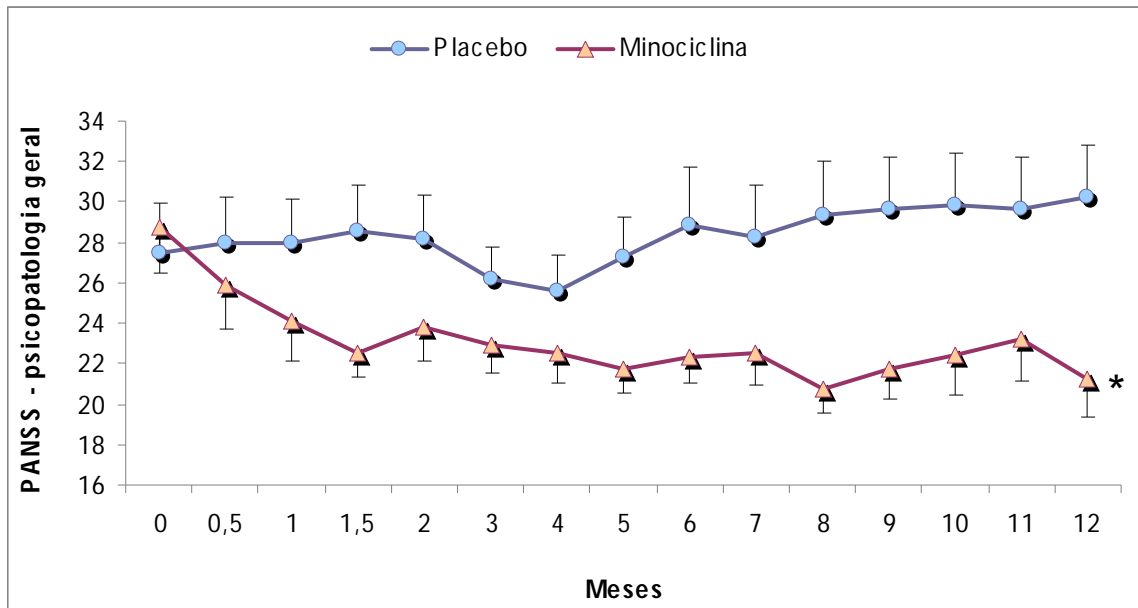


Gráfico 5. Pontuação na escala de psicopatologia geral da PANSS para os dois grupos (minociclina e placebo) ao longo de doze meses, sendo que os dois primeiros meses foram medidos quinzenalmente. Os ícones representam as médias e as barras de erro representam o erro padrão da média (EPM). O asterisco (\*) representa diferença significativa com  $p \leq 0,05$ .

#### 4.5 Eficácia em sintomas cognitivos

A realização de teste t pareado para os dois grupos (minociclina e placebo) individualmente mostrou que não houve diferenças significativas em ambos os grupos (tabela 5), antes e após um ano de estudo.

Como um paciente no grupo minociclina era analfabeto, observa-se que alguns testes para este grupo só foram realizados com 13 sujeitos, em vez de 14. Adicionalmente, também havia um paciente daltônico no grupo minociclina, de forma que somente 12 sujeitos realizaram o teste de cores Stroop neste grupo.

**Tabela 3.** Testes neuropsicológicos

	Grupos											
	Placebo					Minociclina						
	N	Média	DP	t	g.l.	p	N	Média	DP	t	g.l.	p
<u>Teste de cores Stroop</u>												
Avaliação inicial	10	74	36,18				12	91,83	65,03			
Após 1 ano	10	60,7	12,70	1,48	9	0,17	12	76,00	45,78	1,96	11	0,08
<u>Análise de cubos</u>												
Avaliação inicial	10	8,8	3,74				14	9,36	2,56			
Após 1 ano	10	9,1	4,33	-0,27	9	0,80	14	9,50	2,90	-0,31	13	0,76
<u>Completar figuras</u>												
Avaliação inicial	10	6,1	2,69				14	7,57	4,16			
Após 1 ano	10	6,9	4,70	-0,66	9	0,52	14	7,29	4,58	0,39	13	0,70
<u>Armar objetos</u>												
Avaliação inicial	10	20,7	5,72				14	17,00	4,15			
Após 1 ano	10	21	9,29	-0,13	9	0,90	14	16,64	7,48	0,23	13	0,82
<u>Cubos</u>												
Avaliação inicial	10	8,8	8,18				14	7,36	7,03			
Após 1 ano	10	12,6	8,93	-1,29	9	0,23	14	7,50	6,80	-0,10	13	0,93
<u>Raciocínio matricial</u>												
Avaliação inicial	10	15,2	6,76				13	15,69	9,46			
Após 1 ano	10	14,7	7,12	0,30	9	0,77	13	15,77	10,03	-0,09	12	0,93
<u>Memória de reconhecimento verbal</u> <sup>1</sup>												
Avaliação inicial	10	3,9	1,85				13	3,92	1,50			
Após 1 ano	10	4	2,00	-0,23	9	0,82	13	4,54	2,03	-1,34	12	0,21
<u>Memória de reconhecimento verbal</u> <sup>2</sup>												
Avaliação inicial	10	11,3	0,67				13	10,85	0,90			
Após 1 ano	10	11	1,05	1,00	9	0,34	13	11,00	1,15	-0,46	12	0,66
<u>Memória de reconhecimento verbal</u> <sup>3</sup>												
Avaliação inicial	10	1,3	1,25				13	1,31	1,55			
Após 1 ano	10	1,4	2,07	-0,18	9	0,86	13	0,92	1,50	0,96	12	0,36
<u>Memória de reconhecimento verbal</u> <sup>4</sup>												
Avaliação inicial	10	11	1,25				13	10,92	0,86			
Após 1 ano	10	11,1	0,88	-0,20	9	0,85	13	10,77	1,17	0,32	12	0,75
<u>Memória de reconhecimento verbal</u> <sup>5</sup>												
Avaliação inicial	10	1,1	0,99				13	1,46	1,61			
Após 1 ano	10	1,4	2,50	-0,38	9	0,71	13	1,00	2,24	1,03	12	0,32
<u>Tarefa de aprendizagem verbal Coughlan</u>												
Avaliação inicial	10	45,7	12,47				14	50,07	15,85			
Após 1 ano	10	42,2	12,33	0,98	9	0,35	14	50,07	11,61	0,00	13	1,00
<u>Tarefa de aprendizagem visual Coughlan</u>												
Avaliação inicial	10	36,7	13,58				14	27,29	11,52			
Após 1 ano	10	29,8	19,48	1,42	9	0,19	14	32,86	13,23	-1,67	13	0,12
<u>Reconhecimento de palavras Warrington</u>												
Avaliação inicial	10	42,9	7,34				13	45,77	4,85			
Após 1 ano	10	43,6	3,69	-0,29	9	0,78	13	44,92	5,68	1,00	12	0,34
<u>Reconhecimento de faces Warrington</u>												
Avaliação inicial	10	34,6	7,32				14	36,64	5,14			
Após 1 ano	10	37,1	6,38	-1,72	9	0,12	14	37,64	4,24	-1,03	13	0,32

N= número de sujeitos; DP=desvio padrão; t=valor do teste t pareado; g.l.=grau de liberdade; p=grau de significância estatística; <sup>1</sup> = memória imediata; <sup>2</sup> = reconhecimento imediato de palavras corretas; <sup>3</sup> = reconhecimento tardio de palavras corretas; <sup>4</sup> = reconhecimento imediato de distratores; <sup>5</sup> = reconhecimento tardio de distratores.

## 5 DISCUSSÃO

Este estudo evidenciou que o tratamento adjuvante com minociclina mostrou eficácia em sintomas positivos e negativos em pacientes com esquizofrenia.

Os pacientes tratados com minociclina obtiveram melhora global dos sintomas, conforme pontuação total da PANSS e da CGI. A análise das subescalas da PANSS mostrou que este resultado ocorreu devido à melhora de sintomas positivos, negativos e de psicopatologia geral, que ocorreu quinze ou trinta dias após o início do uso da minociclina. Estes resultados são congruentes com dados da literatura publicados recentemente com o tratamento adjuvante da minociclina na esquizofrenia (LEVKOVITZ et al., 2008; MIYAOKA et al., 2007, 2008). Um relato de caso, utilizando 150 mg/d de minociclina como tratamento adjuvante em dois pacientes com esquizofrenia, mostrou uma diminuição abrangente de sintomas positivos e negativos e de déficits cognitivos. Ocorreu um agravamento de sintomas quando a minociclina foi descontinuada, seguindo-se nova melhora após a reintrodução desta medicação (MIYAOKA et al., 2007). Posteriormente, a adição de minociclina (150 mg/d) ao tratamento com antipsicóticos de segunda geração foi avaliada em um estudo aberto por um período de 4 semanas (MIYAOKA et al., 2008). Houve melhora significativa na pontuação total da PANSS e em suas subescalas positivas, negativas e de psicopatologia geral (40,4%, 44% e 52,1% respectivamente). Outro estudo analisou a eficácia do tratamento adjuvante com minociclina (200 mg/d) em um ensaio terapêutico duplo-cego, randomizado, controlado por placebo (LEVKOVITZ et al., 2008). Esta pesquisa foi realizada em pacientes com esquizofrenia de início recente, alocados para minociclina (n=36) ou placebo (n=18), com seis meses de duração. A avaliação de sintomas negativos pela SANS (Scale for the assessment of negative symptoms) e testes neuropsicológicos foram realizados, observando-se melhora em sintomas negativos e no funcionamento executivo dos pacientes tratados com minociclina. Vale apontar que os sintomas positivos não foram avaliados neste estudo.

Há aproximadamente 1600 ensaios clínicos randomizados de tratamento antipsicótico para esquizofrenia (TANDON et al., 2008). Por motivos de registro em diferentes países, todos antipsicóticos devem possuir estudos com duração de 4 a 8 semanas em pacientes com exacerbação psicótica aguda, utilizando-se um

delineamento duplo-cego, randomizado, controlado por placebo. Os instrumentos de avaliação consistem na utilização da PANSS ou da BPRS (Brief Psychiatric Rating Scale). Com estes dados, Tandon et al. (2008), através de uma abordagem indireta, realizaram uma metanálise para comparar a eficácia de diferentes antipsicóticos na esquizofrenia e não encontraram diferenças entre os diferentes antipsicóticos. Através da avaliação da PANSS, os estudos mostram uma redução média de 14-20 pontos na pontuação total da PANSS entre os diferentes agentes em um período de 4 a 8 semanas de tratamento, sendo que antipsicóticos de primeira e de segunda geração obtiveram o mesmo grau de melhora. Entre aproximadamente 5000 pacientes tratados com diferentes drogas, a redução média na pontuação total da PANSS foi de 18,1-18,5 (TANDON et al., 2008), enquanto a redução média nas subescalas positiva e negativa da PANSS foram 5,1-5,7 e 4,4-4,5, respectivamente. Como forma de avaliação do impacto deste estudo com a minociclina, observa-se que a diminuição média na pontuação total da PANSS no grupo tratado com minociclina foi de 17,4 e nas subescalas positiva e negativa foram de 3,0 e 7,0, respectivamente. Assim, a adição de minociclina a pacientes com medicação antipsicótica estável, há pelo menos quatro semanas, induziu uma melhora adicional na pontuação total da PANSS comparável à média encontrada para o tratamento agudo com antipsicóticos de primeira e segunda geração, enquanto a melhora em sintomas negativos foi superior à média encontrada para os antipsicóticos. Observa-se, ainda, que 64% dos pacientes do grupo minociclina (e 30% do grupo placebo) tiveram pontuação mínima na subescala de sintomas positivos da PANSS, apresentando um efeito chão substancial (o efeito chão indica o percentual de indivíduos que obtiveram a pontuação mínima para um domínio). Isto provavelmente ocorreu porque era uma população em uso estável de antipsicóticos e conseqüentemente apresentavam baixa pontuação na avaliação inicial de sintomas positivos, limitando o grau de melhora possível para este domínio.

Um grande desafio para o tratamento da esquizofrenia é a redução ou melhora em sintomas negativos. Os atuais antipsicóticos têm efeito limitado sobre este domínio, fazendo premente a busca de novos agentes que sejam eficazes sobre esses sintomas (MIYAMOTO et al., 2005). Os sintomas negativos da esquizofrenia são importantes preditores do funcionamento global na esquizofrenia e devem ser focados nos objetivos do tratamento. Drogas não neurolépticas testadas para este fim mostraram resultados conflitantes (MÖLLER, 2004), tais como os

resultados com carbamazepina e ácido valpróico. Outro foco é o uso de inibidores da recaptação de serotonina (ISRS) para tratamento dos sintomas negativos, porém os achados são inconsistentes e há risco de piora de sintomas positivos (MÖLLER, 2004). A minociclina apresentou melhora significativa dos sintomas negativos. Este resultado é de particular interesse diante da dificuldade e limitação dos tratamentos atuais sobre esses sintomas.

Pacientes com esquizofrenia freqüentemente apresentam graus significativos de sintomas psicopatológicos gerais, tais como ansiedade e sintomas depressivos. Estes sintomas também contribuem para o sofrimento subjetivo do paciente e influenciam seu funcionamento geral. O tratamento com minociclina levou à melhora significativa na subescala de psicopatologia geral da PANSS, mostrando que há efeitos além dos clusters de sintomas positivos e negativos da esquizofrenia. Estes achados sugerem que a minociclina pode também ser efetiva para sintomas afetivos da esquizofrenia.

Neste estudo, a minociclina não apresentou efeitos sobre o domínio cognitivo da esquizofrenia. Este resultado é divergente com os achados de outros dois estudos realizados com minociclina, os quais observaram melhora na disfunção cognitiva (LEV KOVITZ et al., 2008; MIYAOKA et al., 2007). Diferenças metodológicas, entre elas o tempo de acompanhamento, podem ser responsáveis por essas diferenças. É possível que a melhora em testes cognitivos observada nos estudos anteriores, quer seja por aprendizado ou por ação da droga, tenha se perdido quando o intervalo foi de um ano.

No mesmo sentido dos resultados mostrados pelas escalas de avaliação, observou-se que um número maior de pacientes não completaram o estudo no grupo placebo (n=4) em relação ao grupo minociclina (n=2). Estes pacientes não completaram o estudo devido à falta de adesão ao tratamento. Múltiplos fatores contribuem para a falta de adesão entre pacientes com esquizofrenia, destacando-se a falta de insight, gravidade dos sintomas, déficits cognitivos, efeitos colaterais das medicações e eficácia do regime terapêutico (SINGH et al., 2006). Dentre os diversos fatores associados à baixa adesão, pode-se inferir que a melhora sintomática nos pacientes em uso de minociclina possa também ter contribuído para melhor adesão neste grupo. Esta inferência também pode ser feita como raciocínio de exclusão, já que outros fatores de pobre aderência não eram diferentes entre os grupos, tais como efeitos colaterais, sintomas parkinsonianos e gravidade inicial dos

sintomas. Outra possibilidade seria um efeito casual decorrente do pequeno número de pacientes que abandonaram o estudo. Todavia, também se pode observar que houve mais pacientes com necessidade de ajuste posológico do antipsicótico (devido a piora sintomatológica) no grupo placebo (n=5) do que no grupo minociclina (n=3). Apesar da possibilidade de um efeito casual, pode-se supor que a eficácia da minociclina sobre sintomas positivos e negativos da esquizofrenia tenha contribuído para menor necessidade de ajuste posológico do antipsicótico.

Outro aspecto a salientar é que houve um cuidadoso emparelhamento dos dois grupos. Este emparelhamento é de suma importância, já que fatores como idade, tempo de doença, tempo de psicose sem tratamento, subtipo diagnóstico e tipos de antipsicóticos podem potencialmente levar a diferentes evoluções no quadro da esquizofrenia. Vale ressaltar que o tempo de psicose não tratada (latência de tempo entre o início dos sintomas psicóticos e início do tratamento) é um dos melhores preditores da evolução dos sintomas de pacientes em primeiro episódio de psicose. Evidências crescentes deste ponto de vista surgem de estudos longitudinais com pacientes em primeiro episódio de psicose, com a associação consistente entre tempo de psicose anterior ao tratamento e pior desfecho clínico (LIEBERMAN, 1999). Desta forma, este emparelhamento cauteloso contribuiu para que o efeito medido seja da droga em estudo e não devido a outros fatores envolvidos no curso da esquizofrenia.

Assim, os resultados do presente estudo com a minociclina são coerentes com a necessidade de novos agentes com diferentes mecanismos de ação para o tratamento da esquizofrenia.

A potencialização farmacológica do tratamento antipsicótico da esquizofrenia tem sido desafiante, já que estudos com outros agentes farmacológicos para otimização da eficácia terapêutica dos antipsicóticos têm mostrado resultados inconsistentes. Uma grande gama de tratamentos adjuvantes tem sido investigada na esquizofrenia, ressaltando-se que os efeitos terapêuticos têm sido pequenos e conflitantes em estudos controlados (MIYAMOTO et al., 2005). Desta forma, a adição de lítio, carbamazepina ou ácido valpróico ao tratamento antipsicótico mostraram resultados inconsistentes (MIYAMOTO et al., 2005). Possivelmente devido ao papel potencial de agentes GABAérgicos modularem a neurotransmissão dopaminérgica, altas doses de benzodiazepínicos também foram investigadas em adição ao tratamento antipsicótico, não mostrando benefícios significativos

(MIYAMOTO et al., 2005). Medicamentos que exercem modulação da neurotransmissão glutamatérgica são importantes estratégias para potencialização do tratamento da esquizofrenia. Dessa forma, têm sido realizadas pesquisas com agentes potencializadores da neurotransmissão mediada pelo receptor NMDA, com agonistas dos receptores glutamatérgicos metabotrópicos mGlu2/3 e com lamotrigina. Estudos iniciais com sarcosina, um inibidor da recaptação de glicina, têm mostrado bons resultados no tratamento adjuvante da esquizofrenia (TSAI et al., 2004; LANE et al., 2005). Este efeito é análogo às pesquisas básicas com minociclina, que mostram proteção contra a administração de antagonistas NMDA em modelos animais (FUJITA et al., 2008; LEVKOVITZ et al., 2008; ZHANG et al., 2007). Os receptores mGlu2/3 localizam-se na membrana pré-sináptica e reduzem a liberação de glutamato quando ativados. Estudos iniciais com drogas agonistas destes receptores têm mostrado bons resultados (MOGHADDAM, 2004). Outra medicação a ser ressaltada é a lamotrigina, um anticonvulsivante de amplo espectro que também é utilizado no tratamento do transtorno bipolar (LARGE; WEBSTER; GOFF, 2005). Seus efeitos na função neuronal incluem inibição da liberação de glutamato. Consistentemente com a teoria glutamatérgica da esquizofrenia, há evidências de que a lamotrigina pode aumentar a eficácia dos antipsicóticos no tratamento da esquizofrenia, possivelmente devido à modulação da neurotransmissão glutamatérgica (LARGE; WEBSTER; GOFF, 2005). Os efeitos dos agonistas mGlu2/3 e da lamotrigina podem ter analogia com a eficácia da minociclina, já que um dos possíveis mecanismos de ação da minociclina na esquizofrenia inclui a proteção contra injúrias decorrentes do excesso de liberação de glutamato, através de modulação de cascatas de sinalização ativadas pelo glutamato (PI et al., 2004). Vale lembrar que a hipofunção dos receptores NMDA é uma das principais hipóteses da fisiopatologia da esquizofrenia, possivelmente devido a excesso compensatório de liberação de glutamato nos receptores não NMDA (DEAKIN ET AL., 2008; OLNEY; NEWCOMER; FARBER, 1999).

Os exatos mecanismos da ação neuroprotetora da minociclina são desconhecidos. Esta medicação não parece exercer efeito importante nos diferentes neuroreceptores e sua eficácia em diferentes doenças neurodegenerativas sugere que seus efeitos podem ser decorrentes principalmente de três modos de ação: modulação da micróglia, ação anti-apoptótica e envolvimento em cascatas de sinalização (KIM; SUH, 2009). A modulação da micróglia compreende os efeitos

inibitórios em diferentes mediadores inflamatórios e redução da ativação da micróglia. As ações anti-apoptóticas incluem inibição da liberação do citocromo c da mitocôndria e inibição da expressão das caspases-1 e -3. O envolvimento em cascatas de sinalização é referente principalmente à inibição da MAPK p38 e manutenção da ativação da via de sinalização PI-3/Akt. A ativação da MAPK e a supressão da via de sinalização PI-3/Akt estão associadas ao mecanismo de ação neurotóxica do glutamato, de forma que a potente modulação destas enzimas pela minociclina parece ser o principal mecanismo de proteção contra injúrias decorrentes do excesso de liberação de glutamato (PI et al., 2004). Como a disfunção glutamatérgica está implicada na fisiopatologia da esquizofrenia, este efeito pode ter um importante papel mediador da eficácia da minociclina em diferentes sintomas da esquizofrenia.

Um ponto de particular interesse diz respeito à dose necessária dessa medicação para neuroproteção. Estudos em animais mostram um importante efeito neuroprotetor desta droga com doses significativamente maiores do que as necessárias para o efeito antibiótico (PI et al., 2004). Ainda não foi estabelecida qual a dose ideal da minociclina em humanos para que esta possa exercer plenamente seus efeitos neuroprotetores, sem causar efeitos colaterais significativos. Neste estudo, a minociclina foi muito bem tolerada, de forma concordante com o seu amplo uso como antibiótico e como tratamento da acne e da artrite reumática. Em outros transtornos, a minociclina tem sido investigada em humanos com doses significativamente maiores. Três estudos em andamento (U.S. NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH) nos Estados Unidos estão sendo realizados com altas doses de minociclina: um estudo com isquemia cerebral aguda (10 mg/kg/d intravenoso), outro com lesão aguda de medula espinhal (800 mg/d intravenoso) e um estudo para tratamento de asma (500 mg/d via oral). Dessa forma, doses maiores de minociclina podem ser ainda mais eficazes para o tratamento da esquizofrenia.

Além da dose utilizada, outras possíveis limitações deste estudo englobam o pequeno tamanho amostral e o fato da minociclina não ter sido administrada em diferentes dosagens. Como ainda é desconhecida a dosagem ideal da minociclina, estudos que utilizam delineamentos com diferentes doses são importantes tanto para o tratamento da esquizofrenia como de outras doenças neurodegenerativas. A replicação destes resultados em ensaios terapêuticos com grande tamanho amostral



também é de particular relevância para definir a eficácia da minociclina no tratamento da esquizofrenia.

Por fim, este estudo sugere que a minociclina pode ter um importante papel como medicação adjuvante no tratamento dos sintomas positivos e negativos da esquizofrenia.

## 6 CONCLUSÃO

Em conclusão, a adição de minociclina ao tratamento antipsicótico habitual apresentou eficácia no tratamento dos sintomas positivos e negativos da esquizofrenia. Também houve melhora em psicopatologia geral, que inclui sintomas depressivos e ansiosos. Desta forma, esta medicação apresenta ser segura e promissora como tratamento adjuvante da esquizofrenia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREASEN, N. C. Negative symptoms in schizophrenia. Definition and reliability. *Arch Gen Psychiatry*, 39, 784-8, 1982.

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

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

BUCHANAN, R. W. Persistent negative symptoms in schizophrenia: an overview. *Schizophr Bull*, 33, 1013-22, 2007.

BUCHANAN, R. W. et al. The Cognitive and Negative Symptoms in Schizophrenia Trial (CONSIST): the efficacy of glutamatergic agents for negative symptoms and cognitive impairments. *Am J Psychiatry*, 164, 1593-602, 2007.

BUCKLEY, P. F. ;STAHL, S. M. Pharmacological treatment of negative symptoms of schizophrenia: therapeutic opportunity or cul-de-sac? *Acta Psychiatr Scand*, 115, 93-100, 2007.

CAMBRIDGE COGNITION LIMITED. Cambridge Automated Neuropsychological Test Automated Battery (CANTAB™ – Eclipse), 2004. Disponível em: <<http://www.cantab.com>>. Acesso em: 25 jun. 2009.

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

COUGHLAN, A. K.; HOLLOWES, S. E. The Adult Memory and Information Processing Battery (AMIPB), Psychology Department, St James's University Hospital, Leeds, 1985.

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

DEAKIN, J. F. et al. Glutamate and the neural basis of the subjective effects of ketamine: a pharmacological magnetic resonance imaging study. *Arch Gen Psychiatry*, 65, 154-64, 2008.

DEAKIN, J. F.; SIMPSON, M. D. A two-process theory of schizophrenia: evidence from studies in post-mortem brain. *J Psychiatr Res*, 31, 277-95, 1997.

DENOVAN-WRIGHT, E. M. et al. Maintained improvement with minocycline of a patient with advanced Huntington's disease. *J Psychopharmacol*, 16, 393-4, 2002.

FARDE, L. et al. Central D2-dopamine receptor occupancy in schizophrenic patients treated with antipsychotic drugs. *Arch Gen Psychiatry*, 45, 71-6, 1988.

FUJITA, Y. et al. Phencyclidine-induced cognitive deficits in mice are improved by subsequent subchronic administration of the antibiotic drug minocycline. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 32, 336-9, 2008.

GABROVSKA, V. S. et al. Visual object processing in schizophrenia: evidence for an associative agnostic deficit. *Schizophr Res*, 59, 277-86, 2003.

GRAY, J. A.; ROTH, B. L. Molecular targets for treating cognitive dysfunction in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 33, 1100-19, 2007.

GREEN, M. F. What are the functional consequences of neurocognitive deficits in schizophrenia? *Am J Psychiatry*, 153, 321-30, 1996.

GUY, W. In ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology - Revised (DHEW Publ No ADM 76-338), US Department of Health, Education and Welfare; 1976.

HALLAK, J. E. C. Estudo da percepção emocional em voluntárias sadias sob o efeito de doses subanestésicas de ketamina em um estudo randômico e duplo-cego. Tese de pós doutorado concluída na Universidade de Manchester, 2003.

HALLAK, J. E. et al. Total agenesis of the corpus callosum in a patient with childhood-onset schizophrenia. *Arq Neuropsiquiatr*, 65, 1216-9, 2007.

HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE FOR GOOD CLINICAL PRACTICE. International Federation of the Pharmaceutical Manufacturers Association, Geneva, 1996.

HARVEY, P.D. Pharmacological cognitive enhancement in schizophrenia. *Neuropsychol Rev*. ISSN 1573-6660 (eletrônico); DOI 10.1007/s11065-009-9103-4, 2009.

JOHNSTONE, E. C. et al. The Northwick Park "functional" psychosis study: diagnosis and treatment response. *Lancet*, 2, 119-25, 1988.

JONES, P. B. et al. Randomized controlled trial of the effect on Quality of Life of second- vs first-generation antipsychotic drugs in schizophrenia: Cost Utility of the Latest Antipsychotic Drugs in Schizophrenia Study (CUtLASS 1). *Arch Gen Psychiatry*, 63, 1079-87, 2006.

KAY, S. R.; FISZBEIN, A.; OPLER, L. A. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull*, 13, 261-76, 1987.

KIM, H. S. ;SUH, Y. H. Minocycline and neurodegenerative diseases. *Behav Brain Res*, 196, 168-79, 2009.

KRAEPELIN, E. Dementia praecox and paraphrenia. Edinburgh, Scotland. E&S Livingstone, 1919.

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

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

LANE, H. Y. et al. Sarcosine or D-serine add-on treatment for acute exacerbation of schizophrenia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arch Gen Psychiatry*, 62, 1196-204, 2005.

LARGE, C. H.; WEBSTER, E. L.; GOFF, D. C. The potential role of lamotrigine in schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*, 181, 415-36, 2005.

LEVKOVITZ, Y. et al. Minocycline, a second-generation tetracycline, as a neuroprotective agent in an animal model of schizophrenia. *Brain Res*, 1154, 154-62, 2007.

LEVKOVITZ, Y. et al. Minocycline ameliorates negative symptoms and cognitive deficits in early-phase schizophrenia: a double-blind, randomized placebo-controlled study. (Abstract). *Schizophr Res*. 2008; 98:14 , 2008.

LIEBERMAN, J. A. Prediction of outcome in first-episode schizophrenia. *J Clin Psychiatry*, 54 Suppl, 13-7, 1993.

LIEBERMAN, J. A. Is schizophrenia a neurodegenerative disorder? A clinical and neurobiological perspective. *Biol Psychiatry*, 46, 729-39, 1999.

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

LIEBERMAN, J. A. et al. Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *N Engl J Med*, 353, 1209-23, 2005.

LINGJAERDE, O. et al. The UKU side effect rating scale. A new comprehensive rating scale for psychotropic drugs and a cross-sectional study of side effects in neuroleptic-treated patients. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, 334, 1-100, 1987.

MALHOTRA, A. K. et al. Ketamine-induced exacerbation of psychotic symptoms and cognitive impairment in neuroleptic-free schizophrenics. *Neuropsychopharmacology*, 17, 141-50, 1997.

MCGLASHAN, T. H. A selective review of recent North American long-term followup studies of schizophrenia. *Schizophr Bull*, 14, 515-42, 1988.

MIYAMOTO, S. et al. Treatments for schizophrenia: a critical review of pharmacology and mechanisms of action of antipsychotic drugs. *Mol Psychiatry*, 10, 79-104, 2005.

MIYAOKA, T. et al. Possible antipsychotic effects of minocycline in patients with schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 31, 304-7, 2007.

MIYAOKA, T. et al. Minocycline as adjunctive therapy for schizophrenia: an open-label study. *Clin Neuropharmacol*, 31, 287-92, 2008.

MOGHADDAM, B. Targeting metabotropic glutamate receptors for treatment of the cognitive symptoms of schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*, 174, 39-44, 2004.

MOLLER, H. J. Non-neuroleptic approaches to treating negative symptoms in schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 254, 108-16, 2004.

MURPHY, B. P. et al. Pharmacological treatment of primary negative symptoms in schizophrenia: a systematic review. *Schizophr Res*, 88, 5-25, 2006.

NATIONAL INSTITUTE OF MENTAL HEALTH. CGI – Clinical Global Impression. In Guy W (ed.) ECDEU Assessment Manual of Psychopharmacology (revised). NIMH, Rockville, MD pp. 534–537, 1976.

OJEDA, N. et al. Course of cognitive symptoms in schizophrenia: a review of the literature. *Actas Esp Psiquiatr*, 35, 263-70, 2007.

OLNEY, J. W.; NEWCOMER, J. W.; FARBER, N. B. NMDA receptor hypofunction model of schizophrenia. *J Psychiatr Res*, 33, 523-33, 1999.

PEREZ-NERI, I. et al. Possible mechanisms of neurodegeneration in schizophrenia. *Neurochem Res*, 31, 1279-94, 2006.

PI, R. et al. Minocycline prevents glutamate-induced apoptosis of cerebellar granule neurons by differential regulation of p38 and Akt pathways. *J Neurochem*, 91, 1219-30, 2004.

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

REY, A. L'examen clinique en psychologie. Paris: Presses Universitaires de France, 1958.

SHEPHERD, M. et al. The natural history of schizophrenia: a five-year follow-up study of outcome and prediction in a representative sample of schizophrenics. *Psychol Med Monogr Suppl*, 15, 1-46, 1989.

SINGH, A.C. et al. Addressing nonadherence in the schizophrenic population. *Journal of Pharmacy Practice*, 19(6), 361-368. 2006.

STAHL, S. M.; BUCKLEY, P. F. Negative symptoms of schizophrenia: a problem that will not go away. *Acta Psychiatr Scand*, 115, 4-11, 2007.

STEFAN, M.; TRAVIS M.; MURRAY R.M. The encyclopedia of visual medicine series: An atlas of schizophrenia. London, UK. The Parthenon Publishing Group, 2002. 89 p.

STIRLING, J. et al. Neurocognitive function and outcome in first-episode schizophrenia: a 10-year follow-up of an epidemiological cohort. *Schizophr Res*, 65, 75-86, 2003.

STROOP, J.R. Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology*, 28, 643-662, 1935.

TANDON, R. et al. World Psychiatric Association Pharmacopsychiatry Section statement on comparative effectiveness of antipsychotics in the treatment of schizophrenia. *Schizophr Res*, 100, 20-38, 2008.

TSAI, G. et al. Glycine transporter I inhibitor, N-methylglycine (sarcosine), added to antipsychotics for the treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 55, 452-6, 2004.

U.S. National Institutes of Health. Minocycline and perfusion pressure augmentation in acute spinal injury. Disponível em: <<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00559494?term=minocycline+spinal&rank=1>>. Acesso em: 25 jun. 2009.

U.S. National Institutes of Health. Open-label trial of the use of minocycline in the treatment of asthma. Disponível em: <<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00536042?term=minocycline&rank=17>>. Acesso em 25 jun. 2009.

U.S. National Institutes of Health. Study of a neuroprotective drug to limit the extent of damage from an ischemic stroke (MINO). Disponível em: <<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00630396?term=minocycline&rank=6>>. Acesso em 25 jun. 2009.

VESSONI, A.L.N. Adaptação e estudo da confiabilidade da escala de avaliação das síndromes positiva e negativa para a esquizofrenia no Brasil. Dissertação de Mestrado. Escola Paulista de Medicina, 1993.

WARRINGTON, E. K. Manual for Recognition Memory Test. Windsor, England: NFER-Nelson, 1984.

WARRINGTON, E.K. VOSP – visual object and spatial perception. Thames Valley Test Company, 1991.

WECHSLER, D. Wechsler Adult Intelligence Scale. San Antonio: Psychological Corporation, 1955.

YRJANHEIKKI, J. et al. A tetracycline derivative, minocycline, reduces inflammation and protects against focal cerebral ischemia with a wide therapeutic window. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96, 13496-500, 1999.

ZHANG, L. et al. Protective effects of minocycline on behavioral changes and neurotoxicity in mice after administration of methamphetamine. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 30, 1381-93, 2006.

ZHANG, L. et al. Minocycline attenuates hyperlocomotion and prepulse inhibition deficits in mice after administration of the NMDA receptor antagonist dizocilpine. *Neuropsychopharmacology*, 32, 2004-10, 2007.



## ANEXOS

### ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE  
RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO - MONTE ALEGRE - FONE: 602-1000  
CEP. 14048 - RIBEIRÃO PRETO - S.P.**

#### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO:**

**Nome da Pesquisa: Estudo piloto duplo-cego randomizado da adição de minociclina ou placebo ao tratamento usual de esquizofrenia de início recente.**

**Pesquisador Responsável: Dr. JAIME EDUARDO CECILIO HALLAK.  
CRM - 71.498.**

**Descrever abaixo as informações dadas aos pacientes sobre:**

**01 - A justificativa e objetivo da pesquisa;**

**02 - os procedimentos que serão utilizados e seu propósito, bem como a identificação dos procedimentos que são experimentais;**

**03 - os desconfortos e riscos esperados;**

**04 - os benefícios que se pode obter:**

Você está sendo convidado a participar de um estudo de pesquisa. Antes que você decida é importante que você entenda o porquê esta pesquisa está sendo feita e o que significa participar dela. Por favor, leia atentamente as informações a seguir e discuta as mesmas com outras pessoas que você considere importantes e que possam lhe ajudar a decidir, se assim o desejar. Caso você tenha alguma dúvida durante a leitura, não se acanhe em perguntar para que eu possa esclarecê-lo. Leve o tempo que for necessário para tomar sua decisão se irá participar ou não deste estudo.

#### 1 – Qual é o objetivo deste estudo?

Esta pesquisa busca encontrar melhores maneiras de tratar doenças psicóticas como a esquizofrenia. O objetivo é reduzir a necessidade de medicações tranqüilizantes, prevenir sintomas como a perda de motivação e auxiliar que as pessoas portadoras destas doenças consigam conduzir sua vida com o mínimo de dificuldade possível. Essa pesquisa é financiada por uma organização de caridade mundial que incentiva o desenvolvimento de pesquisas ao redor do mundo, denominada Stanley Medical Research Institute e está sendo conduzida em dois países que apresentam características semelhantes na maneira de acompanhar

portadores destas doenças (Brasil e Paquistão). Empresas farmacêuticas não estão envolvidas nesta pesquisa.

Os motivos pelos quais a esquizofrenia e outras doenças psicóticas relacionadas ocorrem tão freqüentemente e porque elas se iniciam geralmente no início da vida adulta ainda não é bem compreendido. Algumas vezes, assim que começam a se tratar, os pacientes melhoram rapidamente, para logo em seguida perder a motivação e a capacidade de socialização, assim como podem persistir com outros sintomas chamados de residuais. Isto parece ocorrer devido à própria doença e não como efeito colateral das medicações disponíveis para o tratamento. Existem evidências atuais que mesmo em tratamento algumas funções do cérebro, como a memória, podem continuar apresentando um pequeno e lento declínio após a doença começar. Estudos modernos de imagem cerebral sugerem que algumas regiões específicas do cérebro podem estar diminuídas e continuar diminuindo ao longo do tempo, o que poderia ser responsável pela dificuldade que alguns pacientes apresentam em conseguir uma recuperação completa para uma vida normal. Nós acreditamos que seja possível parar essa progressão da doença agindo rapidamente através da introdução de uma medicação que protege as células cerebrais de serem lesionadas.

Uma das drogas do estudo é a minociclina, um antibiótico comum, utilizado para o tratamento da acne, que também apresenta propriedades de proteção das células cerebrais em estudos laboratoriais. Se você concordar em participar desta pesquisa, você poderá tomar ou uma dessas duas medicações ou uma medicação que não apresenta efeito chamada placebo durante um ano. Essas medicações serão adicionadas ao seu tratamento habitual, o qual você deverá continuar fazendo regularmente.

## 2 – Porque eu fui escolhido?

Você foi escolhido para participar deste estudo porque você foi diagnosticado como portador de uma das condições que estão sendo estudadas e as pessoas que estão lhe acompanhando acreditam que você preencha os critérios necessários para participar. Se você concordar em participar, você será adicionalmente acompanhado pelo período de um ano. Sessenta pessoas serão convidadas a participar deste estudo.

## 3 – Eu tenho que participar?

Você é quem decidirá se participará ou não. Se você concordar em participar, lhe será entregue uma cópia destas informações e você e um familiar terão que assinar o consentimento. Você poderá deixar a pesquisa em qualquer momento que você deseje, sem a necessidade de dar nenhuma explicação. Se você desistir da pesquisa, ou decidir não participar da mesma, o seu acompanhamento não será afetado de maneira alguma.

## 4 – O que irá acontecer comigo, se eu participar?

Inicialmente lhe será explicado o estudo e lhe será dada uma cópia deste consentimento, a qual você poderá levar para casa para ler, bem como discutir com seus familiares e seu médico. Será-lhe dado um número de telefone para contato com os pesquisadores. Na primeira visita, você e um familiar deverão assinar o consentimento no qual você diz ter sido explicado os detalhes da pesquisa, que você

os entendeu e que concorda em participar. Você será então entrevistado para confirmar que você preenche os critérios de participação, através de perguntas a respeito de sua história médica atual e passada, bem como a respeito dos sintomas que você está apresentando atualmente e que apresentou no passado.

Caso você preencha os requisitos necessários, será realizada então uma avaliação para medir sua memória e sua concentração, através de testes em que você terá, por exemplo, que reconhecer figuras, fotografias, números, faces, etc. Esses testes são bem simples e fáceis de completar, sendo que a maior parte das pessoas acha bem interessante realizá-los. Alguns serão realizados utilizando-se a tela de um computador, que você terá que tocar para indicar sua resposta. O tempo total para esses testes é de cerca três a três horas e meia. Esses testes poderão ser divididos em uma ou duas visitas a mais, se assim você desejar. Eles serão realizados aqui no Hospital das Clínicas.

Após os testes, você será triado para receber uma das duas medicações (minociclina ou placebo). O placebo é uma pílula de farinha, que não contém nenhuma medicação ativa. Essa divisão nesses dois grupos é importante para poder comparar o efeito entre as medicações e saber qual é a melhor. Pacientes dos dois grupos serão comparados entre si. A escolha de qual grupo você participará será feita através de um programa de computador sem informações individuais suas, somente para ter certeza que os grupos serão divididos de maneira igual, aumentando a precisão das comparações.

O pesquisador lhe entregará então a sua medicação. Durante as primeiras oito semanas você receberá a medicação a cada duas semanas. Depois, receberá uma vez por mês. Quando você vier receber sua medicação, você deverá trazer as embalagens que lhe foram entregues previamente, junto com as medicações que não foram utilizadas.

Após a primeira visita, você tomará a nova medicação duas vezes ao dia durante um ano, juntamente com sua medicação regular. É muito importante que você continue tomando seus remédios normalmente durante o período da pesquisa. É possível que no começo você apresente um pouco de tontura ou visão embaçada, portanto lhe serão explicados os possíveis efeitos colaterais das medicações e que você se adapte a elas antes de dirigir ou operar máquinas. Você poderá ligar para os números de telefone que lhe serão fornecidos a qualquer momento, caso você tenha alguma dúvida ou preocupação em respeito a esta pesquisa.

Um cartão será fornecido a você, indicando que você está participando desta pesquisa e contendo o número de telefone para contato.

Após tomar a medicação por um ano, os testes de memória e concentração serão repetidos pela segunda vez. Após essa avaliação sua medicação será gradualmente reduzida, até ser retirada, em um período de duas semanas.

#### 5 – O que eu tenho que fazer?

Você deverá continuar tomando sua medicação prescrita pelo seu médico normalmente e também tomar a medicação do estudo uma vez ao dia. O

pesquisador responsável irá fornecer a sua medicação e, a cada visita, você deverá trazer as embalagens e os comprimidos que você não utilizou. Se você desenvolver alguma lesão de pele ou sintomas parecidos com os da gripe, você deverá informar aos pesquisadores imediatamente.

É muito importante que você complete todos os testes de memória e concentração no começo e no final da pesquisa. Esses testes podem ser um pouco cansativos, mas são extremamente importantes para os resultados da pesquisa. Se você acha que não conseguirá completá-los, pense bem antes de concordar em participar.

Se você for do sexo feminino, em idade de engravidar, lhe será solicitado um exame de urina no começo do estudo e a intervalos de 10 semanas.

#### 6 – Quais são as medicações que estão sendo testadas?

Minociclina é um antibiótico utilizado rotineiramente para o tratamento da acne (espinhas). Essa medicação é tomada em doses médias de 200 mg por dia.

A minociclina será fornecida a cada duas semanas até a oitava semana, quando você deverá ter atingido a dose de 200 mg. As medicações do estudo serão tomadas em duas tomadas.

O placebo será fornecido em cápsulas para serem tomadas duas vezes ao dia.

#### 7 – Quais são os possíveis efeitos colaterais das medicações pesquisadas?

Assim como qualquer medicação, a minociclina pode causar efeitos colaterais indesejados.

A minociclina pode causar: - diarreia, mal estar, náuseas e vômitos, dificuldade de deglutição, reações alérgicas, pancreatite, sensibilidade dermatológica, dores de cabeça, distúrbios visuais, e muito raramente alterações de funções hepáticas, pericardite, zumbidos e piora dos sintomas do lupus eritematoso sistêmico, descoloração dos dentes e da conjuntiva.

#### 8 - Quais são os riscos envolvidos na participação nesta pesquisa e quais as precauções que são necessárias?

Para minimizar a chance de quaisquer problemas, nós perguntaremos a respeito de sua história médica antes de você iniciar no estudo.

A dosagem das medicações será aumentada lenta e progressivamente até a dose indicada, o que minimiza o risco de efeitos adversos.

É importante que você compreenda que alguns participantes apresentarão uma resposta muito boa a essas medicações, enquanto outros poderão apresentar respostas mais discretas ou mesmo resposta alguma durante o tratamento.

Você sempre poderá contar com alguém qualificado do ponto de vista médico, caso você precise ou queira esclarecer alguma dúvida quanto aos tratamentos empregados nesta pesquisa.

É possível que as medicações se forem administradas a alguma mulher grávida, possam prejudicar o bebê. Portanto, mulheres grávidas não podem participar desta pesquisa. Mulheres que estejam em idade fértil serão solicitadas a fornecer amostras de urina periodicamente (antes do estudo começar e a cada 10 semanas) para se afastar gravidez.

Mulheres que possam vir a engravidar deverão utilizar métodos contraceptivos eficazes como, por exemplo, métodos de barreira dupla (preservativos com espermicida – ambos juntos e não isoladamente). Contraceptivos orais, implantes ou de depósito são considerados efetivos individualmente. No entanto, como uma das medicações é um antibiótico, e sabidamente antibióticos podem diminuir a eficácia de contraceptivos orais, é importante o uso de meios adicionais de controle (por exemplo, preservativos) durante o período da pesquisa. Nesse caso, será assegurado às voluntárias que desejem participar do estudo o acesso aos métodos contraceptivos adequados.

Em caso de gravidez durante o estudo, a voluntária será excluída da pesquisa, com os pesquisadores assegurando o acompanhamento da gestante até o termo e da criança se for o caso.

#### 9 - Quais são os possíveis benefícios em se participar desta pesquisa?

É esperado que ambos os tratamentos ativos ajudem você, embora isso não possa ser garantido. A informação que este estudo irá gerar poderá ajudar no desenvolvimento de tratamentos mais efetivos para portadores de doença psicótica no futuro.

#### 10 – O que acontecerá quando o estudo acabar?

Ao final do estudo, você não receberá mais a medicação pesquisada, mas deverá continuar tomando sua medicação normalmente prescrita pelos seus médicos. No entanto, se os resultados dessa pesquisa forem positivos, elas já se encontram disponíveis no mercado, podendo ser continuadas através de prescrição, caso você e seu médico concordem.

Algumas vezes, durante o decorrer de uma pesquisa, novas informações a respeito das medicações se tornam disponíveis. Se isso acontecer, você será informado a respeito, uma vez que isto pode vir a mudar seu desejo de continuar participando da mesma.

Sua participação no estudo poderá ser encerrada pelos pesquisadores, após análise das razões da descontinuidade pelo Comitê de Ética em Pesquisa que aprovou o estudo. As seguintes situações podem levar à sua descontinuação do estudo;

Se você não seguir as recomendações médicas dos pesquisadores.

Se alguma coisa séria acontecer com você que precise tratamento, mesmo não relacionado diretamente com as medicações pesquisadas.

O médico decidir que é do interesse de sua saúde e seu bem-estar descontinuar a medicação.

Não se conseguir o número suficiente de pacientes para o estudo.

11 – E se alguma coisa der errado durante a pesquisa?

O pesquisador e a instituição devem assumir a responsabilidade de dar assistência integral às complicações e danos decorrentes dos riscos previstos. Assim, os participantes da pesquisa que vierem a sofrer qualquer tipo de dano previsto ou não no termo de consentimento e resultante de sua participação, além do direito à assistência integral, têm direito à indenização.

Se você for diretamente prejudicado pela pesquisa, lhe é garantido o acesso ao tratamento necessário para qualquer situação provocada pela medicação pesquisada.

12 - Quando eu tenho que dar uma resposta se participarei e o que acontece se eu disser que quero participar e depois mudar de idéia?

Você pode levar o tempo que for necessário para você tomar sua decisão em participar ou não do estudo. Se você decidir deixar a pesquisa, mesmo durante os testes, você pode, sem prejuízo ao seu acompanhamento regular.

13 - O que eu ganho se eu participar do estudo?

Nós lhe forneceremos a medicação da pesquisa.

14 – E se eu precisar entrar em contato com os pesquisadores?

Alguém estará disponível 24 h por dia para essa pesquisa. O número do Laboratório de Psicofarmacologia é 16-3602 2703. O número para contato do investigador principal (Prof. Dr. Jaime E. C. Hallak) é 16-3602-2853 ou 16-9705 5400.

15 – Minha participação no estudo será mantida confidencial?

Se você concordar em participar na pesquisa as suas informações serão mantidas estritamente confidenciais. Qualquer informação que deixe o Hospital terá seu nome e endereço removidos, para que você não possa ser identificado. Membros da equipe de pesquisa ou autoridades de vigilância sanitária podem ter que checar se a pesquisa está sendo conduzida adequadamente e acessar seus prontuários médicos.

Seu médico será informado que você está participando do estudo.

16 – O que acontecerá com os resultados deste estudo?

Ao final do estudo, os dados serão computados de maneira anônima em um programa de computador e serão analisados. Os resultados serão publicados em

uma revista médica ainda não definida. Lembre, no entanto que este trabalho tem a duração de dois anos e somente a partir daí que os dados serão analisados.

17 – O que eu faço agora?

Você pode nos contactar através do número de telefone que você recebeu ou então pessoalmente nos próximos dias. Quaisquer dúvidas que você tiver serão esclarecidas e você poderá nos informar se concordou ou não em participar desta pesquisa.

Muito obrigado por considerar participar de nossa pesquisa.

Prof. Dr. Jaime E C Hallak  
Pesquisador Responsável.  
Laboratório de Psicofarmacologia - Hospital das Clínicas  
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP





## ANEXO B – Carta de aprovação do comitê de ética em pesquisa do HCRP

CÓPIA

Fls. n.º	51
Process. n.º	687/05
Doc.	A



CEP. 14048-900  
RIBEIRÃO PRETO - S.P.  
BRASIL

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA  
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CAMPUS UNIVERSITÁRIO – MONTE ALEGRE  
FONE: 602-1000 - FAX (016) 633-1144

Ribeirão Preto, 19 de janeiro de 2005

Ofício nº 168/2005  
CEP/SPC

**Senhor Professor:**

O projeto de pesquisa intitulado: “**ESTUDO PILOTO DUPLO-CEGO RANDOMIZADO DA ADIÇÃO DE LAMOTRIGINA, MINOCICLINA OU PLACEBO AO TRATAMENTO USUAL (TAU) DE PRIMEIRO EPISÓDIO DE PSICOSE**”, foi analisado e **APROVADO “AD REFERENDUM”** em 19/01/2005, **bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 687/2005. Lembramos que devem ser encaminhados a este CEP relatórios semestrais e relatório final da pesquisa.

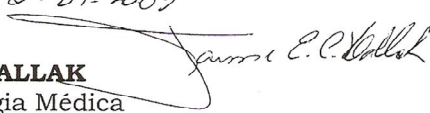
**Entretanto, deve-se aguardar a manifestação da CONEP, pois o projeto será encaminhado para apreciação e aprovação.**

Aproveito a oportunidade para apresentar a Vossa Senhoria protestos de estima e consideração.

  
**PROF. DR. SÉRGIO PEREIRA DA CUNHA**  
Coordenador do Comitê de Ética  
em Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimo Senhor  
**PROF. DR. JAIME EDUARDO CECILIO HALLAK**  
Depto. de Neurologia, Psiquiatria e Psicologia Médica  
Em mãos

20-01-2005



## ANEXO C – Carta de aprovação da comissão nacional de ética em pesquisa (CONEP)



MINISTÉRIO DA SAÚDE  
Conselho Nacional de Saúde  
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

220  
687/05  
A

### PARECER Nº 1456/2005

Registro CONEP: 11726 (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)  
CAAE – 0357.1.004.000-05 Processo n.º 25000.037800/2005-20  
Projeto de Pesquisa: “Estudo piloto, duplo-cego, randomizado, da adição de lamotrigina, minociclina ou placebo, ao tratamento usual (TAU) de primeiro episódio de psicose”. Estudo Fase III. Termo de Consentimento apresentado em atendimento ao Parecer CONEP nº 928/2005.

Pesquisador Responsável: Prof. Dra. Jaime Eduardo Cecilio Hallak.

Instituição: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – HCFMRP/USP.

Área Temática Especial: Novos Fármacos... c/c cooperação estrangeira.

Ao se proceder a análise das respostas às pendências do Parecer CONEP 928/2005, cabem as seguintes considerações:

1. Dentre as respostas informa-se que: os dois pesquisadores principais do estudo são, Prof. Dr. Jaime Eduardo Cecilio Hallak de Ribeirão Preto e Dr. Imran Chaudhry do Paquistão; como na elaboração do projeto identificou-se que o Paquistão (país de origem do Dr. Imran Chaudhry) era muito parecido com a região de Ribeirão Preto no Brasil, quanto ao atendimento dos portadores de esquizofrenia, optou-se por fazer um estudo bi-cêntrico; para O Stanley Medical Research Institute (SMRI), o autor principal, que foi quem submeteu o projeto finalizado para solicitação da Grant é o Dr. Imran Chaudhry e todos os outros são colaboradores.
2. Foi anexado ao protocolo o documento de aprovação ética por Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Psiquiatria em Rawalpindi – Paquistão.
3. Foi anexado o contrato entre o Stanley Medical Research Institute e o Pakistan Institute of Learning and Living (PILL) e o Dr. Imran Bashir Chaudhry e Ribeirão Preto, SP.  
A população estudada será de pacientes dentro dos primeiros 5 anos de início de doença psicótica não afetiva e que freqüentam os serviços de saúde mental do Instituto de Psiquiatria em Rawalpindi, no Paquistão e em Ribeirão Preto, SP.
4. No subitem 6.1, dos critérios de inclusão, foi substituída a frase “pacientes capazes de ler e de fornecer consentimento livre e esclarecido (juntamente com familiar ou responsável)” por “pacientes alfabetizados”. No entanto, permanece o critério discriminatório e, portanto, esse subitem deve ser excluído.
5. Os subitens 8.1 e 12.3 do protocolo foram alterados nos termos das considerações da CONEP.
6. Quanto ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE:  
Foi apresentado um documento unificado atendendo as recomendações da CONEP nos itens 7, 8, 10 e 11 e ao final conta com local para assinatura do paciente e do familiar (ou responsável legal).

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto, recomendando que o CEP acompanhe o atendimento da questão nº 4 acima, para posterior início da pesquisa.

Situação: Projeto aprovado com recomendação.  
Brasília, 09 de setembro de 2005.

WILLIAM SAAD HOSSNE  
Coordenador da CONEP/CNS/MS

## APÊNDICE A – Artigo de revisão publicado pelo autor

Brazilian Journal of Medical and Biological Research (2009) 42:  
ISSN 0100-879X Review

# Glutamate-N-methyl-D-aspartate receptor modulation and minocycline for the treatment of patients with schizophrenia: an update

C. Chaves<sup>1,2</sup>, C.R. Marque<sup>1,2</sup>, C. Trzesniak<sup>1,2</sup>, J.P. Machado de Sousa<sup>1,2</sup>,  
A.W. Zuardi<sup>1,2</sup>, J.A.S. Crippa<sup>1,2</sup>, S.M. Dursun<sup>2,3</sup> and J.E. Hallak<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil  
<sup>2</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT-TM), Fundação Hemocentro, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil  
<sup>3</sup>Department of Psychiatry, University of Alberta, Edmonton, Canada

### Abstract

Growing consistent evidence indicates that hypofunction of N-methyl-D-aspartate (NMDA) transmission plays a pivotal role in the neuropathophysiology of schizophrenia. Hence, drugs which modulate NMDA neurotransmission are promising approaches to the treatment of schizophrenia. The aim of this article is to review clinical trials with novel compounds acting on the NMDA receptor (NMDA-R). This review also includes a discussion and translation of neuroscience into schizophrenia therapeutics. Although the precise mechanism of action of minocycline in the brain remains unclear, there is evidence that it blocks the neurotoxicity of NMDA antagonists and may exert a differential effect on NMDA signaling pathways. We, therefore, hypothesize that the effects of minocycline on the brain may be partially modulated by the NMDA-R or related mechanisms. Thus, we have included a review of minocycline neuroscience. The search was performed in the PubMed, Web of Science, SciELO, and Lilacs databases. The results of glycine and D-cycloserine trials were conflicting regarding effectiveness on the negative and cognitive symptoms of schizophrenia. D-serine and D-alanine showed a potential effect on negative symptoms and on cognitive deficits. Sarcosine data indicated a considerable improvement as adjunctive therapy. Finally, minocycline add-on treatment appears to be effective on a broad range of psychopathology in patients with schizophrenia. The differential modulation of NMDA-R neurotransmission, in particular synaptic versus extrasynaptic NMDA-R activation and specific subtypes of NMDA-R, may be the key mediators of neurogenesis and neuroprotection. Thus, psychotropics modulating NMDA-R neurotransmission may represent future monotherapy or add-on treatment strategies in the treatment of schizophrenia.

Key words: Schizophrenia; NMDA agonist; Glycine; Glutamate; Clinical trial; Minocycline

### Introduction

Schizophrenia is a disabling illness that affects approximately 1% of the world population (1) and is characterized by positive, negative and cognitive symptoms. This psychiatric disorder encompasses symptoms such as delusions, hallucinations, disorganized thinking, apathy, and deterioration of social role functioning (1). In addition, patients with schizophrenia experience severe suffering and close to 10% of them commit suicide (1). The typical onset of this disease is in young adults, and its course is often chronic (1).

Disruption of the dopaminergic system is implicated in the pathophysiology of schizophrenia. Conventional dopamine receptor-blocking antipsychotics are effective for positive symptoms, but they have limited effects on negative and cognitive symptoms (2). These symptoms possibly involve other neurotransmitter systems besides dopamine.

Emerging data indicate that hypofunction of glutamatergic N-methyl-D-aspartate receptor (NMDA-R) transmission plays a central role in the pathophysiology of schizophrenia (3,4).

Correspondence: J.E.C. Hallak, Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento, HC, FMRP, USP, Av. Bandeirantes, 3900, 14048-900 Ribeirão Preto, SP, Brasil. E-mail: jhallak@fmrp.usp.br

Received March 14, 2009. Accepted September 15, 2009. Available online.

### Hypothesis of NMDA-R hypofunction in schizophrenia

Emerging data indicate a direct involvement of the glutamatergic system in the pathophysiology of schizophrenia core symptoms. Complementary to the dopamine hypothesis, the hypofunction of the ionotropic glutamate NMDA-R has been proposed as a model of schizophrenia in humans (4). Thus far, there have been many clinical trials with novel compounds acting on the NMDA-R.

The glutamatergic hypothesis of schizophrenia postulates that the dysfunction of neurotransmission mediated by the NMDA-R might represent a primary deficit in this disorder (4). The ability of phencyclidine, ketamine, and other NMDA-R antagonists to induce schizophrenia-like symptoms in healthy volunteers and to exacerbate psychosis in schizophrenic patients is the most compelling evidence of a relationship between NMDA-R function and schizophrenia (4,5).

The NMDA-R antagonist-induced psychosis models are closer to certain clinical aspects of schizophrenia than the amphetamine/dopamine model, mainly by the generation of negative symptoms and cognitive deficits (4,5). Thus, the potentiation of NMDA-R transmission might be a promising treatment approach to schizophrenia.

### Drugs that modulate NMDA-R neurotransmission

Since glutamate and direct-acting NMDA-R agonists may be neurotoxic and are known to cause excitotoxicity, the strategy used in the last decade has relied on agonists at the strychnine-insensitive glycine receptor site of the NMDA-R complex (6). Therefore, experiments have been carried out on full agonists like glycine, D-serine and D-alanine, on the partial agonist D-cycloserine, and on sarcosine.

#### NMDA-R full agonists

Glycine is a small naturally occurring amino acid that functions as an endogenous co-agonist at the strychnine-insensitive glycine binding site, being a prerequisite for the activation of the NMDA ion channel (7). Glycine is not synthesized by glutamatergic neurons and a small amount is released from glycine neurons, so that the neighboring glial cells are the main source of the glycine available for the NMDA-R (8). The permeation of glycine into the brain barrier after peripheral administration is the lowest for any naturally occurring amino acid and high oral doses of glycine must be administered to achieve significant elevations in its central nervous system (CNS) levels (7).

D-serine is an endogenous co-transmitter enriched in corticolimbic regions and distributed in parallel with the NMDA-R (9,10), acting as an endogenous full agonist at the NMDA-R-associated glycine site (9,10). D-serine can be derived from L-serine by serine racemase (SR) enzymatic conversion (8,9). Although initial studies have suggested that this enzyme was localized in glial cells, a recent investigation using novel SR knockout mice as negative controls pointed out that SR was co-localized with neuron-specific

nuclear proteins, with SR expression being observed in GABAergic and glutamatergic neurons, but not in glia (9). In addition, serum and cerebrospinal fluid levels of D- and L-serine and D-serine ratio (D-serine/total serine) may be altered in schizophrenia, as demonstrated by reports of reduction of the D-serine ratio in the cerebrospinal fluid of drug-naïve schizophrenic patients (3) and by decreased serum levels of D-serine in patients with schizophrenia (5). These data suggest that D-serine synthesis or metabolism may be altered in schizophrenia, highlighting a possible reduction of SR activity (3,5). Moreover, D-serine has high affinity for the glycine site on NMDA-R and has the advantage of being more permeable than glycine through the blood-brain barrier, thus requiring a reduced amount per dose (8,10).

D-alanine, as well as D-serine, is an endogenous D-amino acid present in the human CNS (11) and is a selective and potent agonist at the NMDA-R glycine site (11).

#### NMDA-R partial agonist

D-cycloserine, an analog of D-serine, is an antituberculous drug rarely used nowadays due to its adverse psychiatric effects including anxiety, psychosis and seizures at doses of 500-2000 mg (12). D-cycloserine freely crosses the blood-brain barrier and has good bioavailability to the brain (13). It is a partial agonist at the glycine recognition site at lower doses, with agonist properties over a narrow dose range; hence, it can exhibit antagonist activity at higher concentrations. Additionally, D-cycloserine has approximately 40-60% activity compared to glycine and the glycine modulatory site of the NMDA-R (13).

#### Glycine transporter-1 inhibitor

Sarcosine (or N-methylglycine), a nonessential amino acid, is an endogenous antagonist of glycine transporter-1 (glycine-T1). Glycine-T1 is located in the glial cells and its reuptake pump is the main route of inactivation of synaptic glycine. Therefore, the inhibition of glycine-T1 reuptake can increase glycine levels in the glutamatergic synapses and consequently augment NMDA-R transmission (8). Sarcosine is a natural occurring glycine-T1, which potentiates the action of glycine on the NMDA glycine site and can enhance NMDA neurotransmission (14).

Glycinergic agents and targets of NMDA-R modulation are summarized in Figure 1.

#### NMDA-R augmentation

Recent studies have supported the idea that increasing NMDA-R function may be an effective approach to the treatment of schizophrenia (15). Two recent reviews have been published about the use of glycinergic agents for this purpose (15,16). Tuominen et al. (15) published a systematic review and meta-analysis that comprised eighteen short-term trials using glycine, D-serine or D-cycloserine to increase the antipsychotic action. These investigators also



included ampakine CX516, an experimental drug that acts as an  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) receptor agonist. Glycine and D-serine were successful in reducing the negative symptoms of schizophrenia and the magnitude of the effect was moderate. D-cycloserine had a less efficient action on negative symptoms. On the other hand, positive symptoms failed to respond to glycinergic medication and there were no significant effects of glycine or D-serine on cognitive functioning.

Shim et al. (16), in a review of the results of glycinergic agents in the treatment of schizophrenia, proposed a polypharmacy of glycine site potentiators in addition to antipsychotic medication to stop neurodegeneration in schizophrenia. In addition, they suggested that drugs acting on other sites of the NMDA-R could also be effective in the treatment of the disorder.

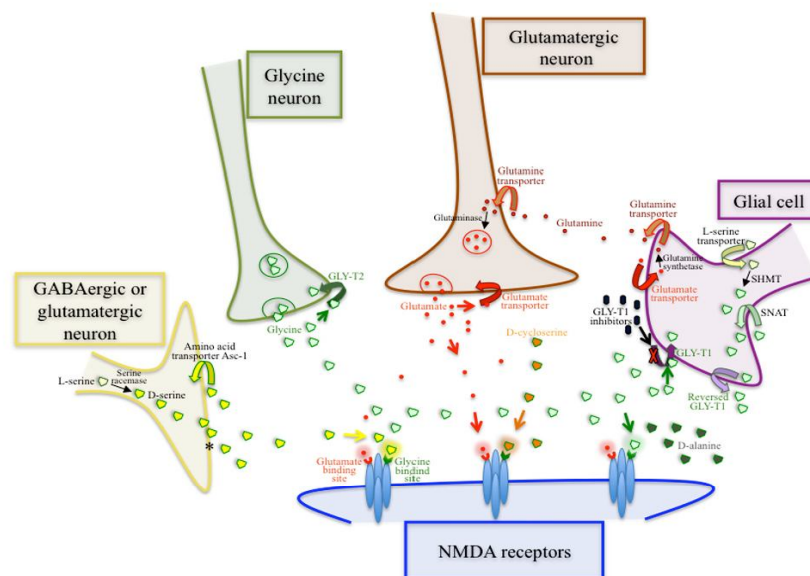
#### Hypothesis of NMDA-R modulation by minocycline

Minocycline is a second-generation tetracycline with a broad spectrum of antimicrobial activities and anti-inflammatory properties. There is growing evidence showing neuroprotective effects of minocycline in several animal and human models of neurological diseases, including Parkin-

son's disease, amyotrophic lateral sclerosis, Huntington's disease, and ischemia (17).

Translational neuroscientific data from animal and human studies indicate that minocycline may be a potential treatment for schizophrenia. In the published literature, the first evidence indicating the antipsychotic efficacy of minocycline was observed in a patient with Huntington's disease, a case report from Canada (18). This clinical observation indicated the potential antipsychotic efficacy of this drug in schizophrenia. Zhang et al. (19) observed that pretreatment of mice with minocycline (40 mg/kg) significantly attenuated the level of dopamine in the striatum after repeated administration of methamphetamine. The same group (20) found that pretreatment with minocycline (40 mg/kg) reduced the increase of extracellular dopamine levels in the frontal cortex and striatum of mice after administration of the NMDA-R antagonist dizolcipine. Moreover, subsequent subchronic administration of minocycline considerably reduced the cognitive deficits induced by the NMDA-R antagonist phenylcyclidine in mice (21) and reversed the cognitive effects of the NMDA-R antagonist MK801 in rats (22).

The neuroprotective action of minocycline can occur indirectly by inhibition of microglial activation and prolif-



**Figure 1.** Glycinergic agents and targets of NMDA receptor modulation. NMDA = N-methyl-D-aspartate; GLY-T1 = type-1 glycine transporter; GLY-T2 = type-2 glycine transporter; SHMT = serine hydroxymethyl transferase; SNAT = specific neutral amino acid transporter. \*The pathway for D-serine release from neurons is unknown. Glycinergic agents (glycine, D-serine, D-alanine or D-cycloserine) are obligatory co-agonists at the strychnine-insensitive glycine binding site of NMDA receptors. Small amounts of glycine are released from glycinergic neurons and are taken back up by a GLY-T2 located in these neurons. However, most of the glycine available in the synaptic cleft is released by glial cells through a reversed GLY-T1. Glycine can be taken up into glial cells by GLY-T1 or through a glial specific neutral amino acid transporter. Glycine can also be converted from L-serine in glial cells through SHMT action. It is noteworthy that glycine reuptake by GLY-T1 in glial cells limits the availability of glycine in the synaptic cleft. L-serine can also be converted to D-serine by serine racemase in GABAergic or glutamatergic neurons. D-serine availability in the synaptic cleft is limited through its reuptake by amino acid transporter Asc-1 located in these neurons.

eration and nitric oxide synthase inhibition (17). There are also influences on caspase expression and cytochrome c release, with an anti-apoptotic property, among others (17). Although the precise mechanism of action of minocycline remains unclear, the latest studies conducted with this agent suggest effects related to the glutamatergic system, in addition to its action as an anti-apoptotic drug. In fact, minocycline reversed several NMDA-R antagonist effects in animal studies and showed good results in the treatment of patients with schizophrenia (23,24). Thus, the hypothesis was raised that minocycline indirectly modulates NMDA-R transmission.

Furthermore, minocycline may exert a differential action on NMDA-R signaling pathways (described in the Discussion section). Consequently, the data about the three studies of minocycline in patients with schizophrenia were included in the present review.

The objective of this review is to identify and analyze clinical trials with NMDA-R transmission modulation and minocycline for the treatment of patients with schizophrenia.

## Methods

The search was carried out in the PubMed, Web of Science, SciELO, and Lilacs databases using the key words schizophrenia, NMDA agonist, glycine, serine, glutamate, clinical trial, and minocycline, up to September 2008. It contemplated only clinical trials with NMDA-R transmission modulation in the treatment of schizophrenia, with no year or language limits. We also inspected the reference lists of the reviewed articles to identify additional trials. We excluded animal or *in vitro* studies, review or meta-analysis articles, and studies on healthy volunteers. The present review covered 36 clinical trials.

## Results

There were 27 randomized placebo-controlled double-blind studies (2,6,7,10-12,14,23,25-42), 8 non-randomized trials (43-51), and 1 case report. Except for two trials (42,49) with drug-free patients, all other studies involved adjuvant therapy for antipsychotic treatment. Clinical assessments were performed biweekly throughout most of the investigations.

The most used inclusion criteria were schizophrenia diagnosis according to the Diagnostic and Statistical Manual (DSM), primary deficit syndrome (using the Schedule for the Deficit Syndrome), minimum score of 30 on the Scale for the Assessment of Negative Symptoms (SANS), and use of a stable antipsychotic dose for more than three months. Exclusion criteria comprised comorbidity with substance abuse, major depression, serious clinical diseases, neurological diseases, and additional use of other psychotropic medications.

A combination of various scales was used for the evalu-

ation of clinical efficacy: Positive and Negative Symptoms Scale (PANSS), Brief Psychiatric Research Scale (BPRS), SANS, Global Assessment Scale (GAS), and Clinical Global Impression (CGI). The PANSS and/or SANS were used in almost all of the studies. Eleven trials (10,12,23,28,31,34,37,38,47,48,50) assessed specific cognitive tests.

To facilitate the presentation of the results, studies were divided into four groups: 1) glycine, 2) D-cycloserine, 3) D-alanine, D-serine and sarcosine, and 4) minocycline.

### Glycine

Twelve articles were selected regarding the addition of glycine to the antipsychotic treatment as usual (Table 1), including 9 placebo-controlled double-blind trials (divided into 4 parallel and 5 crossover studies) (2,7,25-31), and 3 open-label trials (43-45). The duration of the studies ranged from 6 to 28 weeks. The first studies (25,43,44) used low doses, including 10, 15 and 30 g/day. However, the glycine dose needs to be higher to sufficiently cross the blood-brain barrier, and most of the trials subsequently administered higher doses (60 or 0.8 g·kg<sup>-1</sup>·day<sup>-1</sup>).

For heuristic purposes, the results shown in Table 1 are analyzed in three distinct groups according to the type of antipsychotic used.

### Glycine added to conventional antipsychotics

Eight trials evaluated the addition of glycine to typical antipsychotics (25-27,29,31,43-45) and none of them observed any beneficial effect of glycine on positive symptoms. Rosse et al. (43) published a pilot study with 6 patients in which no significant results were obtained regarding the negative symptoms of schizophrenia. However, this study (43) was done with a low dose of glycine (10.8 g/day), which could explain the lack of effectiveness. The seven other investigations showed a beneficial effect on negative symptoms.

In 2007, Buchanan et al. (31) published the Cognitive and Negative Symptoms in Schizophrenia Trial (CONSIST), a randomized double-blind study with a duration of 16 weeks and with the participation of 4 sites in the United States and one site in Israel. A total of 157 patients were recruited and randomized to glycine, D-cycloserine and placebo groups. The study suggested that glycine is not an effective therapeutic option for treating negative symptoms. Nevertheless, *post hoc* analyses revealed that, among subjects receiving conventional antipsychotics, the 8 subjects randomly assigned to glycine had a greater decrease in the SANS total score compared to the 7 subjects randomly assigned to placebo. This trial also showed no significant difference in treatment response between patients with and without deficit syndrome. Nonetheless, tendencies to greater negative symptom reductions for both the glycine and D-cycloserine groups compared with placebo were observed in inpatients, but not in outpatients.

Moreover, the CONSIST (31) was the only study that

Table 1. Glycine adjunct therapy for schizophrenia.

Reference	Design	Groups	Subjects		Mean age ± SD (years)	Duration of illness (years)	Antipsychotic (N)	Daily Glycine dose	Duration (weeks)*	Rating scales	Results of symptoms		
			All (N)	Completers N (MF)							Negative	Positive	Cognitive
<b>Randomized placebo-controlled trials</b>													
Levitt et al., 1994 (25)	double-blind, placebo-controlled, parallel	Glycine placebo	7 7	7 (7/0)	36.0 ± 9.7 38.1 ± 7.2	15.5 ± 3.1 20.0 ± 3.6	typical	30 g	16	PANSS	↑	↔	NA
Heresco-Levy et al., 1996 (26)	double-blind, placebo-controlled, crossover	Glycine + placebo 1st group placebo 2nd group	12 6 6	11 (5/6) 6 (ND) 5 <sup>b</sup>	41.4 ± 12.9 ND	19.3 ± 10.7 ND	typical (7) clozapine (4)	0.8 g/kg	6	BPRS, PANSS	↑	↔	↑ <sup>c</sup>
Heresco-Levy et al., 1999 (27)	double-blind, placebo-controlled, crossover	Glycine + placebo 1st group placebo 2nd group	22 11 11	19 (ND) 9 <sup>b</sup> 10 (10/0)	38.8 ± 11.0 <sup>d</sup> ND	ND	typical (15) clozapine (7)	0.8 g/kg	6	BPRS, PANSS	↑	↑	↑ <sup>c</sup>
Polkin et al., 1999 (2)	double-blind, placebo-controlled, parallel	Glycine placebo	12 12	9 (8/1) 10 (10/0)	35.3 ± 5.3 <sup>d</sup> 34.4 ± 4.8 <sup>d</sup>	ND	clozapine	30 g	12	BPRS, SANS	↔	↓	NA
Evms et al., 2000 (23)	double-blind, placebo-controlled, parallel	Glycine + placebo Glycine placebo	30 15 15	27 (21/6) 14 (ND) 13	39 ± 7 ND	18 ± 7 ND	clozapine	60 g	8	BPRS, PANSS, SANS, Stroop, WAIS, CVLT	↔	↔	↔
Levitt et al., 2001 (29)	double-blind, placebo-controlled, crossover	Glycine + placebo 1st group placebo 2nd group	12 6 6	12 (8/4) 6 (ND) 6	38.6 ± 5.5 ND	20.5 ± 5.2 ND	typical (2) olanzapine (6) clozapine (4)	0.8 g/kg	14	PANSS	↑	↔	↑ <sup>c</sup>
Heresco-Levy et al., 2004 (7)	double-blind, placebo-controlled, crossover	Glycine + placebo 1st group placebo 2nd group	17 7 7	14 (ND) 7 7	44.7 ± 10.8 <sup>d</sup> ND	22.9 ± 7.0 <sup>d</sup> ND	olanzapine (10) risperidone (4)	0.8 g/kg	14	BPRS, PANSS	↑	↑	↑ <sup>c</sup>
Diaz et al., 2005 (30)	double-blind, placebo-controlled, crossover	Glycine + placebo 1st group placebo 2nd group	12 6 6	11 (9/2) 5 <sup>b</sup> (ND)	38.5 ± 12.4 ND	ND	clozapine	60 g	28	BPRS, PANSS	↔	↔	NA
Buchanan et al., 2007 (31)	double-blind, placebo-controlled, parallel	Glycine placebo	54 55	42 (ND) 45	42.6 ± 10.8 <sup>d</sup> 43.4 ± 11.4 <sup>d</sup>	20.2 ± 10.0 <sup>d</sup> 20.2 ± 11.0 <sup>d</sup>	typical (ND) atypical (ND) (no clozapine)	60 g	16	BPRS, SANS, neuropsychological tests	↔	↔	↔
<b>Non-randomized trials</b>													
Rosse et al., 1990 (43)	open-label trial	Glycine	6	6 (6/0)	38.0 ± 15.0	12.6 ± 3.6	typical	10.8 g	8	BPRS, SANS	↔	↔	NA
Costa et al., 1990 (44)	open-label trial	Glycine	6	4 (4/0)	34.8 <sup>d</sup> (ND)	16.3 <sup>d</sup> (ND)	typical	15 g	6	BPRS	↑	NA	NA
Leiderman et al., 1996 (45)	open-label trial	Glycine	5	5 (ND)	45.0 ± 7.8	24.2 ± 5.9	haloperidol (1) risperidone (2) clozapine (2)	0.8 g/kg	8	PANSS, SANS	↑	↔	NA

\*For the crossover trials, the length of the entire study was included. <sup>a</sup>Drop out from placebo group; <sup>b</sup>drop out from glycine group; <sup>c</sup>assessed by PANSS cognitive subscale; <sup>d</sup>including non-completers' data. ↑, improved; ↓, worsened; ↔, no effect; BPRS, Brief Psychiatric Rating Scale; CVLT, California Verbal Learning Test; Gly, glycine; N, number of subjects; NA, not applied; ND, not described; PANSS, Positive and Negative Syndrome Scale; SANS, Scale for the Assessment of Negative Symptoms; WAIS, Wechsler Adult Intelligence Scale.

assessed specific cognitive tests, detecting no significant results compared to placebo. Three other trials (26,27,29) evaluated the cognitive effects of glycine based on clinical ratings (PANSS cognitive subscale) rather than neuropsychological examination, showing a positive result in cognitive functioning. Nevertheless, it is noteworthy that these three investigations (26,27,29) included a relatively small patient sample size and short-term glycine treatment.

#### ***Glycine added to second-generation antipsychotics***

Four trials appraised the addition of glycine to second-generation antipsychotics (7,29,31,45). A 6-week double-blind crossover trial (7) registered a significant reduction of positive symptoms while the other three (29,31,45) did not exhibit a significant change of positive symptoms.

Three studies (7,29,45) provided evidence for a reduction of negative symptoms. However, these clinical trials were conducted on small samples over short periods of time, while the CONSIST (31) found no significant effect compared to placebo.

Once more, the CONSIST (31) was the only study that applied specific cognitive tests, obtaining no significant results compared to placebo. Two other short-term trials (7,29) measured the cognitive effects of glycine based on clinical ratings (PANSS cognitive subscale) rather than on neuropsychological examination, pointing to a positive result in cognitive functioning.

#### ***Glycine added to clozapine***

Seven trials (2,26-30,45) evaluated the addition of glycine to clozapine. Five of them (26,28-30,45) did not find a large change of positive symptoms with the adjuvant use of glycine in combination with clozapine. One study (2) found worsening of positive symptoms. Although one trial (27) reported a reduction of positive symptoms, the authors did not specify whether the results were related to the typical treatment or to the clozapine group.

Although four trials (26,27,29,45) included patients on clozapine with a further decrease of negative symptoms, most of them (26,27,45) did not distinguish between patients taking clozapine and patients taking other antipsychotics. Three other investigations (2,28,30) showed no beneficial effects on negative symptoms.

Cognitive functioning was assessed in only four trials (26-29). In one investigation (28), specific cognitive tests were applied and no effect on cognition was observed. The other three studies used the PANSS cognitive subscale, indicating beneficial results.

#### ***D-cycloserine***

Fourteen articles were selected involving the addition of D-cycloserine to antipsychotic treatment as usual (Table 2), including 9 placebo-controlled double-blind trials (6,12,31-37) and 5 non-randomized trials (46-50). These studies had a variable length of 4 to 24 weeks. Since D-cycloserine is a

partial agonist, four studies (47-50) compared the effectiveness of 5, 15, 50 and 250 mg/day D-cycloserine in an attempt to obtain the optimal dosing. The initial results suggested that the dosage of 50 mg/day yielded the best results, with worsening of symptoms at higher doses (100-250 mg/day) and lack of effect at lower doses (5-30 mg/day).

#### ***D-cycloserine added to conventional antipsychotics***

Ten trials evaluated the addition of D-cycloserine to typical antipsychotics (6,12,31-34,36,37,46,47). Seven of them (6,12,31-34,47) did not find any significant change in positive symptoms and two (with higher dosages, namely 100 and 250 mg/day) reported worsening of positive symptoms (36,46).

Beneficial effects on negative symptoms were obtained in four trials (6,33,34,47), while four other studies (12,31,32,37) did not find a significant change. Two studies (36,46) with doses of 100 and 250 mg/day showed worsening of negative symptoms.

In addition, one trial (47) demonstrated improvement of cognitive functioning at the dose of 50 mg/day, while three other trials (12,34,37) did not find significant changes in cognitive symptoms. The CONSIST (31) was the largest trial evaluating the addition of D-cycloserine to typical antipsychotics and showed no effect on positive, negative or cognitive symptoms.

#### ***D-cycloserine added to second-generation antipsychotics***

Four trials evaluated the effect of D-cycloserine added to second-generation antipsychotics (6,31,33,50) and none of them detected any significant change in positive symptoms. Three studies (6,33,50) demonstrated a decrease of negative symptoms at the dose of 50 mg/day. On the other hand, these trials were conducted on a small numbers of participants and the CONSIST (31) showed no significant effect of the increase of D-cycloserine to 50 mg/day on negative symptoms. Only two trials (31,50) assessed cognitive functioning and showed no significant effects.

#### ***D-cycloserine added to clozapine***

Only three trials evaluated the addition of D-cycloserine to clozapine (33,35,48), showing no significant effects on cognitive or positive symptoms. One trial (33) observed amelioration of negative symptoms, but did not distinguish the type of antipsychotics used and consisted of only 9 participants. The other two investigations showed worsening of negative symptoms when D-cycloserine was added to clozapine.

#### ***D-alanine, D-serine and sarcosine***

Eight articles involving the addition of these drugs to the antipsychotic treatment were selected (Table 3).

#### ***D-alanine***

There is only one trial involving the addition of D-alanine to habitual antipsychotic treatment (Table 3), with the addi-



Table 2. D-cycloserine adjunct therapy for schizophrenia.

Reference	Design	Groups	Subjects		Mean age ± SD (years)	Duration of illness (years)	Antipsychotic (N)	DCS dose (mg/day)	Duration (weeks) <sup>a</sup>	Rating scales	Results of symptoms		
			All (N)	Completers N (M/F)							Negative	Positive	Cognitive
<b>Randomized placebo-controlled trials</b>													
Rosse et al., 1996 (32)	double-blind, placebo-controlled, parallel	DCS + placebo DCS (10 mg) DCS (30 mg) placebo	13 3 6 4	13 (ND)	38.1 ± 5.0 ND	15.6 ± 5.5 ND	rihalidone	10 and 30	4	EPFS, SANS	↔	↔	NA
Heresco-Levy et al., 1988 (33)	double-blind, placebo-controlled, crossover	DCS + placebo 1st group 2nd group	9 5 4	8 (ND) ND ND	39.7 ± 14.7 <sup>a</sup> ND	20.7 ± 12.0 <sup>a</sup> ND	typical (6) <sup>b</sup> risperidone (1) <sup>b</sup> clozapine (3) <sup>b</sup>	50	16	PANSS	↑	↔	NA
Goff et al., 1989 (34)	double-blind, placebo-controlled, parallel	DCS placebo	23 23	16 (ND) 23 (19/4)	46.6 ± 12.3 <sup>a</sup> 41.2 ± 8.1 <sup>a</sup>	22.9 ± 13.3 <sup>a</sup> 18.5 ± 8.6 <sup>a</sup>	typical	50	8	PANSS, SANS, SIRP, Stroop, MST, other neuropsychological tests	↑	↔	↔
Goff et al., 1989 (35)	double-blind, placebo-controlled, crossover	DCS + placebo 1st group 2nd group	17	11 (9/2) ND	36.6 ± 9.6 ND	14.8 ± 9.4 ND	clozapine	50	13	PANSS, SANS	↓	↔	NA
van Bockel et al., 1989 (36)	double-blind, placebo-controlled, parallel	DCS placebo	13 13	12 (10/2) 13 (12/1)	46 ± 6 <sup>a</sup> 44 ± 9 <sup>a</sup>	29 ± 8 <sup>a</sup> 22 ± 10 <sup>a</sup>	typical	100	8	PANSS	↓	↓	NA
Heresco-Levy et al., 2002 (6)	double-blind, placebo-controlled, crossover	DCS + placebo 1st group 2nd group	24 12 8	16 (8/10) 8 (ND) 8	40.0 ± 12.1 ND	26.7 ± 11.2 ND	typical (8) risperidone (2) clozapine (6)	50	6	PANSS	↑	↔	NA
Goff et al., 2005 (12)	double-blind, placebo-controlled, parallel	DCS placebo	27 28	14 (ND) 12	45.9 ± 7.4 <sup>a</sup> 47.0 ± 6.6 <sup>a</sup>	22.9 ± 5.9 <sup>a</sup> 22.4 ± 6.1 <sup>a</sup>	typical	50	24	PANSS, SANS, ANART, CVLT, Stroop, WAIS, WCST	↔	↔	↔
Duncan et al., 2004 (37)	double-blind, placebo-controlled, parallel	DCS placebo	10 12	10 (10/0) 12 (12/0)	48.7 ± 12.1 54.4 ± 11.8	ND ND	typical	50	4	ATSEB, BPRS, SANS, CPT, MMSE, SSTMSP	↔	↔	↔
Buchanan et al., 2007 (31)	double-blind, placebo-controlled, parallel	DCS placebo	53 52	46 (ND) 45	44.4 ± 10.4 <sup>a</sup> 48.4 ± 11.4 <sup>a</sup>	21.9 ± 11.1 <sup>a</sup> 20.2 ± 11.0 <sup>a</sup>	typical (ND) atypical (no clozapine)	50	16	BPRS, SANS, neuropsychological tests	↔	↔	↔
<b>Non-randomized trials</b>													
Cassella et al., 1994 (48)	open-label	DCS	7	2 (ND)	33.3 ± 6.4 <sup>a</sup>	14.6 ± 5.2 <sup>a</sup>	typical	250	6	BPRS, SANS	↓	↓	NA
Goff et al., 1995 (47)	single-blind, ratèr-blind, dose-finding	DCS	10	6 (6/1)	43 ± 12	21 ± 6	typical	5-250	10	EPFS, SANS, SIRP	↑ (50 mg)	↔	↑ (50 mg)
Goff et al., 1989 (46)	single-blind, ratèr-blind, dose-finding	DCS	10	6 (6/0)	48.0 ± 6.1	ND	clozapine	5-250	10	EPFS, SANS, SIRP	↓	ND	↔
van Bockel et al., 1986 (49)	single-blind, dose-finding	DCS	13	7 (ND)	30.0 ± 8.0 <sup>a</sup>	10.3 ± 6.2 <sup>a</sup>	none	15-250	3-5	PANSS	↑ (100 mg)	↔	NA
Evins et al., 2002 (50)	single-blind, dose-finding	DCS	10	10 (8/1)	47 ± 11	19 ± 11	risperidone	5-250	10	BPRS, SANS, cognitive tests	↑ (50 mg)	NA	↔

<sup>a</sup>For the crossover trials, the length of the entire study was included. <sup>b</sup>Including non-completers' data. ↑, improved; ↓, worsened; ↔, no effect; ANART, Adult North American Reading Test; ATSEB, Abrams and Taylor Scale for Emotional Blunting; BPRS, Brief Psychiatric Rating Scale; CPT, Continuous Performance Test; CVLT, California Verbal Learning Test; DCS, D-cycloserine; MMSE, Mini-Mental State Exam; MST, Miller-Setfridge Test; N, number of subjects; NA, not applied; ND, not described; PANSS, Positive and Negative Syndrome Scale; SANS, Scale for the Assessment of Negative Symptoms; SIRP, Sternberg's Item Recognition Paradigm; SSTMSP, Sternberg Short Term Memory Scanning Paradigm; WAIS, Wechsler Adult Intelligence Scale; WCST, Wisconsin Card Sort Test.

Table 3. D-alanine, D-serine and sarcosine adjunct therapy for schizophrenia.

Reference	Design	Drug	Daily drug dose	Groups	Subjects		Mean age $\pm$ SD (years)	Duration of illness (years)	Antipsychotic (N)	Duration (weeks)*	Rating scales	Results of symptoms		
					All (N)	Completers N (MF)						Negative	Positive	Cognitive
Tsai et al., 2006 (11)	double-blind, placebo-controlled, parallel	D-alanine	100 mg/kg	D-alanine placebo	14 18	14 (4/10) 17 (ND)	30.9 $\pm$ 6.5 31.8 $\pm$ 7.4 <sup>a</sup>	9.5 $\pm$ 6.1 8.8 $\pm$ 6.0 <sup>a</sup>	typical (21) risperidone (10)	6	PANSS, SANS	↑	↑	↑ <sup>b</sup>
Tsai et al., 1998 (10)	double-blind, placebo-controlled, parallel	DSR	30 mg/kg	DSR placebo	14 17	14 (6/8) 14 (ND)	33.9 $\pm$ 6.6 31.7 $\pm$ 7.5 <sup>a</sup>	10.7 $\pm$ 6.7 10.5 $\pm$ 6.0 <sup>a</sup>	typical (24) risperidone (4) none (1)	6	PANSS, SANS, WCST	↑	↑	↑
Tsai et al., 1998 (38)	double-blind, placebo-controlled, parallel	DSR	30 mg/kg	DSR placebo	10 10	10 (8/4) 10 (9/5)	42.6 $\pm$ 3.6 39.5 $\pm$ 5.5	20.6 $\pm$ 6.1 19.9 $\pm$ 5.7	clozapine	6	PANSS, SANS, WCST	↔	↔	↔
Heresco-Levy et al., 2005 (39)	double-blind, placebo-controlled, crossover	DSR	30 mg/kg	DSR + placebo 1st group 2nd group	39 ND	37 (ND) ND	44.9 $\pm$ 12.5 <sup>a</sup> ND	ND	risperidone (21) <sup>a</sup> clanzapine (18) <sup>a</sup>	15	BFRS, PANSS, SANS	↑	↑	↑ <sup>b</sup>
Tsai et al., 2004 (14)	double-blind, placebo-controlled, parallel	sarcosine	2 mg	sarcosine placebo	17 21	16 (ND) 20	29.8 $\pm$ 7.2 <sup>a</sup> 33.4 $\pm$ 8.3 <sup>a</sup>	10.5 $\pm$ 5.6 <sup>a</sup> 8.9 $\pm$ 5.6 <sup>a</sup>	typical (6) <sup>a</sup> risperidone (20) <sup>a</sup>	6	BFRS, PANSS, SANS	↑	↑	↑ <sup>b</sup>
Lane et al., 2005 (40)	double-blind, placebo-controlled, parallel	sarcosine DSR	2 g	sarcosine DSR placebo	21 21 23	18 (ND) 19 20	36.1 $\pm$ 10.2 <sup>a</sup> 31.8 $\pm$ 10.4 <sup>a</sup> 34.1 $\pm$ 8.7 <sup>a</sup>	ND	risperidone	6	PANSS, SANS	↑ (sarcosine) ↔ (DSR)	↑ (sarcosine) ↔ (DSR)	↑ (sarcosine) <sup>b</sup> ↔ (DSR) <sup>b</sup>
Lane et al., 2006 (41)	double-blind, placebo-controlled, parallel	sarcosine	2 g	sarcosine placebo	10 10	10 (7/3) 10 (7/3)	36.7 $\pm$ 10.1 35.5 $\pm$ 6.6	ND	clozapine	6	PANSS	↔	↔	↔
Lane et al., 2008 (42)	double-blind, placebo-controlled, parallel	sarcosine	1 and 2 g	1 g group 2 g group	9 11	6 (ND) 10	31.3 $\pm$ 10.4 <sup>a</sup> 34.3 $\pm$ 11.2 <sup>a</sup>	6.4 $\pm$ 8.4 <sup>a</sup> 8.5 $\pm$ 6.4 <sup>a</sup>	none	6	PANSS, SANS	↔	↔	NA

\*For the crossover trials, the length of the entire study was included. <sup>a</sup>Including non-completers' data; <sup>b</sup>assessed by PANSS cognitive subscale. ↑, improved; ↔, no effect; BFRS, Brief Psychiatric Rating Scale; DSR, D-serine; NA, not applied; ND, not described; PANSS, Positive and Negative Syndrome Scale; SANS, Scale for the Assessment of Negative Symptoms; WCST, Wisconsin Card Sort Test.

tion of D-alanine ( $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$ ) to typical antipsychotics and to risperidone (11). This study showed effectiveness of D-alanine adjuvant treatment to both typical antipsychotics and risperidone on the positive, negative and cognitive domains of schizophrenia. Cognitive functioning was assessed by the cognitive subscale of PANSS, with no specific cognitive tests. Furthermore, this trial had a small sample size, with larger trials being needed to confirm these initial results.

#### **D-serine**

There were four trials with the addition of D-serine to the usual antipsychotic treatment (10,38-40). One trial (10) evaluated the addition of D-serine to typical antipsychotics, with amelioration of positive, negative and cognitive symptoms. Three trials (10,39,40) evaluated the addition of D-serine to second-generation antipsychotics, and two of them (10,39) demonstrated good outcomes regarding positive, negative and cognitive symptoms. However, one study (40) did not find beneficial results in any of the three domains. One trial with addition of D-serine to clozapine (38) showed no significant effect on the three core symptoms of schizophrenia.

#### **Sarcosine**

The first trial (14) evaluated the addition of 2 g sarcosine to typical antipsychotics and to risperidone, revealing an improvement of the positive, negative and cognitive symptoms of schizophrenia. The second trial (40) evaluated the addition of sarcosine to risperidone in patients with acute exacerbation of schizophrenia, observing an overall reduction of symptoms.

These results encouraged research on sarcosine as add-on therapy to clozapine (41), which led to no significant change in schizophrenia symptoms. Moreover, Lane et al. (42) evaluated the effect of sarcosine monotherapy on 12 acutely symptomatic drug-free patients with schizophrenia, who were randomly assigned to take 1 or 2 g sarcosine. Overall, there was no significant effect of sarcosine dose. However, the 5 responders were drug-naïve patients.

#### **Minocycline**

To the best of our knowledge, the antipsychotic efficacy of minocycline was first observed in a patient with Huntington's disease (18). There is one case report (24) with addition of minocycline to the antipsychotic treatment as usual, using a dose of 150 mg/day in two cases of acute catatonic schizophrenia. Only the PANSS was used weekly for the evaluation of clinical efficacy, showing a marked reduction of positive, negative and cognitive symptoms. There were no considerable side effects, which were clinically evaluated, without using scales. The authors reported a considerable decrease of psychiatric symptoms, followed by a worsening of

symptoms after discontinuation of minocycline. However, improvement was observed again after the reintroduction of minocycline. Both patients remained on minocycline co-treatment and were practically symptom-free after one year of follow-up, even though the dose of haloperidol was reduced.

Levkovitz et al. (23) examined the efficacy of minocycline as add-on treatment in a double-blind, randomized placebo-controlled study conducted on patients with early schizophrenia, who were treated with minocycline (N = 36) or placebo (N = 18). The patients were followed-up for 6 months with clinical evaluations by SANS and CGI. The cognitive assessment consisted of a computerized battery. This trial demonstrated improvement of negative symptoms and executive functioning. It is noteworthy that positive symptoms were not rated.

Miyaoka et al. (51) published an open-label study of minocycline as adjunctive therapy for schizophrenia. The researchers evaluated the addition of minocycline (150 mg/day) to second-generation antipsychotics in 22 patients with schizophrenia for a period of 4 weeks. The clinical ratings were performed using the PANSS, and the positive and negative symptom subscales were reduced to 40.4 and 44.0%, respectively, after 4 weeks of minocycline co-treatment. The PANSS general psychopathology subscale was reduced to 52.1%. All the improvements on the PANSS subscales were maintained when scored at the 4-week follow-up time.

## **Discussion**

### **Possible limitations of glycinergic agents**

#### **NMDA agonists**

Initial results with glycine and D-cycloserine in addition to typical and second-generation antipsychotics have demonstrated a decrease in negative and cognitive symptoms. However, the CONSIST (31) results suggested that neither glycine nor D-cycloserine was effective for the treatment of negative symptoms or cognitive impairment. Nevertheless, this trial had a low percentage of subjects treated with typical antipsychotics.

Additionally, the CONSIST (31) data showed no correlation between plasma glycine concentration and negative symptom response, despite previous findings that plasma glycine levels predicted the reduction of negative symptoms. Thus, the correlation of plasma glycine levels and negative symptom response requires further studies.

Overall, the CONSIST (31) results contested the previous hypotheses of amelioration of negative symptoms and cognitive impairment by glycine and D-cycloserine, particularly when added to second-generation antipsychotics.

There is only one trial (11) with the addition of D-alanine to treatment with typical antipsychotics and

risperidone. This research showed effectiveness on the positive, negative and cognitive domains of schizophrenia.

The trials of D-serine added to both typical and second-generation antipsychotics (10,39) indicated a broad symptomatic response in the treatment of chronic schizophrenia, but not for acute exacerbation (40).

#### ***Glycine transporter-1 inhibitors***

The presence of endogenous mechanisms that regulate the impact of amino acids administered exogenously (8), in addition to the need for high oral doses and relative lack of penetration into the CNS (52), is a possible limitation of glycinergic agents. Moreover, glycine transporters regulate glycine levels in the synaptic cleft. This may limit the impact of dietary glycine in the same way that the serotonin precursor L-tryptophan is less efficient in increasing serotonergic transmission in comparison to the selective serotonin reuptake inhibitors. As a result, glycine-T1 antagonists may be more effective in increasing synaptic glycine and effectively potentiating NMDA-R transmission (52). Several glycine-T1 inhibitors are in clinical and preclinical testing, and inhibitors with greater potency are expected to be even more effective (8). In view of the early stage of development of these compounds, clinical findings are still limited to sarcosine.

Adjunctive therapy with sarcosine has provided evidence of broad amelioration of schizophrenia symptoms, but with no significant results in monotherapy (42). As a result, sarcosine has a good potential as adjunctive therapy in addition to typical antipsychotics and risperidone.

#### ***Clozapine and NMDA-R***

The trials that attempted to enhance the effect of clozapine have not been effective or have worsened the psychotic frame, suggesting that glycinergic drugs interfere with the mechanism of action of clozapine. These results also indicate that clozapine has a particular efficacy related in part to the potentiation of neurotransmission mediated by NMDA receptors. In fact, clozapine has been effective against the neurotoxicity of NMDA antagonists in animal models (53). Additionally, a partial agonist of muscarinic M1 receptors and an agonist of dopamine D1 receptors have been shown to enhance NMDA-R function (53). Hence, clozapine is a potent partial agonist of M1 receptors and a partial agonist of D1 receptors, which may increase NMDA-R transmission, explaining the unique efficacy of this agent (53).

#### ***Minocycline***

The trials with minocycline add-on treatment to both typical and second-generation antipsychotics have shown a broad symptomatic response in schizophrenic patients. These results warrant further investigation of minocycline

add-on treatment for patients with schizophrenia.

#### ***Mechanisms of action of minocycline***

The exact mechanism of action of minocycline remains elusive. In addition to inhibiting microglial activation, decreasing nitric oxide synthase and having anti-apoptotic properties, minocycline has been recently suggested to be a positive modulator of the GluR1 subunit receptors of AMPA. Although it has been previously suggested that AMPA antagonists may offer neuroprotection, Black (54) stated that some positive AMPA modulators increase brain-derived neurotrophic factor production, which in turn has been reported to have neuroprotective effects. Furthermore, AMPA receptors are distinguished on the basis of subunit composition (Glu R1-4) and isoform conformation. The subunit composition of the AMPA receptor shows striking discrepancy across the brain (54) and has different properties depending on AMPA subunit or splice variant complement. Consequently, the clinical effect of an AMPA modulator may vary according to the action of different subunits.

#### ***NMDA-R signaling dichotomy***

Papadia and Hardingham (55) discussed pro-survival and pro-death signaling from the NMDA-R, arguing that both excessive and poor NMDA-R activities are deleterious and cause apoptosis in neurons. For this reason, NMDA-R activity shows a bell-shaped curve of neuronal response.

Thus, the phosphoinositide-3-kinase/Akt kinase cascade is an essential pathway for the pro-survival effects of NMDA-R stimulation (55). NMDA-R activity also robustly induces cAMP-response-element-binding protein-dependent gene expression, which promotes neuronal survival (55).

On the other hand, NMDA-R activity triggers several downstream pathways of cell death by  $Ca^{2+}$  influx. One of these mechanisms is p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) activation, which can be inversely stimulated depending on NMDA-R subtype, subunit composition and localization (56).

Therefore, the magnitude of NMDA-R activation, differential synaptic versus extrasynaptic NMDA-R effects and specific subtypes of NMDA receptors can provide the key mediators of neuroprotection instead of neurodegeneration (55).

#### ***Minocycline and NMDA-R***

It is important to point out that minocycline, in addition to having the ability to reverse the neurotoxic effects of NMDA antagonists, also prevented NMDA-induced injury (57).

Actually, minocycline does not have a direct action on NMDA-R and does not regulate intracellular  $Ca^{2+}$  influx (58). However, minocycline seems to exert a differential control of NMDA-R signaling by preserving pro-survival pathways and reducing upstream mechanisms of apoptosis. Accordingly, minocycline inhibits p38 MAPK and maintains the activation of phosphoinositide-3-kinase/Akt, which are

prominently associated with NMDA-R neurochemistry and physiology (59).

These mechanisms may underlie the action of minocycline on caspase and cytochrome c, since they are later events in cell death. Minocycline is an anti-microglial agent and may reduce the hypothetical inflammatory component of schizophrenia. Besides, minocycline inhibits the activation of all MAPKs. It is important to emphasize that these enzymes are essential for microglia activation.

Thus, the aforementioned effects of minocycline may play an important role in the broad effect of this drug in schizophrenia as well as in a wide range of neurological disorders.

#### Future trends and psychopharmacological targets

The modulation of NMDA-R transmission is a promising

therapeutic approach to the treatment of schizophrenia. However, the majority of trials had small sample sizes (less than 20 patients) and short durations. Future studies with larger numbers of subjects and longer follow-ups are needed to corroborate the initial findings.

Moreover, evaluations of potent glycine-T1 inhibitors along with other potential mechanisms for the modulation of NMDA-R neurotransmission are promising approaches to the treatment of schizophrenia. In addition, metabotropic glutamate (mGlu) receptors may be another pharmacological target for the enhancement of NMDA-R transmission. Accordingly, positive modulators of mGlu5 receptors enhance NMDA-R transmission and agonists of mGlu2/3 receptors regulate the release of glutamate (60). Another possibility lies in the combination of drugs with different mechanisms of NMDA-R potentiation.

#### References

- Andreasen NC. Schizophrenia: the fundamental questions. *Brain Res Brain Res Rev* 2000; 31: 106-112.
- Potkin SG, Jin Y, Bunney BG, Costa J, Gulasekaram B. Effect of clozapine and adjunctive high-dose glycine in treatment-resistant schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1999; 156: 145-147.
- Hashimoto K, Engberg G, Shimizu E, Nordin C, Lindstrom LH, Iyo M. Reduced D-serine to total serine ratio in the cerebrospinal fluid of drug naive schizophrenic patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29: 767-769.
- Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, et al. Subanesthetic effects of the non-competitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry* 1994; 51: 199-214.
- Hashimoto K, Fukushima T, Shimizu E, Komatsu N, Watanabe H, Shinoda N, et al. Decreased serum levels of D-serine in patients with schizophrenia: evidence in support of the N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2003; 60: 572-576.
- Heresco-Levy U, Ermilov M, Shimoni J, Shapira B, Silipo G, Javitt DC. Placebo-controlled trial of D-cycloserine added to conventional neuroleptics, olanzapine, or risperidone in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2002; 159: 480-482.
- Heresco-Levy U, Ermilov M, Lichtenberg P, Bar G, Javitt DC. High-dose glycine added to olanzapine and risperidone for the treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2004; 55: 165-171.
- Stahl SM. Novel therapeutics for schizophrenia: targeting glycine modulation of NMDA glutamate receptors. *CNS Spectr* 2007; 12: 423-427.
- Miya K, Inoue R, Takata Y, Abe M, Natsume R, Sakimura K, et al. Serine racemase is predominantly localized in neurons in mouse brain. *J Comp Neurol* 2008; 510: 641-654.
- Tsai G, Yang P, Chung LC, Lange N, Coyle JT. D-serine added to antipsychotics for the treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 1998; 44: 1081-1089.
- Tsai GE, Yang P, Chang YC, Chong MY. D-alanine added to antipsychotics for the treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2006; 59: 230-234.
- Goff DC, Herz L, Posever T, Shih V, Tsai G, Henderson DC, et al. A six-month, placebo-controlled trial of D-cycloserine co-administered with conventional antipsychotics in schizophrenia patients. *Psychopharmacology* 2005; 179: 144-150.
- Watson GB, Bolanowski MA, Baganoff MP, Deppeler CL, Lanthorn TH. D-cycloserine acts as a partial agonist at the glycine modulatory site of the NMDA receptor expressed in *Xenopus oocytes*. *Brain Res* 1990; 510: 158-160.
- Tsai G, Lane HY, Yang P, Chong MY, Lange N. Glycine transporter 1 inhibitor, N-methylglycine (sarcosine), added to antipsychotics for the treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2004; 55: 452-456.
- Tuominen HJ, Tiihonen J, Wahlbeck K. Glutamatergic drugs for schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Schizophr Res* 2005; 72: 225-234.
- Shim SS, Hammonds MD, Kee BS. Potentiation of the NMDA receptor in the treatment of schizophrenia: focused on the glycine site. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2008; 258: 16-27.
- Domercq M, Matute C. Neuroprotection by tetracyclines. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25: 609-612.
- Denovan-Wright EM, Devarajan S, Dursun SM, Robertson HA. Maintained improvement with minocycline of a patient with advanced Huntington's disease. *J Psychopharmacol* 2002; 16: 393-394.
- Zhang L, Shirayama Y, Shimizu E, Iyo M, Hashimoto K. Protective effects of minocycline on 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced neurotoxicity in serotonergic and dopaminergic neurons of mouse brain. *Eur J Pharmacol* 2006; 544: 1-9.
- Zhang L, Shirayama Y, Iyo M, Hashimoto K. Minocycline attenuates hyperlocomotion and prepulse inhibition deficits in mice after administration of the NMDA receptor antagonist dizocilpine. *Neuropsychopharmacology* 2007; 32: 2004-2010.
- Fujita Y, Ishima T, Kunitachi S, Hagiwara H, Zhang L, Iyo M, et al. Phencyclidine-induced cognitive deficits in mice are

- improved by subsequent subchronic administration of the antibiotic drug minocycline. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32: 336-339.
22. Levkovitz Y, Levi U, Braw Y, Cohen H. Minocycline, a second-generation tetracycline, as a neuroprotective agent in an animal model of schizophrenia. *Brain Res* 2007; 1154: 154-162.
  23. Levkovitz Y, Mendlovic S, Issak Si, Braw Y, Levkovitch-Verbin H, Gal G, et al. Minocycline ameliorates negative symptoms and cognitive deficits in early-phase schizophrenia: a double-blind, randomized placebo-controlled study. *Schizophr Res* 2008; 14 (Abstract).
  24. Miyaoka T, Yasukawa R, Yasuda H, Hayashida M, Inagaki T, Horiguchi J. Possible antipsychotic effects of minocycline in patients with schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007; 31: 304-307.
  25. Javitt DC, Zylberman I, Zukin SR, Heresco-Levy U, Lindenmayer JP. Amelioration of negative symptoms in schizophrenia by glycine. *Am J Psychiatry* 1994; 151: 1234-1236.
  26. Heresco-Levy U, Javitt DC, Ermilov M, Mordel C, Horowitz A, Kelly D. Double-blind, placebo-controlled, crossover trial of glycine adjuvant therapy for treatment-resistant schizophrenia. *Br J Psychiatry* 1996; 169: 610-617.
  27. Heresco-Levy U, Javitt DC, Ermilov M, Mordel C, Silipo G, Lichtenstein M. Efficacy of high-dose glycine in the treatment of enduring negative symptoms of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1999; 56: 29-36.
  28. Evins AE, Fitzgerald SM, Wine L, Rosselli R, Goff DC. Placebo-controlled trial of glycine added to clozapine in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2000; 157: 826-828.
  29. Javitt DC, Silipo G, Cienfuegos A, Shelley AM, Bark N, Park M, et al. Adjunctive high-dose glycine in the treatment of schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* 2001; 4: 385-391.
  30. Diaz P, Bhaskara S, Dursun SM, Deakin B. Double-blind, placebo-controlled, crossover trial of clozapine plus glycine in refractory schizophrenia negative results. *J Clin Psychopharmacol* 2005; 25: 277-278.
  31. Buchanan RW, Javitt DC, Marder SR, Schooler NR, Gold JM, McMahon RP, et al. The Cognitive and Negative Symptoms in Schizophrenia Trial (CONSIST): the efficacy of glutamatergic agents for negative symptoms and cognitive impairments. *Am J Psychiatry* 2007; 164: 1593-1602.
  32. Rosse RB, Fay-McCarthy M, Kendrick K, Davis RE, Deutsch SI. D-cycloserine adjuvant therapy to molindone in the treatment of schizophrenia. *Clin Neuropharmacol* 1996; 19: 444-450.
  33. Heresco-Levy U, Javitt DC, Ermilov M, Silipo G, Shimoni J. Double-blind, placebo-controlled, crossover trial of D-cycloserine adjuvant therapy for treatment-resistant schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* 1998; 1: 131-135.
  34. Goff DC, Tsai G, Levitt J, Amico E, Manoach D, Schoenfeld DA, et al. A placebo-controlled trial of D-cycloserine added to conventional neuroleptics in patients with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1999; 56: 21-27.
  35. Goff DC, Henderson DC, Evins AE, Amico E. A placebo-controlled crossover trial of D-cycloserine added to clozapine in patients with schizophrenia. *Biol Psychiatry* 1999; 45: 512-514.
  36. van Berckel BN, Evenblij CN, van Loon BJ, Maas MF, van der Geld MA, Wynne HJ, et al. D-cycloserine increases positive symptoms in chronic schizophrenic patients when administered in addition to antipsychotics: a double-blind, parallel, placebo-controlled study. *Neuropsychopharmacology* 1999; 21: 203-210.
  37. Duncan EJ, Szilagyi S, Schwartz MP, Bugarski-Kirola D, Kunzova A, Negi S, et al. Effects of D-cycloserine on negative symptoms in schizophrenia. *Schizophr Res* 2004; 71: 239-248.
  38. Tsai GE, Yang P, Chung LC, Tsai IC, Tsai CW, Coyle JT. D-serine added to clozapine for the treatment of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1999; 156: 1822-1825.
  39. Heresco-Levy U, Javitt DC, Ebstein R, Vass A, Lichtenberg P, Bar G, et al. D-serine efficacy as add-on pharmacotherapy to risperidone and olanzapine for treatment-refractory schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2005; 57: 577-585.
  40. Lane HY, Chang YC, Liu YC, Chiu CC, Tsai GE. Sarcosine or D-serine add-on treatment for acute exacerbation of schizophrenia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arch Gen Psychiatry* 2005; 62: 1196-1204.
  41. Lane HY, Huang CL, Wu PL, Liu YC, Chang YC, Lin PY, et al. Glycine transporter I inhibitor, N-methylglycine (sarcosine), added to clozapine for the treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2006; 60: 645-649.
  42. Lane HY, Liu YC, Huang CL, Chang YC, Liau CH, Perng CH, et al. Sarcosine (N-methylglycine) treatment for acute schizophrenia: a randomized, double-blind study. *Biol Psychiatry* 2008; 63: 9-12.
  43. Rosse RB, Theut SK, Banay-Schwartz M, Leighton M, Scarcella E, Cohen CG, et al. Glycine adjuvant therapy to conventional neuroleptic treatment in schizophrenia: an open-label, pilot study. *Clin Neuropharmacol* 1989; 12: 416-424.
  44. Costa J, Khaled E, Sramek J, Bunney W Jr, Potkin SG. An open trial of glycine as an adjunct to neuroleptics in chronic treatment-refractory schizophrenics. *J Clin Psychopharmacol* 1990; 10: 71-72.
  45. Leiderman E, Zylberman I, Zukin SR, Cooper TB, Javitt DC. Preliminary investigation of high-dose oral glycine on serum levels and negative symptoms in schizophrenia: an open-label trial. *Biol Psychiatry* 1996; 39: 213-215.
  46. Cascella NG, Macciardi F, Cavallini C, Smeraldi E. D-cycloserine adjuvant therapy to conventional neuroleptic treatment in schizophrenia: an open-label study. *J Neural Transm Gen Sect* 1994; 95: 105-111.
  47. Goff DC, Tsai G, Manoach DS, Coyle JT. Dose-finding trial of D-cycloserine added to neuroleptics for negative symptoms in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1995; 152: 1213-1215.
  48. Goff DC, Tsai G, Manoach DS, Flood J, Darby DG, Coyle JT. D-cycloserine added to clozapine for patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1996; 153: 1628-1630.
  49. van Berckel BN, Hijman R, van der Linden JA, Westenberg HG, van Ree JM, Kahn RS. Efficacy and tolerance of D-cycloserine in drug-free schizophrenic patients. *Biol Psychiatry* 1996; 40: 1298-1300.
  50. Evins AE, Amico E, Posever TA, Toker R, Goff DC. D-cycloserine added to risperidone in patients with primary negative symptoms of schizophrenia. *Schizophr Res* 2002; 56: 19-23.
  51. Miyaoka T, Yasukawa R, Yasuda H, Hayashida M, Inagaki T, Horiguchi J. Minocycline as adjunctive therapy for schizophrenia: an open-label study. *Clin Neuropharmacol* 2008; 31: 287-292.
  52. Javitt DC. Glycine transport inhibitors and the treatment of

- schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2008; 63: 6-8.
53. Stone JM, Morrison PD, Pilowsky LS. Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia - a synthesis and selective review. *J Psychopharmacol* 2007; 21: 440-452.
  54. Black MD. Therapeutic potential of positive AMPA modulators and their relationship to AMPA receptor subunits. A review of preclinical data. *Psychopharmacology* 2005; 179: 154-163.
  55. Papadia S, Hardingham GE. The dichotomy of NMDA receptor signaling. *Neuroscientist* 2007; 13: 572-579.
  56. Waxman EA, Lynch DR. N-methyl-D-aspartate receptor subtype mediated bidirectional control of p38 mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem* 2005; 280: 29322-29333.
  57. Song Y, Wei EQ, Zhang WP, Ge QF, Liu JR, Wang ML, et al. Minocycline protects PC12 cells against NMDA-induced injury via inhibiting 5-lipoxygenase activation. *Brain Res* 2006; 1085: 57-67.
  58. Pi R, Li W, Lee NT, Chan HH, Pu Y, Chan LN, et al. Minocycline prevents glutamate-induced apoptosis of cerebellar granule neurons by differential regulation of p38 and Akt pathways. *J Neurochem* 2004; 91: 1219-1230.
  59. Haddad JJ. N-methyl-D-aspartate (NMDA) and the regulation of mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathways: a revolving neurochemical axis for therapeutic intervention? *Prog Neurobiol* 2005; 77: 252-282.
  60. Moghaddam B. Bringing order to the glutamate chaos in schizophrenia. *Neuron* 2003; 40: 881-884.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)



[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)