UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: PSIQUIATRIA

TESE DE DOUTORADO

ESTRESSE OXIDATIVO E COGNIÇÃO COMO ENDOFENÓTIPOS DE ESQUIZOFRENIA

Raffael Massuda

Orientadora: Prof. Dra. Clarissa S. Gama

PORTO ALEGRE, JUNHO DE 2013.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: PSIQUIATRIA

TESE DE DOUTORADO

ESTRESSE OXIDATIVO E COGNIÇÃO COMO ENDOFENÓTIPOS DE ESQUIZOFRENIA.

Raffael Massuda

Orientadora:

Prof. Dra. Clarissa S. Gama

Tese apresentada no programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Psiquiatra, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do titulo de Doutor.

Porto Alegre, Brasil.

2013

CIP - Catalogação na Publicação

Massuda, Raffael
Estresse Oxidativo e Cognição como Endofenótipos de Esquizofrenia / Raffael Massuda. -- 2013.
97 f.

Orientadora: Clarissa S. Gama.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, Porto Alegre, BR-RS, 2013.

1. Esquizofrenia. 2. Endofenótipos. 3. Estresse Oxidativo. 4. Cognição. I. Gama, Clarissa S., orient. II. Título.

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

Watched my brother cutting grass outside
Sitting on the porch he told me
"It's a long way to go before we can rest
But it's all for the best"

Thom Yorke – All for the Best

tudo claro
ainda não era o dia
era apenas o raio

Paulo Leminski

Para Cristiane.

AGRADECIMENTOS

À professora Clarissa Gama pela orientação, estímulo, amizade e por mostrar como a ciência e a medicina são indissociáveis.

À professora Maria Inês Lobato e Paulo Belmonte de Abreu pela amizade e encorajamento nesses anos.

Ao professor Flávio Kapczinski pelo incentivo e inspiração.

À professora Anissa Abi-Dargham pela inspiração como professora e cientista.

Aos meus amigos Miréia e Pedro pela parceria e amizade.

Aos amigos e participantes do projeto, Ramiro, Monise, Pâmela, Carolina e Bruna pela colaboração e dedicação.

Às psicólogas Joana Bücker, Leticia Czepielewski e Joana Narvaez pela parceria e apoio.

Aos meus amigos Mariana, Rawad, Xiaoyan, Najate, Rassil e Elsmarieke pela amizade, apoio e generosidade.

Aos meus colegas de residência Adriana, Alexandre, Camila, Cristiane, Daniel, Eduardo, Julia, Kariny, Leticia, Mariana e Thiele, pelo acolhimento, amizade e companheirismo nesses anos e por terem feito de Porto Alegre a minha casa.

Aos meus amigos Christian, Giovanni, Picon, David, Edgar e Ary que trazem sempre novas e interessantes luzes para a psiquiatria e para ciência.

A toda equipe da bancada do Laboratório de Psiquiatria Molecular que desde os primeiros projetos tem sido grandes amigos e parceiros.

Ao Serviço de Psiquiatria pelo apoio durante esses anos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Cientifico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

Aos meus amigos Rafael e Bruno.

Minha família gaúcha, Joao Mauricio e Maria Cristina.

À minha cunhada Helena e meu sobrinho Antonio.

Aos meus desbravadores avós, Carmem, Adiles, Ivo e Alberto.

Aos meus irmãos e grandes amigos Adriano e Lutti.

Ao meus pais, Cadri e Wilma, pelo amor, carinho, ensinamentos e perseverança.

À Cristiane, meu amor, sempre companheira.

SUMÁRIO

Abreviaturas e siglas 8

Resumo 9

Abstract 11

Prefácio 12

1. Introdução

1.1 Histórico 14

1.2 Diagnóstico 16

1.3 Epidemiologia e fatores de risco para esquizofrenia 16

1.4 Hipóteses etiológicas 20

1.5 Genética 21

1.6 Endofenótipo na esquizofrenia 24

1.7 Estresse oxidativo 31

1.6 Neuropsicologia da esquizofrenia 35

2. Objetivos 38

3. Métodos 39

4. Referências 43

5. Resultados

5.1 Artigo 1 56

5.2 Artigo 2 62

7. Considerações finais e conclusões 70

8. Anexos

8.1 Outros artigos publicados com foco em esquizofrenia

8.11 Artigo anexo 1 74

8.12 Artigo anexo 2 76

8.13 Artigo anexo 3 78

8.14 Artigo anexo 4 79

8.15 Artigo anexo 5 81

8.2 Protocolo utilizado no estudo 83

ABREVIATURAS E SIGLAS

CNV – Copy Number Variation.

DNA - Deoxyribonucleic Acid

DSM - Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders

EF – Executive Function

GPx – Glutationa Peroxidase

GWAS - Genome-Wide Association Study

HLTV - Hopkins Verbal Learning Test

OS – Oxidative Stress

TBARS - Thiobarbituric Acid Reactive Substances

PCC – Protein Carbonyl Content

SOD - Superoxide Dismutase

SCID - Structured Clinical Interview for DSM Disorders

SB – Siblings

SZ - Schizophrenia

VM – Verbal Memory

WAIS - Wechsler Memory Scale

WM – Working Memory

RESUMO

Endofenótipos são características mensuráveis que se encontram entre a doença e o genótipo e podem ser medidas neurofisiológicas, bioquímicas, endocrinológicas, neuroanatômicas ou cognitivas. Gottesman e Shields propuseram pela primeira vez o conceito em transtornos psiquiátricos, em 1973. Endofenótipos têm sido estudados em familiares de pacientes com transtornos psiquiátricos e servem para correlacionar os fenótipos e risco genético. O objetivo do nosso estudo foi caracterizar possíveis endofenótipos em uma população brasileira com os riscos genéticos para a esquizofrenia (SZ). Nós medimos dois grupos de possíveis endofenótipos: marcadores de estresse oxidativo e de defesa antioxidante (artigo 1) e domínios cognitivos (artigo 2). A fim de examinar os marcadores de estresse oxidativo no soro, foram selecionados 37 irmãos de pacientes com SZ e 37 controles saudáveis sem história de transtorno psiquiátrico. Medimos TBARS, carbonilação proteica e níveis da glutationa peroxidase. Encontramos aumento significativo do estresse oxidativo proteico em irmãos de pacientes com esquizofrenia ($p = 0,03$). Não foram encontradas diferenças de TBARS ($p = 0,73$) e dos níveis da glutationa peroxidase ($p = 0,53$) (artigo 1). Para caracterizar funções cognitivas como possíveis endofenótipos, medimos memória verbal (VM), memória de trabalho (WM) e função executiva (EF) em 90 participantes (45 irmãos de pacientes com SZ e 45 controles saudáveis pareados). Não foram encontradas diferenças na EF ($p = 0,42$) e WM ($p = 0,19$ para sequencia de números e letras e $p = 0,43$ para Digit Span). No entanto, em VM, irmãos de pacientes tiveram desempenho pior do que os controles no teste de memória tardia ($p <0,01$, $d = 0,6$) e no teste de memória verbal total ($p <0,05$, $d = 0,5$)

(artigo 2). Nossos resultados sugerem que a prejuízos em memória verbal e estresse oxidativo proteico podem ser considerados endofenótipos de SZ.

ABSTRACT

Endophenotypes are considered measurable components along the pathway between disease and genotype and could be neurophysiological, biochemical, endocrinological, neuroanatomical, cognitive, or neuropsychological. Gottesman and Shields first proposed the concept for psychiatry disorders in 1973. Endophenotypes have been studied in relatives of patients with psychiatry disorders to correlate phenotypes and genetic risk. The aim of our study was characterize possible endophenotypes in a Brazilian population with genetic risks to schizophrenia (SZ). We measured two groups of possible endophenotypes: oxidative stress and antioxidant defense serum markers (article 1) and cognitive domains (article 2). In order to examine serum oxidative stress markers, we selected 37 siblings and 37 healthy controls without actual or past psychiatry disorder. We measured TBARS, Protein Carbonyl Content, and Glutathione Peroxidase levels. We found significant increase in protein oxidative stress in siblings of patients with schizophrenia (higher Protein Carbonyl Content levels) ($p=0.03$). We haven't found differences in TBARS ($p=0.73$) and Glutathione Peroxidase ($p=0.53$) levels (article 1). To characterize cognitive deficits as possible endophenotypes, we measured verbal memory (VM), working memory (WM) and executive function (EF) in 90 subjects (45 unaffected siblings of patients with SZ and 45 matched healthy controls). No differences were found in EF ($p = 0.42$) and WM ($p = 0.19$ to Letter-Number Sequencing and $p=0.43$ to Digit Span). However, in VM, siblings of patients performed worse than controls in the delayed recall test ($p<0.01$, $d=0.6$) and in the total recall test ($p<0.05$, $d=0.5$) (article 2). Our results suggest that verbal memory impairment and protein oxidative stress could be considered endophenotypes of SZ.

PREFÁCIO

O presente trabalho surge de uma ideia audaciosa: estudar indivíduos saudáveis para tentar entender melhor os riscos genéticos e a fisiopatologia da esquizofrenia. O estudo com familiares de primeiro grau de pessoas com transtornos psiquiátricos ganhou força após as hipóteses de que manifestações fenotípicas podem ocorrer em pessoas em risco genético, mesmo sem a manifestação completa da doença. Essas manifestações ganharam nome de endofenótipos e têm sido estudadas em diversas populações.

O quanto a presença de um endofenótipo pode representar risco de desenvolvimento do transtorno ainda é uma interrogação. O reconhecimento de indivíduos em risco e de pródromos para esquizofrenia cresceu nos últimos anos, inclusive com um longo debate se pródromos de esquizofrenia deveriam entrar nos manuais diagnósticos (1, 2).

Fatores presentes ou ausentes antes de um indivíduo desenvolver a esquizofrenia ou, até mesmo, em quem não desenvolve a doença são importantes objetos de estudo. Que relação esses fatores têm com o desenvolvimento da síndrome são perguntas ainda sem resposta, o que faz deste um grande campo de pesquisa.

O fato de estudar irmãos saudáveis de pacientes trouxe para a equipe de pesquisa contato com indivíduos que vivem uma realidade singular. São pessoas que conhecem e convivem com a esquizofrenia, sabem de todas as limitações que a doença pode trazer ao portador e, altruisticamente, se encontraram dispostos a ajudar, de todas as formas, médicos e pesquisadores para melhorar o entendimento da doença.

Se uma longa caminhada começa com o primeiro passo, as limitações desse estudo podem ser relativizadas. Ele é um estudo transversal para “perguntas longitudinais”. É

apenas um pequeno passo científico para reconhecimento de fatores que possam estar relacionados à esquizofrenia em indivíduos saudáveis.

Este trabalho é dividido em 4 partes. A primeira é a introdução, na qual a esquizofrenia é abordada de forma ampla, com descrição de características da doença e seus fatores de riscos. A segunda parte é a apresentação dos objetivos do projeto, com algumas especificações utilizadas. Na terceira, são apresentados os dois artigos como resultados do trabalho executado. O primeiro artigo é a dosagem de marcadores de estresse oxidativo em irmão de portadores de esquizofrenia. O segundo artigo são testagens cognitivas nesse grupo. Em ambos os artigos, as medições foram comparadas com controles saudáveis. Por fim, apresentam-se os anexos referentes ao estudo.

1. Carpenter WT. Anticipating DSM-V: should psychosis risk become a diagnostic class? Schizophrenia bulletin. 2009 Sep;35(5):841-3.

2. Woods SW, Addington J, Cadenhead KS, Cannon TD, Cornblatt BA, Heinssen R, et al. Validity of the prodromal risk syndrome for first psychosis: findings from the North American Prodrome Longitudinal Study. Schizophrenia bulletin. 2009 Sep;35(5):894-908.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Histórico

A esquizofrenia se apresenta como uma das mais intrigantes e fascinantes doenças da psiquiatria. Com mais de 100 anos após suas descrições médicas iniciais, muito se avançou no mapeamento de sua etiologia, porém essa busca ainda não se completou.

Os sintomas da doença têm sido descritos em documentos que remontam a história das civilizações. Em documentos encontrados na antiga mesopotâmia, escritos há cerca de 5 mil anos, sintomas psicóticos e paranoides estavam descritos juntamente com outras descrições clínicas, como epilepsia e meningite (1). Descrições dos sintomas clássicos da doença ocorreram também em relatos na Índia antiga, nas civilizações gregas e romanas, além da Idade Média e Idade Moderna, porém, em grande parte, essas descrições estavam mais ligadas à literatura religiosa que médica, pois os sintomas psicóticos eram considerados místicos e possíveis vidências (1, 2).

Na arte literária, descrições de sintomas psicóticos são presentes mesmo antes das descrições clássicas. Em obras literárias do inglês William Shakespeare (1556 – 1616) (3, 4) e do francês Honoré de Balzac (1799 – 1850) (5), por exemplo, quadros clínicos semelhantes ao da esquizofrenia estão presentes.

No século 19, os transtornos psiquiátricos começaram a ter um outro tratamento e conduta, capitaneados, principalmente, pelas ideias de Philippe Pinel (1745–1826) e seus colaboradores. De cadeias, pacientes passaram para hospitais, recebendo atenção como doentes (6, 7).

A mudança na identificação da esquizofrenia, levando em conta os sintomas e curso, iniciou-se com Emil Kraepelin (1856 – 1926). Este, ao avaliar doentes mentais, observou dois diferentes padrões de doença: o da demência precoce e o da psicose

maníaco-depressiva, o que deu origem à dicotomia kraepeliniana. O termo esquizofrenia foi posteriormente introduzido por Eugen Bleuler (1857 – 1959) após um aperfeiçoamento do conceito de demência precoce. Bleuler também propôs um delineamento clínico e incluiu entre os critérios da doença manifestações psicopatológicas como distúrbios das associações do pensamento, autismo, ambivalência, embotamento afetivo, distúrbios da atenção e avolição. Para Bleuler, delírios, alucinações, ou catatonia não eram essenciais ao diagnóstico.

Apos a descrição dessas duas síndromes (demência precoce e esquizofrenia), coube a Kurt Schneider (1887 – 1967) o agrupamento dos sintomas e reorganização da sua importância para diagnóstico. Schneider propôs os sintomas de primeira ordem para esquizofrenia, como as alucinações e os delírios, que serviram como base para o conceito moderno de esquizofrenia (8).

Durante a primeira metade do século 20, porém, havia uma divergência no conceito de esquizofrenia. Enquanto alguns países europeus baseavam-se nos conceitos Kraepelinianos e Schineiderianos, os norte-americanos baseavam-se nos conceitos Bleurelianos e psicanalíticos. Com essa divergência em curso, alguns psiquiatras propuseram que a esquizofrenia era uma condição médica de exclusão, pois não teria uma causa orgânica, mas sim estaria relacionada com o ambiente psicológico de nascimento. A partir dessa teoria, as indicações de tratamento eram psicanálise de longa duração e terapia familiar. Hipóteses como mãe esquizofrenizante remontam a essa época. Duas descobertas científicas da metade do século XX parecem ter sido eventos transformadores para o entendimento neurobiológico da esquizofrenia: a terapia e resposta a medicamentos antipsicóticos e os estudos com familiares adotados, os quais mostraram que a herança genética era mais importante que o ambiente de criação no desenvolvimento da esquizofrenia (9).

Nos anos 70, um grupo de pesquisadores da universidade de Washington propôs novos critérios para o diagnóstico da doença. Baseados em critérios Schineiderianos, Bleulerianos e Kraepelinianos, a proposta foi base para o DSM III no ano de 1980, a qual apresenta critérios que se assemelham aos critérios atuais (8).

Atualmente, a esquizofrenia é considerada uma síndrome cujos sintomas podem ser divididos em dimensões como: sintomas positivos, sintomas negativos, sintomas afetivos e cognitivos. Porém nem todos são necessários para diagnóstico do transtorno (10-12).

1.2 Diagnóstico de esquizofrenia

O início dos sintomas psicóticos (delírios e alucinações) define tradicionalmente o diagnóstico da doença. A apresentação clínica inicial pode variar de um lento e gradual prejuízo cognitivo até uma crise psicótica abrupta. A idade de início é variável e pode ocorrer entre os 15 aos 45 anos, com um pico no final da adolescência para homens e cerca de 5 a 7 anos depois em mulheres. Estas apresentam ainda um segundo pico de incidência da doença após os 40 anos de idade, incomum em homens. Comparando por gênero, mulheres apresentam melhor funcionamento premórbido, com menos sintomas negativos, menos prejuízo cognitivo e respondem melhor ao tratamento, porém apresentam sintomas afetivos mais graves. Pacientes com início da doença antes dos 20 anos apresentam mais frequentemente sintomas premórbidos, sintomas negativos e cognitivos (13, 14).

1.3 Epidemiologia e fatores de risco para esquizofrenia

Estimativas de risco de incidência e prevalência da esquizofrenia para a população em geral dependem das populações avaliadas e dos métodos dos estudos. Dados sobre

risco para desenvolvimento da doença durante toda a vida variam de 0,3% a 2%, com uma média de aproximadamente 0,7% (15, 16). Estudos na América Latina e Brasil apresentam média de risco semelhante, próxima a 1% (17).

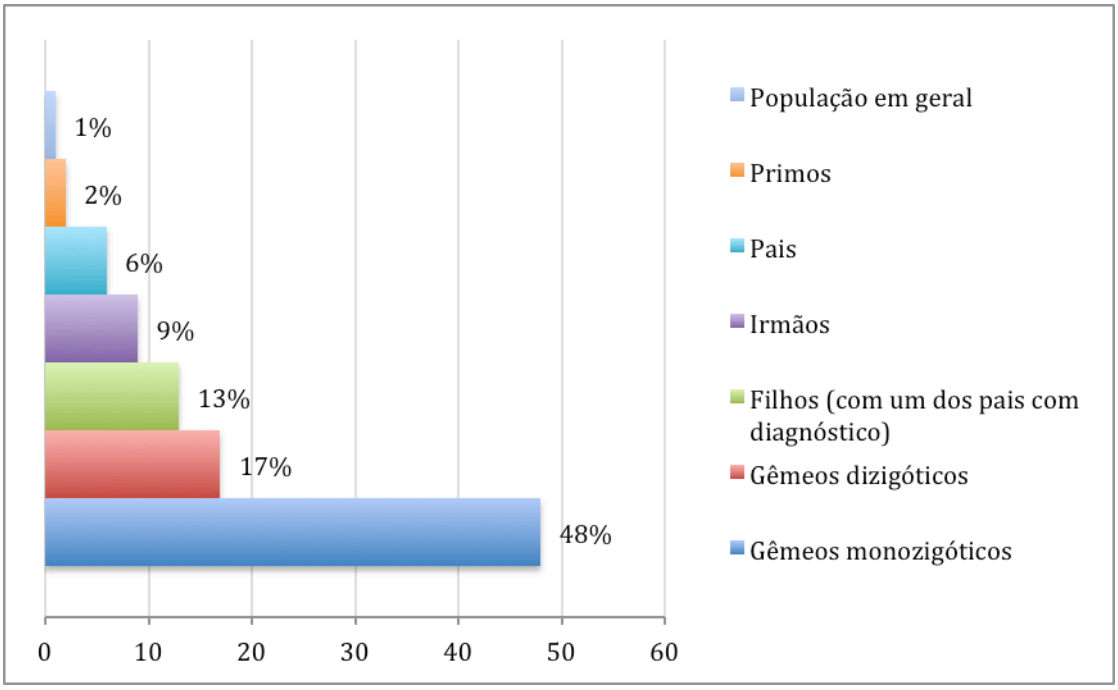
Alguns estudos demonstram uma maior incidência da doença no sexo masculino. O risco relativo quando homens são comparados a mulheres é de 1,4. Além do gênero, outros fatores de risco para esquizofrenia têm sido estudados. Populações imigrantes têm riscos relativos maiores de desenvolvimento da doença. Na primeira geração de imigrantes, o risco relativo é de 2,7, enquanto para a segunda geração esse risco cresce para 4,5 (18). Áreas urbanas também parecem estar relacionadas com maiores riscos de desenvolvimento da doença (19, 20). Outros fatores têm sido listados como fatores de risco para o desenvolvimento da esquizofrenia, dentre eles estão infecção e desnutrição durante a gestação (21), nascimento no inverno, complicações obstétricas e perinatais (22-24), uso de cannabis (25) e idade paterna avançada (tabela1) (26-28). Dentre todos, porém, o mais importante fator de risco para esquizofrenia é a história familiar (29). Familiares de qualquer grau de pacientes com esquizofrenia têm risco maior de desenvolvimento da doença quando comparados com a população em geral (figura 1) (30, 31).

Tabela 1. Estimativas de risco relativo para esquizofrenia devido a fatores ambientais

Fator de Risco	Risco relativo aproximado	Referências
Habitar áreas urbanas	2 -3	(Pedersen e Mortensen, 2001a)
Migração	2 – 4.5	(Cantor-Graae e Selten, 2005)
Infecção ou desnutrição no primeiro ou segundo trimestre de gestação	2 – 3	(Penner e Brown, 2007)
Complicações obstétricas e perinatais	2 – 3	(Byrne *et al.*, 2007)
Uso de *cannabis*	2 – 3	(Henquet *et al.*, 2005)
Idade paterna > 35 anos	1.5 - 3	(Wohl e Gorwood, 2007)

Adaptado de Tandon, Keshavan *et al.* (2008)

Figura 1. Risco de desenvolvimento da esquizofrenia em familiares de uma pessoa com a doença. Adaptado de Gottesman e Wolfgram (1991)



1.4 Hipóteses etiológicas:

A esquizofrenia é considerada uma doença neurodesenvolvimental e, mesmo iniciando mais frequentemente no final da adolescência, é provável que a doença inicie em um indivíduo que já apresente um cérebro não completamente saudável (14, 32). Diferentes alterações no desenvolvimento foram observadas em estudos populacionais longitudinais. Um estudo dinamarquês mostrou que pessoas que manifestaram a esquizofrenia apresentaram atraso em diversos marcos do desenvolvimento quando comparados à média dos controles. Em especial, nos marcos desenvolvimentais de sorriso social, nos atos de firmar a cabeça, sentar, engatinhar e andar (33). Uma revisão publicada por Woodberry *et al.* (2008) mostrou que pacientes com esquizofrenia apresentam QI premórbido menor que os controles (34).

O modelo neurodesenvolvimental se baseia em três períodos: um indivíduo com um insulto cerebral precoce, um período de latência e o aparecimento da psicose. De acordo com Insel (2010), duas hipóteses não excludentes podem ocorrer no cérebro desses indivíduos até o aparecimento da psicose. A primeira é que esses insultos precoces só se manifestam quando mecanismos compensatórios cerebrais não são mais capazes de controlá-los, consequentemente desenvolvendo o episódio psicótico. A outra hipótese é que o insulto precoce possa influenciar e alterar os processos regulatórios de vias cerebrais como os processos de poda de sinapses (35).

O período da adolescência é o período em que o córtex pré-frontal ainda não está completamente desenvolvido, além de ser o período em que ocorre um ajuste fino das sinapses cerebrais. A poda das sinapses excitatórias e proliferação de circuitos inibitórios ocorrem nesse período, em especial os circuitos dopaminérgicos. Uma falha nesse processo parece ter relação com o episódio psicótico (35).

Um dos achados mais importantes em esquizofrenia são as alterações em vias dopaminérgicas em pacientes. Uma revisão que incluiu 44 estudos de imagem molecular, publicada por Howes *et al.* (2012), mostrou que pacientes com esquizofrenia apresentam aumento dopaminérgico pré-sináptico, com um grande tamanho de efeito nesse achado (36). Resultado semelhante foi encontrado em pacientes em pródromos para a doença. Esses estudos dão suporte à hipótese de uma disfunção dopaminérgica na esquizofrenia (37).

Atualmente, além das vias dopaminérgicas, disfunções em vias serotonérgicas, gabaérgicas e colinérgicas têm sido relacionadas com a doença (38-40), com uma importância dada ao sistema glutamatérgico (41). Essa importância se deve ao fato de que o uso de antagonistas do receptor NMDA (receptor glutamatérgico) pode levar a sintomas negativos e cognitivos semelhantes aos da esquizofrenia (42), enquanto agonistas glutamatérgicos têm se mostrado promissores no tratamento de alguns sintomas da doença (43).

1.5 Genética da esquizofrenia

Fatores genéticos têm grande importância no desenvolvimento da esquizofrenia e estudos realizados há mais de 50 anos mostraram o componente biológico hereditário da doença (27). Estudos mais recentes estimam que o coeficiente de herdabilidade da esquizofrenia seja de cerca 80%, o que a coloca entre as doenças médicas com maior herdabilidade (44, 45).

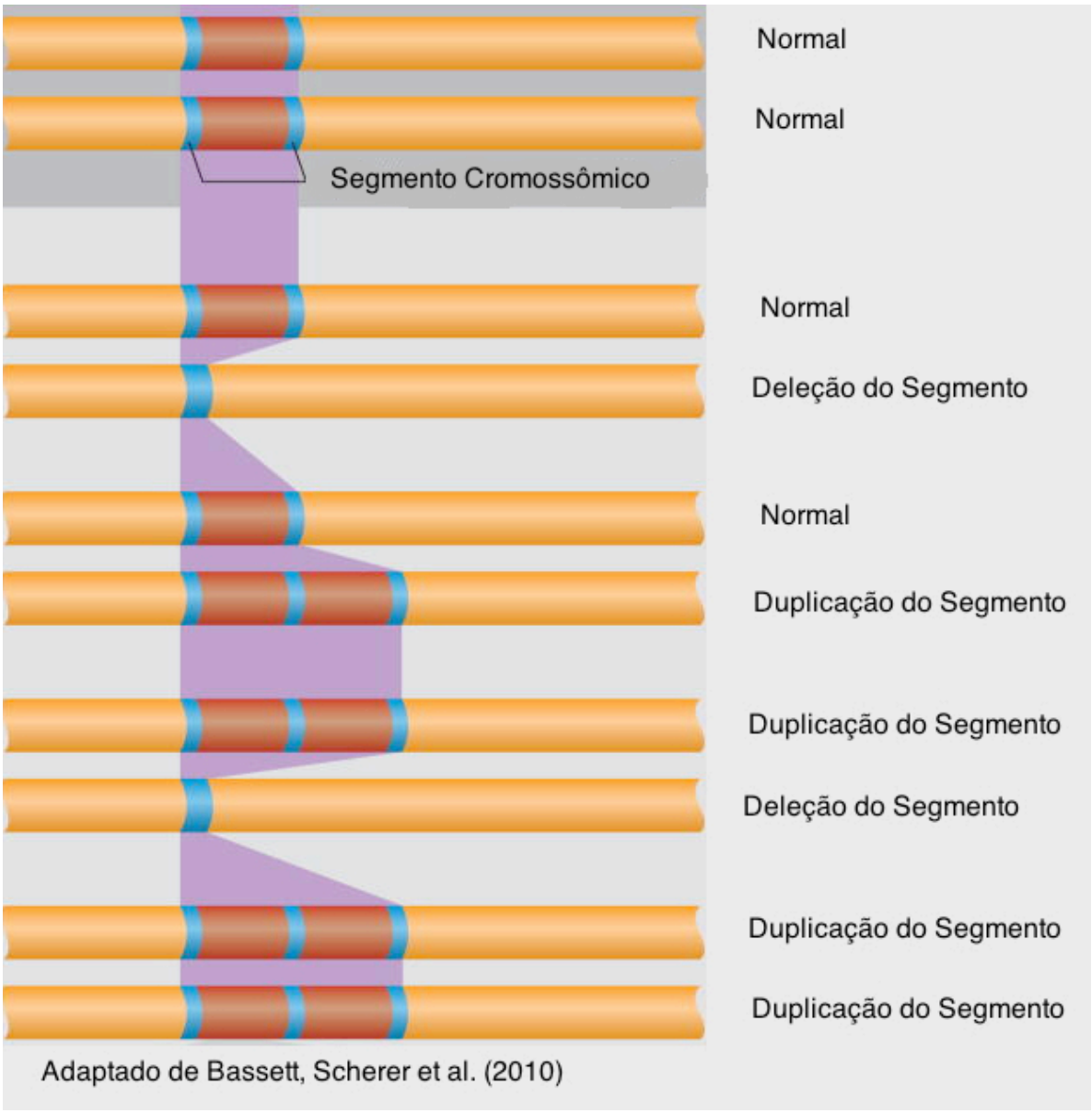
A identificação de que a esquizofrenia é uma doença poligênica já foi descrita há mais de 40 anos e é uma teoria que ganhou suporte ao longo dos anos (46). Mais de 1000 genes e polimorfismos já foram estudados em esquizofrenia e um banco de dados on-line foi produzido com os resultados (http://www.szgene.org) (47). Entretanto muitos

desses estudos não foram reproduzidos ou não apresentam poder estatístico (45).

Estudos de associação global do genoma (GWAS) têm trazido à luz novas associações de genes com a esquizofrenia, até então desconhecidas, não só identificando genes relacionados à doença, mas também relacionando esses genes a fenótipos específicos (45, 48-50).

Estudos mais recentes têm relacionado o risco de desenvolvimento de esquizofrenia com alterações de variações do número de cópias (CNV) de uma ou mais regiões do DNA. Isso significa microdeleções ou microduplicações de áreas específicas do DNA (figura 2) (51, 52). Essas alterações, entretanto, são raras, mas quando presentes parecem ser um fator de risco importante (53). As conclusões mais atuais reforçam a teoria de que a esquizofrenia é uma doença poligênica e sugerem que a inter-relação complexa de diversas variações genéticas, que sozinhas têm pequeno efeito, contribuem significativamente para o seu desenvolvimento (45, 53, 54).

Figura 2. Variações do número de cópias de regiões do DNA.



1.6 Endofenótipos

O conceito de endofenótipo foi descrito inicialmente na literatura psiquiátrica por Gottesman e Shields (1973) e, com os avanços dos estudos genéticos na psiquiatria, reeditado em 2003 (55, 56). O conceito surgiu originalmente na biologia evolutiva, em um artigo publicado em 1966, cujos autores propunham que diferenças bioquímicas e microscópicas em insetos são "fenótipos internos", que não podem ser vistos a "olho nu", sendo necessário algum instrumento para serem vistos e medidos, em contraposição ao "exofenótipo" ou "fenótipo externo", o qual pode ser definido como um claro fenótipo expresso, visível a "olho nu" (57).

Ao adaptar o conceito para transtornos psiquiátricos, os autores definiram endofenótipos como elementos mensuráveis que se encontram manifestados entre o genoma e a doença. Endofenótipos podem ser medidas neuropsicológicas, bioquímicas, endocrinológicas, neuroanatômicas, cognitivas e neuropsicológicas e podem representar pistas importantes da base genética dos transtornos psiquiátricos. Nesse estudo, Gottesman e Goud listaram critérios para que marcadores sejam considerados endofenótipos (Tabela 2) (56).

Nos últimos anos, alterações neurofisiológicas, cognitivas, neuroanatômicas, neurofuncionais e bioquímicas observadas em pacientes com esquizofrenia têm sido estudadas como possíveis endofenótipos da doença. Em um estudo pioneiro de neuroimagem com pacientes com diagnóstico de esquizofrenia, transtorno de humor bipolar e seus respectivos familiares, Mcdonald *et al.* (2004) mapearam as regiões cerebrais associadas ao risco genético para os transtornos. Na esquizofrenia, esse risco foi associado com diminuição de volume de substância cinzenta bilateral na região frontal talâmica e estriatal e região temporal esquerda, enquanto o risco genético para o transtorno de humor bipolar é associado com diminuição da substância cinzenta

somente no giro cingulado anterior e estriado ventral direito. Associado a isso, para ambos os transtornos, o risco genético está associado à redução volumétrica de substância branca em região frontal esquerda e regiões temporo-parietal. O autor conclui que áreas específicas de substância cinzenta cerebral podem contribuir para estudos como possíveis endofenótipos (58).

Uma meta-análise de 25 estudos de ressonância magnética cerebral volumétrica, realizada por Boos *et al.* (2007), incluiu 1065 familiares de paciente com esquizofrenia e 1100 controles. Esse estudo encontrou que familiares apresentam menor hipocampo e substância cinzenta além de maior terceiro ventrículo. Essas alterações estão relacionadas geneticamente à esquizofrenia (59).

Alterações em áreas e mecanismos cerebrais relacionadas à percepção e ao processamento da linguagem têm sido bastante estudadas em pacientes com diagnóstico de esquizofrenia. Essas alterações fazem parte, inclusive, de um modelo etiológico da doença proposto por Crow, em que a esquizofrenia pode ser causada por uma falha na especialização hemisférica para a linguagem (60, 61).

A ativação de áreas frontais e temporais são relacionadas a mecanismos de linguagem normais, como o processamento da audição. Em pacientes com esquizofrenia, alterações nessas regiões são frequentemente encontradas (62). Uma meta-análise publicada por Honea *et al.* (2005), que incluiu estudos de morfometria encefálica de pacientes com esquizofrenia, mostrou que apenas duas regiões apresentavam alterações em mais de 50% dos estudos, ambas em região temporal (63). Estudos de ressonância funcional com testes de linguagem em pacientes crônicos mostraram alterações na lateralização em região frontal e temporal quando comparados com controles saudáveis (64, 65). Um estudo com pacientes em primeiro episódio de esquizofrenia e não medicados mostrou resultados semelhantes (66).

Francis *et al.* (2012) estudaram volume cerebral de áreas relacionadas à linguagem em familiares de primeiro grau de pacientes com esquizofrenia com a hipótese de que alterações nessas áreas seriam endofenótipos da doença. Nesse estudo, encontraram diminuição de substância cinzenta em duas áreas localizadas no córtex frontal, pars triangularis e pars orbitalis, ambas importantes na linguagem e sendo a pars triangularis pertencente à, classicamente denominada, área de Brocca (67, 68).

Em uma revisão sobre conectividade como endofenótipos em esquizofrenia, White e Gottesman (2012) apresentam alguns resultados que sustentam a hipótese de que alterações na conectividade estão relacionadas com o risco genético de desenvolver esquizofrenia e podem ser consideradas endofenótipos (69). Um estudo utilizando métodos de imagem de difusão (DTI) com irmãos de pacientes com esquizofrenia demonstrou que a diminuição da integridade da substância branca da região frontal está relacionada ao risco genético da doença (70). Um achado semelhante em córtex frontal foi publicado por Hao *et al.* (2009), que também encontrou menor integridade na substância branca do hipocampo (71).

Outros possíveis endofenótipos são as pequenas anomalias físicas, as quais têm sido historicamente relacionadas com a esquizofrenia. Acredita-se que elas representem anormalidades no desenvolvimento fetal e tenham relação com o risco genético de desenvolvimento da doença (72). Estudos realizados com diferentes metodologias em familiares de pacientes também encontraram essas anomalias em menor quantidade em familiares de primeiro grau de pacientes. Presença de prega epicantal, palato ogival e sindactilia parcial dos dedos dos pés são alguns dos achados mais frequentes em familiares de pacientes com esquizofrenia (73, 74). Uma meta-análise realizada por Xu *et al.* (2011), confirmou esses resultados (75).

Uma revisão sobre endofenótipos neurofisiológicos em esquizofrenia, realizada por Turetsky *et al.* (2007), mostrou que medidas de processamento sensório podem também ser consideradas endofenótipos de esquizofrenia. Um dos testes utilizados em pacientes com esquizofrenia para medir capacidade inibitória é o teste de inibição por pré-pulso, que consiste em medir o sobressalto do indivíduo quando um estímulo é precedido por outro mais fraco. Os estímulos podem ser sonoros, por exemplo. Em indivíduo sem o diagnóstico de esquizofrenia, esse estímulo prévio é capaz de diminuir o sobressalto que ele apresenta. Já em pacientes, essa diminuição apresenta-se prejudicada. Isso demonstra um prejuízo na capacidade inibitória cerebral (76). Um estudo de ressonância magnética funcional mostrou envolvimento do tálamo, hipocampo, estriado e córtex frontal na inibição por pré-pulso (77). Estudos realizados com familiares de pacientes mostraram que prejuízos na inibição por pré-pulso estão presentes em irmãos de pacientes com esquizofrenia (78, 79).

Outro endofenótipo relacionado à capacidade inibitória na esquizofrenia é o teste antissacádico, o qual consiste em mover os olhos de forma oposta a um estímulo. Em pacientes, erros nos testes antissacádicos são mais frequentes que em indivíduos não doentes (80). Raemaekers *et al.* (2002), em um estudo de ressonância funcional, demonstraram que pacientes com esquizofrenia apresentavam menor ativação estriatal no momento de inibição do movimento ocular (81). Em duas meta-análises publicadas por Levy *et al.* (2004) e Calkins *et al.* (2004), foram selecionados estudos com o teste antissacádico em familiares de pacientes com esquizofrenia. Ambos os estudos constataram que familiares, na média, cometem mais erros no teste antissacádico (82, 83).

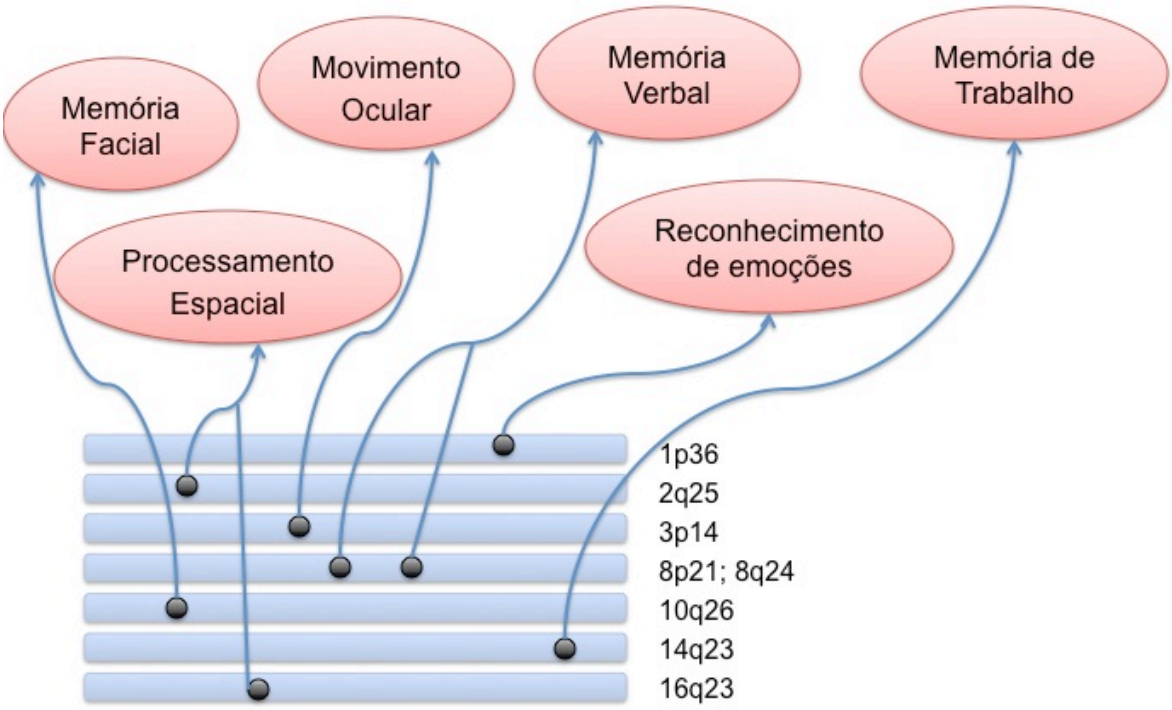
Estudos mais recentes incluindo paciente e familiares têm correlacionado endofenótipos com áreas cromossômicas. Um estudo de linkage com 296 famílias

relacionou 12 endofenótipos já estudados em esquizofrenia com áreas cromossômicas e encontrou significância na relação entre alterações no teste antissacádico e a região cromossômica 3p14. Em outras regiões cromossomais, encontraram-se outras possíveis relações: região cromossomo 1p36 com reconhecimento de emoções; região 2p25 e 16q23 com processamento espacial; 2q24 e 2q32 com destreza sensória e motora; 8q24 memória verbal, entre outros (figura3) (50). Esses achados de "gene to phene" podem ajudar a avançar no entendimento de uma doença geneticamente complexa como a esquizofrenia (56, 84).

Tabela 2. Critérios para marcadores serem considerado endofenótipos
O endofenótipo deve estar associado à doença na população.
O endofenótipo é hereditário.
O endofenótipo se manifesta mesmo sem a doença estar em atividade.
O endofenótipo e a doença são co-segregados.
O endofenótipo encontrado em pessoas afetadas pela doença é mais frequente em familiares (não afetados) do que na população.

Adaptado de Gottesman e Gould (2003)

Figura 3. Endofenótipos correlacionados com possíveis loci.



Adaptado de Gottesman e Gould (2003) e Greenwood, Swerdlow et al. (2013).

1.7 Estresse Oxidativo

Reações químicas de oxidação e redução envolvem a transferência de elétrons entre dois elementos e são a base da cadeia respiratória mitocondrial e produção de energia. Durante o processo metabólico normal envolvendo o oxigênio, espécies reativas de oxigênio, conhecidas como radicais livres, são produzidas, atuando como agentes pró-oxidantes e podendo causar danos a lipídios, proteínas e ao DNA, danos esses chamados de estresse oxidativo (85, 86). Alguns marcadores biológicos têm sido utilizados para medir os danos causados pela oxidação, dentre eles o TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) para lipídios e o PCC (protein carbonyl contents) para proteínas (87, 88).

Enzimas como a Glutationa Peroxidase, Superoxido Dismutase (SOD) e Catalase atuam de forma integrada como enzimas de defesa contra agentes pró-oxidantes, protegendo o organismo contra a excessiva formação de radicais livres. De certa forma, a relação entre agentes pró-oxidantes e antioxidantes se dá como uma balança que, em processos patológicos, pode estar desequilibrada e consequentemente agir na disfunção e morte celular (figura 4) (86, 88). O cérebro é um dos órgãos mais vulneráveis ao estresse oxidativo. A grande demanda de energia faz com que ele seja responsável pelo uso de cerca de 20% do consumo de oxigênio. Somado a isso, o cérebro tem menor concentração de antioxidantes (89). O estresse oxidativo tem sido relacionado com diversos transtornos psiquiátricos, entre eles, a esquizofrenia e o transtorno de humor bipolar, e parece ter um importante papel na fisiopatologia desses transtornos (88, 90-92).

Um estudo realizado por Gama *et al.* (2006) mostrou que, quando comparados com controles, pacientes com diagnóstico de esquizofrenia apresentaram maiores níveis séricos de marcadores de dano lipídico por stress oxidativo (TBARS). Esse dano era

maior nos pacientes que faziam uso de clozapina quando comparados com pacientes em uso de haloperidol. Já os níveis da enzima de defesa ao stress oxidativo Superoxido Dismutase (SOD) não apresentaram diferenças entre pacientes e controles, concluindo que o TBARS pode ser um possível marcador do curso da doença (88). Em outro estudo com 68 pacientes com diagnóstico de esquizofrenia, Gama *et al.* (2008) encontraram TBARS aumentado em pacientes mais sintomáticos (90). Uma meta-análise publicada por Zhang *et al.* (2010) incluiu 16 estudos que mediram TBARS e confirmou os resultados em pacientes com esquizofrenia (93). Casos de maior peroxidação lipídica também foram encontrados em estudos posmortem. Wang *et al.* (2009) realizaram um estudo que encontrou aumento de produtos da peroxidaçao lipídica em pacientes com esquizofrenia e transtorno de humor bipolar (94).

Um estudo realizado por Raffa *et al.* (2011) mostrou que pacientes em primeiro episódio psicótico, não medicados, apresentavam as enzimas de defesa contra o estresse oxidativo Glutationa Peroxidase aumentadas quando comparados a controles saudáveis, enquanto os níveis séricos de outra enzima, a Catalase, estavam diminuídos. Não foram observadas alterações de SOD. Pedrini, Massuda (96) mostraram que pacientes tanto em estágios iniciais da doença, quanto tardios apresentam aumentados níveis séricos de marcadores de estresse oxidativo lipídico (maiores níveis de TBARS) e de estresse oxidativo proteico (maiores níveis de PCC). Esses resultados dão suporte à hipótese de que o estresse oxidativo é parte do mecanismo patofisiológico da esquizofrenia (95).

A avaliação do estresse oxidativo em familiares de pacientes com esquizofrenia foi explorada por Ben Othmen *et al.* (2008) . Esse estudo com irmãos de pacientes encontrou diminuição das atividades das enzimas protetoras ao estresse oxidativo

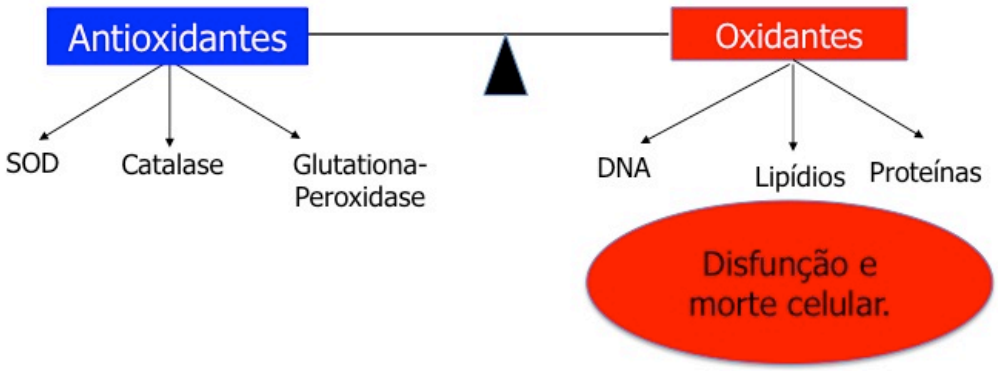
Superóxido Dismutase e Catalase, enquanto a Glutationa Peroxidase apresentou níveis de atividades mais alto que de controles saudáveis. Não houve diferença nos níveis de TBARS. Esse estudo sugere que o dano na defesa ao estresse oxidativo pode ser relacionado com o risco genético da esquizofrenia e consequentemente ser considerado um possível endofenótipo (97).

Diversos mecanismos fisiopatológicos têm sido relacionados como possíveis fatores para o aumentado estresse oxidativo, dentre eles, fatores genéticos (98), disfunções no metabolismo mitocondrial (99) e aumento da liberação da dopamina em regiões estriatais (85).

Estudos promissores estão sendo realizados com o uso de terapia com ômega 3, um conhecido antioxidante, em pacientes em risco para desenvolvimento da doença. Enquanto o ômega 3 como adjuvante não parece melhorar sintomas residuais em pacientes já diagnosticados com esquizofrenia (100), estudos em modelo animal (101) e um ensaio clínico randomizado (102) demonstraram a possibilidade do uso como protetor contra o desenvolvimento da doença.

A clara relação do estresse oxidativo com a esquizofrenia, demonstrada por diversos estudos e pelas respostas em intervenções precoces, faz do tema um importante objeto de estudo para aprofundamento e compreensão do mecanismo fisiopatológico na esquizofrenia.

Figura 4. Equilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes.



1.8 Neuropsicologia da esquizofrenia

O estudo das funções cognitivas e as relações dessas funções com áreas cerebrais é um dos campos da neuropsicologia. As complexas funções do cérebro podem ser divididas em processos simples e mais gerais para serem estudadas isoladamente. Atualmente, técnicas de ressonância magnética estão sendo utilizadas para identificar processos cerebrais e relacioná-los a um comportamento (103).

O prejuízo nas funções cognitivas é uma característica central na esquizofrenia, já reconhecido por Kreapelin e Bleuler nas primeiras conceptualizações da doença (104). Esses prejuízos podem ser encontrados de formas leves até graves e variam significativamente entre pacientes (105). Diversas funções se encontram prejudicadas em pacientes com esquizofrenia, dentre elas, pode-se citar: memória de trabalho, função executiva, velocidade psicomotora e memória/aprendizagem verbal (tabela 3) (106).

Um estudo realizado por Barrett *et al.* (2009) mostrou que os prejuízos cognitivos em memória, função executiva e linguagem já se encontram presentes no primeiro episódio psicótico (107). Esses achados são confirmados por outros estudos (108, 109). Durante o curso da doença, esses prejuízos parecem estáveis, e ensaios clínicos com medicações antipsicóticas não têm sido capazes de melhorar significativamente a performance cognitiva dos pacientes (110, 111).

Keefe *et al.* (2006) compararam performance cognitiva em diversos domínios de pacientes em pródromos da doença, primeiro episódio e controles. Indivíduos em primeiro episódio apresentaram a pior performance cognitiva, seguidos por indivíduos em pródromos e controles, concluindo que o prejuízo cognitivo está presente mesmo antes do aparecimento do diagnóstico da esquizofrenia (112). Esses resultados foram reproduzidos por outros grupos (113, 114).

Disfunções cognitivas relacionadas à esquizofrenia parecem também ser herdadas. No estudo realizado por Greenwood *et al.* (2013) com pacientes e familiares, loci no cromossomo 8 estão possivelmente relacionados com memória verbal, enquanto no cromossomo 14, com memória de trabalho (50). O estudo realizado por Gasperoni *et al.* (2003) relacionou também memória de trabalho ao cromossomo 1 (115).

Estudos em familiares de primeiro grau de pacientes com esquizofrenia têm confirmado essa hereditariedade e têm contribuído para identificação de um padrão de prejuízo relacionado ao risco genético de esquizofrenia. Duas meta-análises sobre achados neuropsicológicos em familiares foram publicadas. O que ambos os estudos mostraram é que muitas das funções cognitivas alteradas na esquizofrenia estavam presentes, em menor grau (116, 117).

Na meta-análise publicada por Snitz *et al.* (2006) foram incluídos 58 estudos e 43 testes neuropsicológicos. Os resultados encontrados apontam prejuízos em diversos testes com tamanhos de efeito médios e pequenos. As diferenças com maiores tamanhos de efeito foram em testes de medem atenção, memória e fluência verbal, atenção visual, memória de trabalho e função executiva (117). Na revisão publicada por Sitskoorn *et al.* (2004), 37 estudos foram incluídos, e os resultados com maiores tamanhos de efeito foram os de memória verbal e função executiva. Ambas as revisões sugerem que funções cognitivas podem ser consideradas endofenótipos da esquizofrenia. Não há, porém, estudos que avaliem funções cognitivas em familiares de pacientes com esquizofrenia em população brasileira (116).

Tabela 3. Descrição de funções cognitivas estudadas em indivíduos com esquizofrenia.	
Memória de trabalho	Capacidade de guardar e manipular temporariamente informações necessárias para tarefas cognitivas complexas como compreensão da linguagem, aprendizado e raciocínio.
Função executiva	Habilidade de resolver problemas, utilizar conceitos abstratos e gerenciar as habilidades cognitivas, como a capacidade de alternar entre demandas concorrentes.
Velocidade psicomotora	Quantidade de tempo que um indivíduo leva para processar um sinal, preparar uma resposta e executar essa resposta.
Memória verbal	É um termo que se refere à memória de várias formas de linguagem e pode ser dividida em memória de curto e longo prazo.

Adaptado de Ekerholm *et al.* (2012) e Toulopoulouand e Murray (2004).

2. OBJETIVOS

Geral

Avaliar estresse oxidativo e funções neuropsicológicas como possíveis endofenótipos de esquizofrenia.

Específicos

Medir marcadores biológicos de estresse oxidativo lipídico (TBARS) e proteico (PCC) e medida sérica de enzima protetora ao stress oxidativo (Glutationa Peroxidase) em indivíduos saudáveis, irmãos de pacientes com esquizofrenia, e comparar com controles saudáveis.

Avaliar função executiva, memória de trabalho e memória verbal respectivamente com o teste de Stroop, Wechsler Adult Intelligence Scale (WAIS-III) e Teste de aprendizado verbal de Hopkins de indivíduos saudáveis, irmãos de pacientes com esquizofrenia e comparar com controles saudáveis.

3. MÉTODOS

Irmãos de pacientes com diagnóstico de esquizofrenia sem transtornos psiquiátricos foram convidados a participar do estudo. Os critérios de inclusão foram idade entre 18 a 60 anos, não ter no passado nem no momento diagnóstico de transtorno psiquiátrico confirmado pelo SCID-I e ter um irmão com diagnóstico de esquizofrenia confirmado pelo SCID-I.

Em todos os participantes foi realizada uma coleta de 10ml de sangue venoso para as análises bioquímicas no Centro de Pesquisas Clínicas do HCPA.

Análises Bioquímicas

Para as análises bioquímicas, foram utilizados os soros dos participantes, que poderão ser mantidos congelados a –80ºC por no máximo três anos. As amostras foram armazenadas no Freezer -80C no Laboratório de Pesquisa Molecular do HCPA.

Avaliação dos níveis de enzimas de defesa ao estresse oxidativo

A avaliação dos níveis de enzimas de defesa ao estresse oxidativo foi realizada através da medida dos níveis séricos de Glutationa Peroxidase. As amostras de soro foram incubadas a 37ºC durante 10min com tampão fosfato de potássio 20mM (KH_2PO_4, K_2HPO_4, EDTA 2mM, Azida sódica 0,8mM, pH 7,7) e NADPH 5mM. Em seguida, foram adicionados 40 mM de glutationa reduzida (GSH), e 40U glutationa redutase (GR). A reação foi iniciada pela adição do

tert- butilhidroperóxido. A atividade de Glutationa Peroxidase foi medida pela diminuição da absorção de NADPH a 340 nm. Os resultados foram corrigidos pela quantidade de proteínas

Avaliação dos níveis de dano lipídico

A avaliação da peroxidação lipídica foi realizada no soro dos pacientes, através do método de TBARS (substâncias reativas ao acido tiobarbitúricos) usando TBARS Assay Kit (Caymam Chemical Company, Ann Arbor) de acordo com as instruções do fabricante. Neste método, a quantificação dos produtos da peroxidação lipídica é realizada pela formação de substâncias plasmáticas que reagem ao ácido tiobarbitúrico, o que consiste na análise dos produtos finais da peroxidação lipídica (peróxidos lipídicos, malondialdeídos e demais aldeídos de baixo peso molecular) que, ao reagirem com o ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), formam bases de Schiff. Tais complexos são coloridos e sua concentração pode ser determinada espectrofotometricamente a 535nm. Os resultados são expressos em μM de MDA.

Avaliação dos níveis de danos a proteínas

A determinação de proteínas carboniladas foi realizada espectrofotometricamente segundo Levine *et al.* (1990), no soro dos pacientes, utilizando o reagente 2,4-difenilhidrazina (DNPH) para demonstrar a presença de grupos carbonilas. Os resultados são expressos em nmol de DNPH/mg de proteínas (118).

Testagem cognitiva

Uma bateria de testes neuropsicológicos foi administrada para avaliar a memória verbal, memória de trabalho e função executiva. Esses domínios foram selecionados baseados em estudos prévios em que familiares de pacientes apresentaram prejuízos de tamanho de efeito grande e moderado. O tempo de duração da bateria de testes neuropsicológicos foi de aproximadamente 60 minutos – incluindo uma pausa durante a avaliação. Os testes utilizados foram Wechsler Memory Scale-Third Edition (WAIS-III) para memória de trabalho, teste de Stroop para função executiva e Hopkins Verbal Learning Test (HLVT) para memória verbal.

Análise Estatística

Para descrição da amostra foram utilizadas análises descritivas. As médias dos grupos serão comparadas utilizando testes paramétricos ou não paramétricos quando necessário.

Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado no comitê de ética do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre sob o número 10-348. A participação no estudo se deu somente mediante autorização dos participantes, através de um termo de consentimento informado, no qual é garantida plena liberdade para interromper a participação quando o desejar, sem implicar perdas ou prejuízos no atendimento prestado aos pacientes nos serviços. Nesse documento, foram explicados os objetivos,

as justificativas e os riscos desta pesquisa. Todas as informações e dados colhidos individualmente são mantidos em sigilo.

4. REFERÊNCIAS

1. Jeste DV, del Carmen R, Lohr JB, Wyatt RJ. Did schizophrenia exist before the eighteenth century? Comprehensive psychiatry. 1985 Nov-Dec;26(6):493-503.

2. Dendle P. Schizophrenia in the early middle ages: some negative evidence. The Australian and New Zealand journal of psychiatry. 2005 Jun;39(6):522.

3. Andreasen NJ. The artist as scientist. Psychiatric diagnosis in Shakespeare's tragedies. JAMA : the journal of the American Medical Association. 1976 Apr 26;235(17):1868-72.

4. Bark NM. Did Shakespeare know schizophrenia? The case of Poor Mad Tom in King Lear. The British journal of psychiatry : the journal of mental science. 1985 Apr;146:436-8.

5. Dieguez S. Balzac's Louis Lambert : schizophrenia before Kraepelin and Bleuler. Frontiers of neurology and neuroscience. 2013;31:10-34.

6. Weiner DB. The apprenticeship of Philippe Pinel: a new document, "observations of Citizen Pussin on the insane". The American journal of psychiatry. 1979 Sep;136(9):1128-34.

7. Weiner DB. Philippe Pinel's "Memoir on Madness" of December 11, 1794: a fundamental text of modern psychiatry. The American journal of psychiatry. 1992 Jun;149(6):725-32.

8. Elkis H. A evolução do conceito de esquizofrenia neste século. Revista Brasileira de Psiquiatria. 2000;22:23-6.

9. DeLisi LE. The concept of progressive brain change in schizophrenia: implications for understanding schizophrenia. Schizophrenia bulletin. 2008 Mar;34(2):312-21.

10. Tandon R, Carpenter WT, Jr. DSM-5 status of psychotic disorders: 1 year prepublication. Schizophrenia bulletin. 2012 May;38(3):369-70.

11. Tandon R. Schizophrenia and other Psychotic Disorders in DSM-5. Clinical schizophrenia & related psychoses. 2013 Apr;7(1):16-9.

12. van Os J, Kenis G, Rutten BP. The environment and schizophrenia. Nature. 2010 Nov 11;468(7321):203-12.

13. American Psychiatric Association., American Psychiatric Association. Task Force on DSM-IV. Diagnostic and statistical manual of mental disorders : DSM-IV-TR. 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2000. xxxvii, 943 p. p.

14. Tandon R, Nasrallah HA, Keshavan MS. Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. Schizophrenia research. 2009 May;110(1-3):1-23.

15. Saha S, Chant D, Welham J, McGrath J. A systematic review of the prevalence of schizophrenia. PLoS medicine. 2005 May;2(5):e141.

16. McGrath J, Saha S, Chant D, Welham J. Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. Epidemiologic reviews. 2008;30:67-76.

17. Mari JJ, Leitão RJ. A epidemiologia da esquizofrenia. Revista Brasileira de Psiquiatria. 2000;22:15-7.

18. Cantor-Graae E, Selten JP. Schizophrenia and migration: a meta-analysis and review. The American journal of psychiatry. 2005 Jan;162(1):12-24.

19. Pedersen CB, Mortensen PB. Evidence of a dose-response relationship between urbanicity during upbringing and schizophrenia risk. Archives of general psychiatry. 2001 Nov;58(11):1039-46.

20. Krabbendam L, van Os J. Schizophrenia and urbanicity: a major environmental influence--conditional on genetic risk. Schizophrenia bulletin. 2005 Oct;31(4):795-9.

21. Penner JD, Brown AS. Prenatal infectious and nutritional factors and risk of adult schizophrenia. Expert review of neurotherapeutics. 2007 Jul;7(7):797-805.

22. Byrne M, Agerbo E, Bennedsen B, Eaton WW, Mortensen PB. Obstetric conditions and risk of first admission with schizophrenia: a Danish national register based study. Schizophrenia research. 2007 Dec;97(1-3):51-9.

23. Ballon JS, Dean KA, Cadenhead KS. Obstetrical complications in people at risk for developing schizophrenia. Schizophrenia research. 2008 Jan;98(1-3):307-11.

24. Mittal VA, Ellman LM, Cannon TD. Gene-environment interaction and covariation in schizophrenia: the role of obstetric complications. Schizophrenia bulletin. 2008 Nov;34(6):1083-94.

25. Henquet C, Murray R, Linszen D, van Os J. The environment and schizophrenia: the role of cannabis use. Schizophrenia bulletin. 2005 Jul;31(3):608-12.

26. Wohl M, Gorwood P. Paternal ages below or above 35 years old are associated with a different risk of schizophrenia in the offspring. European psychiatry : the journal of the Association of European Psychiatrists. 2007 Jan;22(1):22-6.

27. Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA. Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. Schizophrenia research. 2008 Jul;102(1-3):1-18.

28. Petersen L, Mortensen PB, Pedersen CB. Paternal age at birth of first child and risk of schizophrenia. The American journal of psychiatry. 2011 Jan;168(1):82-8.

29. Pedersen CB, Mortensen PB. Family history, place and season of birth as risk factors for schizophrenia in Denmark: a replication and reanalysis. The British journal of psychiatry : the journal of mental science. 2001 Jul;179:46-52.

30. Gottesman II, Wolfgram DL. Schizophrenia genesis : the origins of madness. New York: Freeman; 1991. xiii, 296 p. p.

31. Gottesman, II, Erlenmeyer-Kimling L. Family and twin strategies as a head start in defining prodromes and endophenotypes for hypothetical early-interventions in schizophrenia. Schizophrenia research. 2001 Aug 1;51(1):93-102.

32. Lewis DA, Lieberman JA. Catching up on schizophrenia: natural history and neurobiology. Neuron. 2000 Nov;28(2):325-34.

33. Sørensen HJ, Mortensen EL, Schiffman J, Reinisch JM, Maeda J, Mednick SA. Early developmental milestones and risk of schizophrenia: A 45-year follow-up of the Copenhagen Perinatal Cohort. Schizophrenia research. 2010 5//;118(1–3):41-7.

34. Woodberry KA, Giuliano AJ, Seidman LJ. Premorbid IQ in schizophrenia: a meta-analytic review. The American journal of psychiatry. 2008 May;165(5):579-87.

35. Insel TR. Rethinking schizophrenia. Nature. 2010 Nov 11;468(7321):187-93.

36. Howes OD, Kambeitz J, Kim E, Stahl D, Slifstein M, Abi-Dargham A, et al. The nature of dopamine dysfunction in schizophrenia and what this means for treatment. Archives of general psychiatry. 2012 Aug;69(8):776-86.

37. Egerton A, Chaddock CA, Winton-Brown TT, Bloomfield MA, Bhattacharyya S, Allen P, et al. Presynaptic Striatal Dopamine Dysfunction in People at Ultra-high Risk for Psychosis: Findings in a Second Cohort. Biological psychiatry. 2013 Jan 8.

38. Matsumoto I, Inoue Y, Iwazaki T, Pavey G, Dean B. 5-HT2A and muscarinic receptors in schizophrenia: a postmortem study. Neuroscience letters. 2005 May 13;379(3):164-8.

39. Goff DC, Hill M, Barch D. The treatment of cognitive impairment in schizophrenia. Pharmacology, biochemistry, and behavior. 2011 Aug;99(2):245-53.

40. Rowland LM, Kontson K, West J, Edden RA, Zhu H, Wijtenburg SA, et al. In Vivo Measurements of Glutamate, GABA, and NAAG in Schizophrenia. Schizophrenia bulletin. 2012 Oct 18.

41. Egerton A, Stone JM. The glutamate hypothesis of schizophrenia: neuroimaging and drug development. Current pharmaceutical biotechnology. 2012 Jun;13(8):1500-12.

42. Moghaddam B, Javitt D. From revolution to evolution: the glutamate hypothesis of schizophrenia and its implication for treatment.

Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology. 2012 Jan;37(1):4-15.

43. Gama CS, Lucena DD, Cruz C, Lobato MI, Belmonte-de-Abreu PS. Improvement of schizophrenia negative and positive symptoms with amantadine as add-on therapy to antipsychotics: a case series. Rev Bras Psiquiatr. 2010 Jun;32(2):193-4.

44. Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. Archives of general psychiatry. 2003 Dec;60(12):1187-92.

45. Gejman PV, Sanders AR, Kendler KS. Genetics of schizophrenia: new findings and challenges. Annual review of genomics and human genetics. 2011 Sep 22;12:121-44.

46. Gottesman, II, Shields J. A polygenic theory of schizophrenia. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1967 Jul;58(1):199-205.

47. Allen NC, Bagade S, McQueen MB, Ioannidis JP, Kavvoura FK, Khoury MJ, et al. Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. Nature genetics. 2008 Jul;40(7):827-34.

48. International Schizophrenia C, Purcell SM, Wray NR, Stone JL, Visscher PM, O'Donovan MC, et al. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. Nature. 2009 Aug 6;460(7256):748-52.

49. Wang KS, Liu XF, Aragam N. A genome-wide meta-analysis identifies novel loci associated with schizophrenia and bipolar disorder. Schizophrenia research. 2010 Dec;124(1-3):192-9.

50. Greenwood TA, Swerdlow NR, Gur RE, Cadenhead KS, Calkins ME, Dobie DJ, et al. Genome-wide linkage analyses of 12 endophenotypes for schizophrenia from the consortium on the genetics of schizophrenia. The American journal of psychiatry. 2013 May 1;170(5):521-32.

51. Stefansson H, Ophoff RA, Steinberg S, Andreassen OA, Cichon S, Rujescu D, et al. Common variants conferring risk of schizophrenia. Nature. 2009 Aug 6;460(7256):744-7.

52. Bassett AS, Scherer SW, Brzustowicz LM. Copy number variations in schizophrenia: critical review and new perspectives on concepts of genetics and disease. The American journal of psychiatry. 2010 Aug;167(8):899-914.

53. Kim Y, Zerwas S, Trace SE, Sullivan PF. Schizophrenia genetics: where next? Schizophrenia bulletin. 2011 May;37(3):456-63.

54. Corvin A. Schizophrenia at a Genetics Crossroads: Where to Now? Schizophrenia bulletin. 2013 May 1, 2013;39(3):490-5.

55. Gottesman, II, Shields J. Genetic theorizing and schizophrenia. The British journal of psychiatry : the journal of mental science. 1973 Jan;122(566):15-30.

56. Gottesman, II, Gould TD. The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. The American journal of psychiatry. 2003 Apr;160(4):636-45.

57. John B, Lewis KR. Chromosome variability and geographic distribution in insects. Science. 1966 May 6;152(3723):711-21.

58. McDonald C, Bullmore ET, Sham PC, Chitnis X, Wickham H, Bramon E, et al. Association of genetic risks for schizophrenia and bipolar disorder with specific and generic brain structural endophenotypes. Archives of general psychiatry. 2004 Oct;61(10):974-84.

59. Boos HB, Aleman A, Cahn W, Hulshoff Pol H, Kahn RS. Brain volumes in relatives of patients with schizophrenia: a meta-analysis. Archives of general psychiatry. 2007 Mar;64(3):297-304.

60. Crow TJ. Constraints on concepts of pathogenesis. Language and the speciation process as the key to the etiology of schizophrenia. Archives of general psychiatry. 1995 Dec;52(12):1011-4; discussion 9-24.

61. Crow TJ. The 'big bang' theory of the origin of psychosis and the faculty of language. Schizophrenia research. 2008 Jul;102(1-3):31-52.

62. Li X, Branch CA, DeLisi LE. Language pathway abnormalities in schizophrenia: a review of fMRI and other imaging studies. Current opinion in psychiatry. 2009 Mar;22(2):131-9.

63. Honea R, Crow TJ, Passingham D, Mackay CE. Regional deficits in brain volume in schizophrenia: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies. The American journal of psychiatry. 2005 Dec;162(12):2233-45.

64. Sommer IE, Ramsey NF, Kahn RS. Language lateralization in schizophrenia, an fMRI study. Schizophrenia research. 2001 Oct 1;52(1-2):57-67.

65. Weiss EM, Hofer A, Golaszewski S, Siedentopf C, Brinkhoff C, Kremser C, et al. Brain activation patterns during a verbal fluency test-a functional MRI study in healthy volunteers and patients with schizophrenia. Schizophrenia research. 2004 Oct 1;70(2-3):287-91.

66. van Veelen NM, Vink M, Ramsey NF, Sommer IE, van Buuren M, Hoogendam JM, et al. Reduced language lateralization in first-episode medication-naive schizophrenia. Schizophrenia research. 2011 Apr;127(1-3):195-201.

67. Francis AN, Seidman LJ, Jabbar GA, Mesholam-Gately R, Thermenos HW, Juelich R, et al. Alterations in brain structures underlying language function in young adults at high familial risk for schizophrenia. Schizophrenia research. 2012 Oct;141(1):65-71.

68. Dronkers NF, Plaisant O, Iba-Zizen MT, Cabanis EA. Paul Broca's historic cases: high resolution MR imaging of the brains of Leborgne and Lelong. Brain : a journal of neurology. 2007 May;130(Pt 5):1432-41.

69. White T, Gottesman I. Brain connectivity and gyrification as endophenotypes for schizophrenia: weight of the evidence. Current topics in medicinal chemistry. 2012;12(21):2393-403.

70. Camchong J, Lim KO, Sponheim SR, Macdonald AW. Frontal white matter integrity as an endophenotype for schizophrenia: diffusion tensor imaging in monozygotic twins and patients' nonpsychotic relatives. Frontiers in human neuroscience. 2009;3:35.

71. Hao Y, Yan Q, Liu H, Xu L, Xue Z, Song X, et al. Schizophrenia patients and their healthy siblings share disruption of white matter integrity in the left prefrontal cortex and the hippocampus but not the anterior cingulate cortex. Schizophrenia research. 2009 Oct;114(1-3):128-35.

72. Lobato MI, Belmonte-de-Abreu P, Knijnik D, Teruchkin B, Ghisolfi E, Henriques A. Neurodevelopmental risk factors in schizophrenia. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 2001;34:155-63.

73. Ismail B, Cantor-Graae E, McNeil TF. Minor physical anomalies in schizophrenic patients and their siblings. The American journal of psychiatry. 1998 Dec;155(12):1695-702.

74. Compton MT, Bollini AM, McKenzie Mack L, Kryda AD, Rutland J, Weiss PS, et al. Neurological soft signs and minor physical anomalies in patients with schizophrenia and related disorders, their first-degree biological relatives, and non-psychiatric controls. Schizophrenia research. 2007 8//;94(1–3):64-73.

75. Xu T, Chan RC, Compton MT. Minor physical anomalies in patients with schizophrenia, unaffected first-degree relatives, and healthy controls: a meta-analysis. PloS one. 2011;6(9):e24129.

76. Turetsky BI, Calkins ME, Light GA, Olincy A, Radant AD, Swerdlow NR. Neurophysiological endophenotypes of schizophrenia: the viability of selected candidate measures. Schizophrenia bulletin. 2007 Jan;33(1):69-94.

77. Kumari V, Gray JA, Geyer MA, ffytche D, Soni W, Mitterschiffthaler MT, et al. Neural correlates of tactile prepulse inhibition: a functional MRI study in normal and schizophrenic subjects. Psychiatry research. 2003 Feb 15;122(2):99-113.

78. Cadenhead KS, Swerdlow NR, Shafer KM, Diaz M, Braff DL. Modulation of the startle response and startle laterality in relatives of schizophrenic patients and in subjects with schizotypal personality disorder: evidence of inhibitory deficits. The American journal of psychiatry. 2000 Oct;157(10):1660-8.

79. Kumari V, Das M, Zachariah E, Ettinger U, Sharma T. Reduced prepulse inhibition in unaffected siblings of schizophrenia patients. Psychophysiology. 2005 Sep;42(5):588-94.

80. Thakkar KN, Schall JD, Boucher L, Logan GD, Park S. Response inhibition and response monitoring in a saccadic countermanding task in schizophrenia. Biological psychiatry. 2011 Jan 1;69(1):55-62.

81. Raemaekers M, Jansma JM, Cahn W, Van der Geest JN, van der Linden JA, Kahn RS, et al. Neuronal substrate of the saccadic inhibition deficit in schizophrenia investigated with 3-dimensional event-related functional magnetic resonance imaging. Archives of general psychiatry. 2002 Apr;59(4):313-20.

82. Levy DL, O'Driscoll G, Matthysse S, Cook SR, Holzman PS, Mendell NR. Antisaccade performance in biological relatives of schizophrenia patients: a meta-analysis. Schizophrenia research. 2004 Nov 1;71(1):113-25.

83. Calkins ME, Curtis CE, Iacono WG, Grove WM. Antisaccade performance is impaired in medically and psychiatrically healthy biological relatives of schizophrenia patients. Schizophrenia research. 2004 Nov 1;71(1):167-78.

84. Insel TR, Cuthbert BN. Endophenotypes: bridging genomic complexity and disorder heterogeneity. Biological psychiatry. 2009 Dec 1;66(11):988-9.

85. Yao JK, Keshavan MS. Antioxidants, redox signaling, and pathophysiology in schizophrenia: an integrative view. Antioxidants & redox signaling. 2011 Oct 1;15(7):2011-35.

86. Andreazza AC. Combining redox-proteomics and epigenomics to explain the involvement of oxidative stress in psychiatric disorders. Molecular bioSystems. 2012 Oct;8(10):2503-12.

87. Chevion M, Berenshtein E, Stadtman ER. Human studies related to protein oxidation: protein carbonyl content as a marker of damage. Free radical research. 2000 Nov;33 Suppl:S99-108.

88. Gama CS, Salvador M, Andreazza AC, Kapczinski F, Silva Belmonte-de-Abreu P. Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in schizophrenia: a study of patients treated with haloperidol or clozapine. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. 2006 May;30(3):512-5.

89. Bitanihirwe BK, Woo TU. Oxidative stress in schizophrenia: an integrated approach. Neuroscience and biobehavioral reviews. 2011 Jan;35(3):878-93.

90. Gama CS, Salvador M, Andreazza AC, Lobato MI, Berk M, Kapczinski F, et al. Elevated serum thiobarbituric acid reactive substances in clinically symptomatic schizophrenic males. Neuroscience letters. 2008 Mar 15;433(3):270-3.

91. Kunz M, Gama CS, Andreazza AC, Salvador M, Cereser KM, Gomes FA, et al. Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in different phases of bipolar disorder and in schizophrenia. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. 2008 Oct 1;32(7):1677-81.

92. Magalhaes PV, Jansen K, Pinheiro RT, Colpo GD, da Motta LL, Klamt F, et al. Peripheral oxidative damage in early-stage mood disorders: a nested population-based case-control study. The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum. 2012 Sep;15(8):1043-50.

93. Zhang M, Zhao Z, He L, Wan C. A meta-analysis of oxidative stress markers in schizophrenia. Science China Life sciences. 2010 Jan;53(1):112-24.

94. Wang JF, Shao L, Sun X, Young LT. Increased oxidative stress in the anterior cingulate cortex of subjects with bipolar disorder and schizophrenia. Bipolar disorders. 2009 Aug;11(5):523-9.

95. Raffa M, Atig F, Mhalla A, Kerkeni A, Mechri A. Decreased glutathione levels and impaired antioxidant enzyme activities in drug-naive first-episode schizophrenic patients. BMC psychiatry. 2011;11:124.

96. Pedrini M, Massuda R, Fries GR, de Bittencourt Pasquali MA, Schnorr CE, Moreira JC, et al. Similarities in serum oxidative stress markers and inflammatory cytokines in patients with overt schizophrenia at early and late stages of chronicity. Journal of psychiatric research. 2012 Jun;46(6):819-24.

97. Ben Othmen L, Mechri A, Fendri C, Bost M, Chazot G, Gaha L, et al. Altered antioxidant defense system in clinically stable patients with schizophrenia and their unaffected siblings. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. 2008 Jan 1;32(1):155-9.

98. Chowdari KV, Bamne MN, Nimgaonkar VL. Genetic association studies of antioxidant pathway genes and schizophrenia. Antioxidants & redox signaling. 2011 Oct 1;15(7):2037-45.

99. Paulsen Bda S, de Moraes Maciel R, Galina A, Souza da Silveira M, dos Santos Souza C, Drummond H, et al. Altered oxygen metabolism associated to neurogenesis of induced pluripotent stem cells derived from a schizophrenic patient. Cell transplantation. 2012;21(7):1547-59.

100. Fenton WS, Dickerson F, Boronow J, Hibbeln JR, Knable M. A placebo-controlled trial of omega-3 fatty acid (ethyl eicosapentaenoic acid) supplementation for residual symptoms and cognitive impairment in schizophrenia. The American journal of psychiatry. 2001 Dec;158(12):2071-4.

101. Gama CS, Canever L, Panizzutti B, Gubert C, Stertz L, Massuda R, et al. Effects of omega-3 dietary supplement in prevention of positive, negative and cognitive symptoms: a study in adolescent rats with ketamine-induced model of schizophrenia. Schizophrenia research. 2012 Nov;141(2-3):162-7.

102. Amminger GP, Schafer MR, Papageorgiou K, Klier CM, Cotton SM, Harrigan SM, et al. Long-chain omega-3 fatty acids for indicated prevention of psychotic

disorders: a randomized, placebo-controlled trial. Archives of general psychiatry. 2010 Feb;67(2):146-54.

103. Posner MI, DiGirolamo GJ. Cognitive neuroscience: origins and promise. Psychological bulletin. 2000 Nov;126(6):873-89.

104. Bozikas VP, Kosmidis MH, Kiosseoglou G, Karavatos A. Neuropsychological profile of cognitively impaired patients with schizophrenia. Comprehensive psychiatry. 2006 Mar-Apr;47(2):136-43.

105. Reichenberg A, Harvey PD, Bowie CR, Mojtabai R, Rabinowitz J, Heaton RK, et al. Neuropsychological function and dysfunction in schizophrenia and psychotic affective disorders. Schizophrenia bulletin. 2009 Sep;35(5):1022-9.

106. Ekerholm M, Firus Waltersson S, Fagerberg T, Soderman E, Terenius L, Agartz I, et al. Neurocognitive function in long-term treated schizophrenia: a five-year follow-up study. Psychiatry research. 2012 Dec 30;200(2-3):144-52.

107. Barrett SL, Mulholland CC, Cooper SJ, Rushe TM. Patterns of neurocognitive impairment in first-episode bipolar disorder and schizophrenia. The British journal of psychiatry : the journal of mental science. 2009 Jul;195(1):67-72.

108. Hutton SB, Puri BK, Duncan LJ, Robbins TW, Barnes TRE, Joyce EM. Executive function in first-episode schizophrenia. Psychological Medicine. 1998 //;28(2):463-73.

109. Zhou FC, Xiang YT, Wang CY, Dickerson F, Au RW, Zhou JJ, et al. Characteristics and clinical correlates of prospective memory performance in first-episode schizophrenia. Schizophrenia research. 2012 Mar;135(1-3):34-9.

110. Heaton RK, Gladsjo JA, Palmer BW, Kuck J, Marcotte TD, Jeste DV. Stability and course of neuropsychological deficits in schizophrenia. Archives of general psychiatry. 2001 Jan;58(1):24-32.

111. Ayesa-Arriola R, Rodriguez-Sanchez JM, Perez-Iglesias R, Roiz-Santianez R, Martinez-Garcia O, Sanchez-Moreno J, et al. Long-term (3-year) neurocognitive

effectiveness of antipsychotic medications in first-episode non-affective psychosis: a randomized comparison of haloperidol, olanzapine, and risperidone. Psychopharmacology. 2013 Jun;227(4):615-25.

112. Keefe RS, Perkins DO, Gu H, Zipursky RB, Christensen BK, Lieberman JA. A longitudinal study of neurocognitive function in individuals at-risk for psychosis. Schizophrenia research. 2006 Dec;88(1-3):26-35.

113. Kim KR, Park JY, Song DH, Koo HK, An SK. Neurocognitive performance in subjects at ultrahigh risk for schizophrenia: a comparison with first-episode schizophrenia. Comprehensive psychiatry. 2011 Jan-Feb;52(1):33-40.

114. Valli I, Tognin S, Fusar-Poli P, Mechelli A. Episodic memory dysfunction in individuals at high-risk of psychosis: a systematic review of neuropsychological and neurofunctional studies. Current pharmaceutical design. 2012;18(4):443-58.

115. Gasperoni TL, Ekelund J, Huttunen M, Palmer CG, Tuulio-Henriksson A, Lonnqvist J, et al. Genetic linkage and association between chromosome 1q and working memory function in schizophrenia. American journal of medical genetics Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics. 2003 Jan 1;116B(1):8-16.

116. Sitskoorn MM, Aleman A, Ebisch SJ, Appels MC, Kahn RS. Cognitive deficits in relatives of patients with schizophrenia: a meta-analysis. Schizophrenia research. 2004 Dec 1;71(2-3):285-95.

117. Snitz BE, Macdonald AW, 3rd, Carter CS. Cognitive deficits in unaffected first-degree relatives of schizophrenia patients: a meta-analytic review of putative endophenotypes. Schizophrenia bulletin. 2006 Jan;32(1):179-94.

118. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. Methods in enzymology. 1990;186:464-78.

RESULTADOS[1]

Elevated Serum Protein Oxidative Stress in Siblings of Patients with Schizophrenia [1].

Schizophrenia Research. 2013 Jul;147(2-3):398-9.

doi: 10.1016/j.schres.2013.04.025

Raffael Massuda*, Mariana Pedrini, Ramiro Reckziegel, Monise Costanzi, Pamela Ferrari, Carolina Gubert, Clarissa S. Gama

Laboratory of Molecular Psychiatry, INCT for Translational Medicine, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

* Corresponding author at: Laboratory of Molecular Psychiatry, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, R. Ramiro Barcelos, 2350, Porto Alegre, Brazil. Tel: 555133598845; fax: 555133598846
E-mail address: rfmassuda@gmail.com

ABSTRACT

The impairment in the antioxidant defense in patients with schizophrenia has been shown by many studies and could play an important role in the pathophysiology and development of the disorder. The aim of this study was to examine serum oxidative stress markers in healthy siblings of patients with schizophrenia and compare it with healthy controls. We selected 37 siblings and 37 healthy controls without actual or past psychiatry disorder. We measured thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS), protein carbonyl content (PCC), and glutathione peroxidase activities. We found significant increase in protein oxidative stress in siblings of patients with schizophrenia (higher PCC levels $p = 0.030$). We haven't found differences in TBARS ($p = 0.729$) and Glutathione Peroxidase activity ($p = 0.533$). The present findings provide additional evidence that increased oxidative stress may be an endophenotype and could be related to the pathophysiology of schizophrenia.

[1] Artigo no publicado no periódico Schizophrenia Research.

Figure 1. Oxidative stress biomarkers in SB compared to healthy controls.

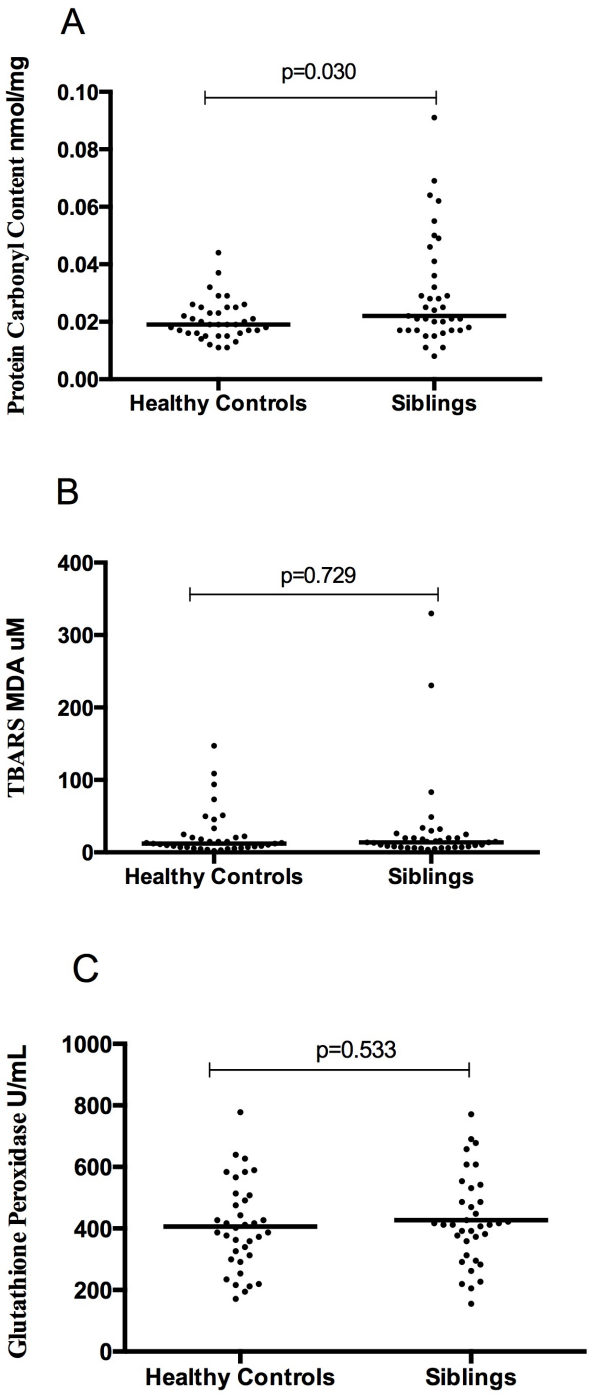


Fig. 1. (A) Serum levels of protein carbonyl content (PCC), (B) Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) levels and (C) glutathione peroxidase (GPx) in siblings of patients with schizophrenia compared with healthy controls. Horizontal lines indicate median in (A) and (B). In (C) the horizontal line indicate the mean. Data points show individual values. Statistical significance is given by the indicated the p value. A and B were analyzed using Mann-Whitney test. C was analyzed using t-test.

Role of funding

This study was supported by grants from CNPq (Universal 470326/2011-5 and PQ 302195/2011-4), FAPERGS (PqG 1009340- 06/2010) and FAPERGS/CNPq (PRONEM 11/2057-2), Brazil. These agencies had no role in the study design, in the acquisition or interpretation of the data, or in writing the report.

Acknowledgments

The authors thank the support provided by the Severe Neuropsychiatric Disorders Staging (SENDS) task force.

Conflicts of interest

The authors have declared no conflict of interest in this matter.

References

Andreazza, A.C., Cassini, C., Rosa, A.R., Leite, M.C., de Almeida, L.M., Nardin, P., Cunha, A.B., Cereser, K.M., Santin, A., Gottfried, C., Salvador, M., Kapczinski, F., Goncalves, C.A., 2007. Serum S100B and antioxidant enzymes in bipolar patients. Journal of psychiatric research 41(6), 523-529.

Arai, M., Yuzawa, H., Nohara, I., Ohnishi, T., Obata, N., Iwayama, Y., Haga, S., Toyota, T., Ujike, H., Arai, M., Ichikawa, T., Nishida, A., Tanaka, Y., Furukawa, A., Aikawa, Y., Kuroda, O., Niizato, K., Izawa, R., Nakamura, K., Mori, N., Matsuzawa, D., Hashimoto, K., Iyo, M., Sora, I., Matsushita, M., Okazaki, Y., Yoshikawa, T., Miyata, T., Itokawa, M., 2010. Enhanced carbonyl stress in a subpopulation of schizophrenia. Archives of general psychiatry 67(6), 589-597.

Ben Othmen, L., Mechri, A., Fendri, C., Bost, M., Chazot, G., Gaha, L., Kerkeni, A., 2008. Altered antioxidant defense system in clinically stable patients with schizophrenia and their unaffected siblings. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry 32(1), 155-159.

Brunelin, J., d'Amato, T., Van Os, J., Costes, N., Suaud Chagny, M.F., Saoud, M., 2010. Increased left striatal dopamine transmission in unaffected siblings of schizophrenia patients in response to acute metabolic stress. Psychiatry research 181(2), 130-135.

Dietrich-Muszalska, A., Olas, B., Glowacki, R., Bald, E., 2009. Oxidative/nitrative modifications of plasma proteins and thiols from patients with schizophrenia. Neuropsychobiology 59(1), 1-7.

Do, K.Q., Cabungcal, J.H., Frank, A., Steullet, P., Cuenod, M., 2009. Redox dysregulation, neurodevelopment, and schizophrenia. Current opinion in neurobiology 19(2), 220-230.

Gama, C.S., Salvador, M., Andreazza, A.C., Kapczinski, F., Silva Belmonte-de-Abreu, P., 2006. Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in schizophrenia: a study of patients treated with haloperidol or clozapine. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry 30(3), 512-515.

Gottesman, II, Gould, T.D., 2003. The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. The American journal of psychiatry 160(4), 636-645.

Martinez-Cengotitabengoa, M., Mac-Dowell, K.S., Leza, J.C., Mico, J.A., Fernandez, M., Echevarria, E., Sanjuan, J., Elorza, J., Gonzalez-Pinto, A., 2012. Cognitive impairment is related to oxidative stress and chemokine levels in first psychotic episodes. Schizophrenia research 137(1-3), 66-72.

Pedrini, M., Massuda, R., Fries, G.R., de Bittencourt Pasquali, M.A., Schnorr, C.E., Moreira, J.C., Teixeira, A.L., Lobato, M.I., Walz, J.C., Belmonte-de-Abreu, P.S., Kauer-Sant'Anna, M., Kapczinski, F., Gama, C.S., 2012. Similarities in serum oxidative stress markers and inflammatory cytokines in patients with overt schizophrenia at early and late stages of chronicity. Journal of psychiatric research 46(6), 819-824.

Verbal memory impairment in healthy siblings of patients with schizophrenia. [2]

Raffael Massuda*, Joana Bücker, Leticia Czepielewski, Joana Narvaez, Mariana Pedrini, Barbara Tietbohl, Andre S. Teixeira, Ana C. Loredo, Mirela P. Vasconcelos-Moreno, Mireia Sulzbach, Pedro Goi, Paulo Belmonte-de-Abreu, Clarisa S. Gama

Laboratory of Molecular Psychiatry, INCT for Translational Medicine, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

* Corresponding author at: Laboratory of Molecular Psychiatry, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, R. Ramiro Barcelos, 2350, Porto Alegre, Brazil. Tel: 555133598845; fax: 555133598846
E-mail address: rfmassuda@gmail.com

Abstract:

Neurocognitive deficits have been recognized as a core feature of schizophrenia (SZ) and are present in most patients. Verbal memory (VM), working memory (WM), and executive function (EF) are domains commonly impaired in patients with SZ. These latter domains have been related to the genetic risk of the disorder characterizing as possible endophenotypes. In order to study neurocognitive endophenotypes in a Brazilian population with genetic risks to develop SZ, we measured VM, WM and EF in 90 subjects (45 unaffected siblings of patients with SZ and 45 matched healthy controls). No differences were found in EF ($p = 0.42$) and WM ($p = 0.19$ to Letter-Number Sequencing and $p=0.43$ to Digit Span). However, in VM, siblings of patients performed worse than controls on the delayed recall test ($p<0.01$, $d=0.6$) and on the total recall test ($p<0.05$, $d=0.5$). Our results suggest that VM impairment could be considered an endophenotype of SZ.

[2] Submetido ao periódico Schizophrenia Research.

Table 1.

Characteristics of healthy controls and siblings of patients with schizophrenia.

	Healthy Controls (n=45)	Siblings (n=45)	p-Value
Gender (Male/Female)	22/23	21/24	0.833[b]
Age [a]	38.33 (11.28)	39.56 (12.09)	0.621[c]
Age of education [a]	12.02 (3.00)	12.08 (3.62)	0.937[c]
HVLT-R* total recall [a]	24.09 (5.01)	21.76 (5.06)	0.030[c***]
HVLT-R* delayed recall [a]	8.36 (2.16)	7.11 (2.28)	0.009[c***]
Stroop Test – Interference [a]	54.25 (22.94)	57.62 (35.73)	0.595[c]
WAIS** letter/number sequencing [a]	8.60 (2.47)	7.89 (2.65)	0.191[c]
WAIS Digit Span [a]	8.27 (2.82)	7.82 (2.53)	0.434[c]

*HVLT-R – Hopkins Verbal Learning Test – Revised

**WAIS - Wechsler Adult Intelligence Scale

*** $p<0.05$

[a] Mean (S.D.).

[b] Chi-Square.

[c] T-test.

Role of funding

This study was supported by grants from CNPq (Universal 470326/2011-5 and PQ 302195/2011-4), FAPERGS (PqG 1009340- 06/2010) and FAPERGS/CNPq (PRONEM 11/2057-2), Brazil. These agencies had no role in the study design, in the acquisition or interpretation of the data, or in writing the report.

Conflicts of interest

The authors have declared no conflict of interest in this matter.

References

Aksoy-Poyraz, C., Poyraz, B.C., Turan, S., Arikan, M.K., 2011. Minor physical anomalies and neurological soft signs in patients with schizophrenia and their siblings. Psychiatry research 190(1), 85-90.

Allen, A.J., Griss, M.E., Folley, B.S., Hawkins, K.A., Pearlson, G.D., 2009. Endophenotypes in schizophrenia: a selective review. Schizophrenia research 109(1-3), 24-37.

Barrett, S.L., Mulholland, C.C., Cooper, S.J., Rushe, T.M., 2009. Patterns of neurocognitive impairment in first-episode bipolar disorder and schizophrenia. The British journal of psychiatry : the journal of mental science 195(1), 67-72.

Brandt, J., Benedict, R.H.B., 2001. Hopkins Verbal Learning Test-Revised. Professional Manual. Psychological Assessment Resources., Lutz, FL.

Callicott, J.H., Egan, M.F., Mattay, V.S., Bertolino, A., Bone, A.D., Verchinksi, B., Weinberger, D.R., 2003. Abnormal fMRI response of the dorsolateral prefrontal cortex in cognitively intact siblings of patients with schizophrenia. The American journal of psychiatry 160(4), 709-719.

Chan, R.C., Gottesman, II, Ge, X., Sham, P.C., 2010. Strategies for the study of neuropsychiatric disorders using endophenotypes in developing countries: a potential databank from china. Frontiers in human neuroscience 4, 207.

Ekerholm, M., Firus Waltersson, S., Fagerberg, T., Soderman, E., Terenius, L., Agartz, I., Jonsson, E.G., Nyman, H., 2012. Neurocognitive function in long-term treated schizophrenia: a five-year follow-up study. Psychiatry research 200(2-3), 144-152.

Gottesman, II, Gould, T.D., 2003. The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. The American journal of psychiatry 160(4), 636-645.

Heaton, R.K., Gladsjo, J.A., Palmer, B.W., Kuck, J., Marcotte, T.D., Jeste, D.V., 2001. Stability and course of neuropsychological deficits in schizophrenia. Archives of general psychiatry 58(1), 24-32.

Houx, P.J., Jolles, J., Vreeling, F.W., 1993. Stroop interference: Aging effects assessed with the stroop color-word test. Experimental Aging Research 19(3), 209-224.

Jablensky, A., Morar, B., Wiltshire, S., Carter, K., Dragovic, M., Badcock, J.C., Chandler, D., Peters, K., Kalaydjieva, L., 2011. Polymorphisms associated with normal memory variation also affect memory impairment in schizophrenia. Genes, brain, and behavior 10(4), 410-417.

Keefe, R.S., Perkins, D.O., Gu, H., Zipursky, R.B., Christensen, B.K., Lieberman, J.A., 2006. A longitudinal study of neurocognitive function in individuals at-risk for psychosis. Schizophrenia research 88(1-3), 26-35.

Lencz, T., Smith, C.W., McLaughlin, D., Auther, A., Nakayama, E., Hovey, L., Cornblatt, B.A., 2006. Generalized and specific neurocognitive deficits in prodromal schizophrenia. Biological psychiatry 59(9), 863-871.

Massuda, R., Pedrini, M., Reckziegel, R., Costanzi, M., Ferrari, P., Gubert, C., Gama, C.S., 2013. Elevated Serum Protein Oxidative Stress in Siblings of Patients with Schizophrenia. Schizophenia Research [ahead of print].

Reichenberg, A., 2010. The assessment of neuropsychological functioning in schizophrenia. Dialogues in clinical neuroscience 12(3), 383-392.

Reichenberg, A., Harvey, P.D., Bowie, C.R., Mojtabai, R., Rabinowitz, J., Heaton, R.K., Bromet, E., 2009. Neuropsychological function and dysfunction in schizophrenia and psychotic affective disorders. Schizophrenia bulletin 35(5), 1022-1029.

Sanchez-Torres, A.M., Basterra, V., Moreno-Izco, L., Rosa, A., Fananas, L., Zarzuela, A., Peralta, V., Cuesta, M.J., 2013. Executive functioning in schizophrenia spectrum disorder patients and their unaffected siblings: a ten-year follow-up study. Schizophrenia research 143(2-3), 291-296.

Saykin, A.J., Johnson, S.C., Flashman, L.A., McAllister, T.W., Sparling, M., Darcey, T.M., Moritz, C.H., Guerin, S.J., Weaver, J., Mamourian, A., 1999. Functional differentiation of medial temporal and frontal regions involved in processing novel and familiar words: an fMRI study. Brain : a journal of neurology 122 (Pt 10), 1963-1971.

Simons, C.J., van Winkel, R., Group, 2012. Intermediate Phenotype Analysis of Patients, Unaffected Siblings, and Healthy Controls Identifies VMAT2 as a Candidate Gene for Psychotic Disorder and Neurocognition. Schizophrenia bulletin.

Sitskoorn, M.M., Aleman, A., Ebisch, S.J., Appels, M.C., Kahn, R.S., 2004. Cognitive deficits in relatives of patients with schizophrenia: a meta-analysis. Schizophrenia research 71(2-3), 285-295.

Skelley, S.L., Goldberg, T.E., Egan, M.F., Weinberger, D.R., Gold, J.M., 2008. Verbal and visual memory: characterizing the clinical and intermediate phenotype in schizophrenia. Schizophrenia research 105(1-3), 78-85.

Snitz, B.E., Macdonald, A.W., 3rd, Carter, C.S., 2006. Cognitive deficits in unaffected first-degree relatives of schizophrenia patients: a meta-analytic review of putative endophenotypes. Schizophrenia bulletin 32(1), 179-194.

Stroop, J.R., 1935. Studies of interference in serial verbal reactions. Journal of Experimental Psychology 18(6), 643-662.

Toulopoulouand, T., Murray, R.M., 2004. Verbal memory deficit in patients with schizophrenia: an important future target for treatment. Expert review of neurotherapeutics 4(1), 43-52.

Turetsky, B.I., Calkins, M.E., Light, G.A., Olincy, A., Radant, A.D., Swerdlow, N.R., 2007. Neurophysiological endophenotypes of schizophrenia: the viability of selected candidate measures. Schizophrenia bulletin 33(1), 69-94.

Wechsler, D., 1997. WAIS-III: Wechsler adult intelligence scale, 3rd ed. Psychological Corporation, San Antonio, TX.

Woodward, N.D., Waldie, B., Rogers, B., Tibbo, P., Seres, P., Purdon, S.E., 2009. Abnormal prefrontal cortical activity and connectivity during response selection in first episode psychosis, chronic schizophrenia, and unaffected siblings of individuals with schizophrenia. Schizophrenia research 109(1-3), 182-190.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

A partir dos dados apresentados, nossos resultados sugerem que tanto memória verbal quanto estresse oxidativo proteico podem ser considerados endofenótipos de esquizofrenia.

Nossa hipótese a priori, baseados em estudos prévios em que a Glutationa Peroxidase apresentou-se reduzida em irmãos de portadores de pacientes com esquizofrenia, era que o estresse oxidativo poderia ser um endofenótipo de esquizofrenia. Porém nossos resultados nos surpreenderam. Enquanto não houve diferença nos níveis de Glutationa Peroxidase, o achado de que o estresse oxidativo proteico estaria aumentado em irmãos de portadores de esquizofrenia é um resultado novo na literatura científica.

O papel do estresse oxidativo na esquizofrenia não é completamente compreendido, e esses resultados podem trazer mais informações sobre a sua complexa relação com a doença. É possível que o estresse oxidativo proteico não seja apenas consequência da doença ou do uso de antipsicóticos, e sim, consequência de um risco genético. Somado a outros fatores, o aumento da carbonilização proteica pode fazer parte da base fisiopatológica da esquizofrenia. São necessários mais estudos em diferentes grupos para confirmar nossos achados, outros, ainda, para aprofundar o papel do estresse oxidativo. Estudos longitudinais com pacientes em pródromos e até mesmo o acompanhamento dos indivíduos em risco poderiam ajudar a compreender melhor a fisiopatologia da esquizofrenia e sua relação com o estresse oxidativo.

Não há como não relacionar, ao menos em teoria, os dados obtidos nesse estudo com resultados que alguns agentes antioxidantes, especialmente o ômega 3, apresentam. Uma possível proteção desse agente ao desenvolvimento da esquizofrenia trouxe com mais força a necessidade de entendimento da ação do ômega 3 e o processo

patológico a que o estresse oxidativo está relacionado. Muitos achados em esquizofrenia têm orbitado por esse tema.

O resultado de prejuízo de memória verbal encontrado em nosso estudo confirma e soma dados à literatura de que, em uma população brasileira, a memória verbal pode ser considerada um endofenótipo da esquizofrenia. Estudos com diferentes populações têm trazido resultados semelhantes.

Em indivíduos com esquizofrenia, a memória verbal tem sido associada com funcionalidade. Embora esse não tenha sido o foco inicial do nosso projeto, futuros estudos da funcionalidade em indivíduos portadores e em risco genético de desenvolver esquizofrenia são importantes para melhor identificar e explorar essa relação.

Nossos resultados podem ser considerados como objeto de novos estudos prospectivos. Não sabemos se esses indivíduos que apresentaram maior estresse oxidativo proteico ou maior prejuízo em memória verbal não vão desenvolver esquizofrenia no futuro. Um acompanhamento de longo prazo é indicado, para, inclusive, avaliar se esses fatores, além de serem considerados endofenótipos, possam ser considerados fatores de risco para desenvolvimento da esquizofrenia.

8. ANEXOS

8.1 Outros artigos publicados com foco em esquizofrenia

8.1.1 Artigo anexo 1 (Resumo)

Schizophrenia Research. 2012 Nov;141(2-3):162-7.

doi: 10.1016/j.schres.2012.08.002.

Effects of omega-3 dietary supplement in prevention of positive, negative and cognitive symptoms: a study in adolescent rats with ketamine-induced model of schizophrenia.

Gama CS, Canever L, Panizzutti B, Gubert C, Stertz L, Massuda R, Pedrini M, de Lucena DF, Luca RD, Fraga DB, Heylmann AS, Deroza PF, Zugno AI.

Laboratory of Molecular Psychiatry, INCT for Translational Medicine, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil. clarissasgama@gmail.com

Omega-3 has shown efficacy to prevent schizophrenia conversion in ultra-high risk population. We evaluated the efficacy of omega-3 in preventing ketamine induced effects in an animal model of schizophrenia and its effect on brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Omega-3 or vehicle was administered in Wistar male rats, both groups at the 30th day of life for 15days. Each group was split in two to receive along the following 7days ketamine or saline. Locomotor and exploratory activities, memory test and social interaction between pairs were evaluated at the 52nd day of life. Prefrontal-cortex, hippocampus and

striatum tissues were extracted right after behavioral tasks for mRNA BDNF expression analysis. Bloods for serum BDNF were withdrawn 24h after the end of behavioral tasks. Locomotive was increased in ketamine-treated group compared to control, omega-3 and ketamine plus omega-3 groups. Ketamine group had fewer contacts and interaction compared to other groups. Working memory and short and long-term memories were significantly impaired in ketamine group compared to others. Serum BDNF levels were significantly higher in ketamine plus omega-3 group. There was no difference between groups in prefrontal-cortex, hippocampus and striatum for mRNA BDNF expression. Administration of omega-3 in adolescent rats prevents positive, negative and cognitive symptoms in a ketamine animal model of schizophrenia. Whether these findings are consequence of BDNF increase it is unclear. However, this study gives compelling evidence for larger clinical trials to confirm the use of omega-3 to prevent schizophrenia and for studies to reinforce the beneficial role of omega-3 in brain protection.

8.1.2 Artigo anexo 2 (Resumo):

Journal of Psychiatric Research. 2012 Jun;46(6):819-24.

doi: 10.1016/j.jpsychires.2012.03.019.

Similarities in serum oxidative stress markers and inflammatory cytokines in patients with overt schizophrenia at early and late stages of chronicity.

Pedrini M, Massuda R, Fries GR, de Bittencourt Pasquali MA, Schnorr CE, Moreira JC, Teixeira AL, Lobato MI, Walz JC, Belmonte-de-Abreu PS, Kauer-Sant'Anna M, Kapczinski F, Gama CS.

Laboratory of Molecular Psychiatry, INCT for Translational Medicine, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

Schizophrenia (SZ) is a debilitating neurodevelopmental disorder that strikes at a critical period of a young person's life. Its pathophysiology could be the result of deregulation of synaptic plasticity, with downstream alterations of inflammatory

immune processes regulate by cytokines, impaired antioxidant defense and increased lipid peroxidation. The aim of this study was to examine serum oxidative stress markers and inflammatory cytokines in early and late phases of chronic SZ. Twenty-two patients at early stage (within first 10 years of a psychotic episode), 39 at late stage (minimum 10 years after diagnosis of SZ) and their respective matched controls were included. Each subject had 5 ml blood samples collected by venipuncture to examined thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS), total reactive antioxidant potential (TRAP), protein carbonyl content (PCC), Interleukins 6 and 10 (IL-6, IL-10) and tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha). TBARS, IL-6 and PCC levels were significantly higher in patients with SZ at early and late stages than in controls. There were no differences for TRAP and TNF-alpha levels in patients with SZ at early and late stages than in controls. IL-10 levels were decreased in patients at late stage and a decrease trend in early stage was found. Results provided evidence consistent with comparable biological markers across chronic SZ. The concept of biochemical staging proposed by others for bipolar disorder is not seen in this cohort of patients with SZ, at least for cytokines and oxidative stress markers. Our findings reinforce the need of assessment of individuals in ultra high risk to develop psychosis and first-episode population.

8.1.3 Artigo anexo 3 (Resumo):

Schizophrenia Research 2012 May;137(1-3):1-6.
doi: 10.1016/j.schres.2012.03.013.

Meeting report: the Schizophrenia International Research Society (SIRS) South America Conference (August 5-7, 2011).

Massuda R, Chaves C, Trzesniak C, Machado-de-Sousa JP, Zanetti MV, Murray RM, Gattaz WF, Busatto GF.

Department of Psychiatry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.

On August 5-7, 2011, São Paulo was home to the first regional meeting of the Schizophrenia International Research Society (SIRS). Over 400 people from many countries attended the activities and contributed with around 200 submissions for oral and poster presentations. This article summarizes the data presented during the meeting, with an emphasis on the plenary talks and sessions for short oral presentations. For information on the poster presentations, readers are referred to the special issue of Revista de Psiquiatria Clínica (Brazil) dedicated to the conference (available at: http://www.hcnet.usp.br/ipq/revista/vol38/s1/).

8.1.4 Artigo anexo 4 (Resumo):

Journal of Psychiatric Research

doi: 10.1016/j.jpsychires.2013.06.018

Mitochondrial activity and oxidative stress markers in peripheral blood mononuclear cells of patients with bipolar disorder, schizophrenia, and healthy subjects.

Gubert C, Stertz L, Pfaffenseller B, Panizzutti BS, Rezin GT, Massuda R, Streck EL, Gama CS, Kapczinski F, Kunz M.

Laboratório de Psiquiatria Molecular, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Medicina Translacional (INCT-TM), Porto Alegre, Brazil; Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

Evidence suggests that mitochondrial dysfunction is involved in the pathophysiology of psychiatric disorders such as schizophrenia (SZ) and bipolar disorder (BD). However, the exact mechanisms underlying this dysfunction are not well understood. Impaired activity of electron transport chain (ETC) complexes has been described in these disorders and may reflect changes in mitochondrial metabolism and oxidative stress markers. The objective of this study was to compare ETC complex activity and

protein and lipid oxidation markers in 12 euthymic patients with BD type I, in 18 patients with stable chronic SZ, and in 30 matched healthy volunteers. Activity of complexes I, II, and III was determined by enzyme kinetics of mitochondria isolated from peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). Protein oxidation was evaluated using the protein carbonyl content (PCC) method, and lipid peroxidation, the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) assay kit. A significant decrease in complex I activity was observed ($p = 0.02$), as well as an increase in plasma levels of TBARS ($p = 0.00617$) in patients with SZ when compared to matched controls. Conversely, no significant differences were found in complex I activity ($p = 0.17$) or in plasma TBARS levels ($p = 0.26$) in patients with BD vs. matched controls. Our results suggest that mitochondrial complex I dysfunction and oxidative stress play important roles in the pathophysiology of SZ and may be used in potential novel adjunctive therapy for SZ, focusing primarily on cognitive impairment and disorder progression.

8.1.5 Artigo anexo 5 (Resumo):

Cell Transplantation 2012;21(7):1547-59.

doi: 10.3727/096368911X600957

Altered oxygen metabolism associated to neurogenesis of induced pluripotent stem cells derived from a schizophrenic patient.

Paulsen Bda S, de Moraes Maciel R, Galina A, Souza da Silveira M, dos Santos Souza C, Drummond H, Nascimento Pozzatto E, Silva H Jr, Chicaybam L, Massuda R, Setti-Perdigão P, Bonamino M, Belmonte-de-Abreu PS, Gonçalves Castro N, Brentani H, Rehen SK.

Laboratório Nacional de Células-Tronco Embrionárias, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

Schizophrenia has been defined as a neurodevelopmental disease that causes changes in the process of thoughts, perceptions, and emotions, usually leading to a mental deterioration and affective blunting. Studies have shown altered cell respiration and oxidative stress response in schizophrenia; however, most of the knowledge has been acquired from postmortem brain analyses or from nonneural cells. Here we describe that neural cells, derived from induced pluripotent stem cells generated from skin fibroblasts of a schizophrenic patient, presented a twofold increase in extramitochondrial oxygen consumption as well as elevated levels of reactive oxygen species (ROS), when compared to controls. This difference in ROS levels was reverted by the mood stabilizer valproic acid. Our model shows evidence that

metabolic changes occurring during neurogenesis are associated with schizophrenia, contributing to a better understanding of the development of the disease and highlighting potential targets for treatment and drug screening.

8.2 Protocolo utilizado no estudo.

ESTUDO DA COGNIÇÃO E NEUROTROFINAS EM IRMÃOS DE PORTADORES DE ESQUIZOFRENIA

CRF – SZ
Irmãos

INICIAIS

CÓDIGO DO SUJEITO (irmão/irmã com SZ)

Obs.: Utilizar somente caneta com tinta preta para o preenchimento.

SCREENING

Data: ___ / ___ / _____

☐ Marcação da Avaliação Psicológica (visita W00-Baseline)

☐ Agendar Coleta de Sangue

Nome, assinatura e carimbo do médico responsável

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA IRMÃOS DE PACIENTES:

Nome: Data de Nascimento:

Pesquisador Responsável: Clarissa Severino Gama

Pesquisador Executor: Raffael Massuda

Gostaríamos de convidar você. a participar de um estudo cientifico, e, antes de mais nada, gostaríamos que você tomasse conhecimento do que ele envolve.Damos abaixo alguns esclarecimentos sobre dúvidas que você possa ter. Em caso de qualquer outra dúvida quanto ao estudo e o que ele envolve e sobre os seus direitos, você deverá contatar o médico psiquiatra Raffael Massuda ou a médica psiquiatra Clarissa Severino Gama pelo telefone: 2101845 ou pelo endereço: Laboratório de Psiquiatria Molecular, Rua Ramiro Barcellos, 2350 - CEP 90035-903 Bairro Rio Branco - *Porto Alegre* - RS.

Qual o objetivo desta pesquisa?

Conhecer algumas características clínicas dos pacientes portadores de esquizofrenia e compará-las com seus irmãos. Serão medidos no sangue três grupos de substancias: marcadores de inflamação (chamados interleucinas), neurotrofinas (proteínas que existem no cérebro que podem ser medidas no sangue) e marcadores de stress oxidativo. Esses grupos de substancias, quando analisadas juntas são utilizadas para verificarmos que as doenças psiquiátricas tem alterações sistêmicas (em todo o corpo). Queremos, primeiro, verificar como essas substancias estão presentes nos sangue dos pacientes e depois comparar com irmãos de pacientes, junto a isso queremos correlacionar essas alterações com a cognição, isso para ver se existe associação entre alterações inflamatórias e cognição em pacientes e familiares de primeiro grau. Ou seja, este estudo tem por objetivo, de uma forma geral, conhecer um pouco melhor como "funciona" o esquizofrenia.

O que acontecerá neste estudo?

Após os pacientes e familiares responderem às questões em estudo através de questionários, serão feito alguns testes de perguntas que durará cerca de 60 minutos, com uma pausa se o paciente se cansar. Será feita também uma coleta de 5 mls sangue para exame. Este exame será utilizado apenas para observar as alterações nos três grupos de substancias acima descritos.

Quais os benefícios em participar deste estudo?

Você não terá benefícios diretos na participação desse estudo, porém a sua participação poderá proporcionar ajuda no desenvolvimento de maior conhecimento da esquizofrenia e principalmente em relação às causas da doença e como ela funciona.

HCPA / GPPG
VERSÃO APROVADA
05/10/2010

Quais são os direitos dos participantes?

Os pesquisadores deste estudo podem precisar examinar os seus registros, a fim de verificar as informações para o objetivo deste estudo. No entanto, os seus registros médicos serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados deste estudo poderão ser enviados para publicação em um jornal científico, mas você em nenhum momento será identificado por nome. Sua participação no estudo é voluntária, de forma que caso você decida não participar, isto não afetará o tratamento normal ao que o paciente tem direito.

Se durante a avaliação em que serão aplicadas escalas diagnosticas, for constatado algum diagnostico psiquiátrico, o voluntario será orientado a procurar a rede básica de saúde para uma melhor avaliação e conduta.

Todo o material coletado será descartado após a realização desse projeto (escalas e soro sanguineo) e não será utilizado para nenhum outro fim. Nenhum uso comercial do referido material será feito.

Quais são os riscos que envolvem este estudo?

Esta pesquisa é considerada como de risco mínimo para a saúde, podendo ocorrer apenas um mal-estar passageiro ou manchas roxas no local da coleta de sangue. Seu nome e seus dados serão mantidos em sigilo pelos pesquisadores, sendo estes dados utilizados somente para pesquisa. Declaro que:

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

Nome do Paciente:_____

Assinatura do Paciente:_____

Data: _____

Nome do Pesquisador Responsável: _____

Assinatura do Pesquisador responsável: _____

Data: _____

HCPA / GPPG
VERSÃO APROVADA
05/10/2010
Nº 100348

IDENTIFICAÇÃO

Prontuário HCPA: _____

Nome Completo:_____

Sexo: ( ) 1- masculino ( ) 2- feminino

Data de nascimento: ___ / ___ / _____ Idade: _____ anos

Etnia: ( ) 1- branco ( ) 2- não-branco

Situação Conjugal: ( ) 1- solteiro ( ) 2- casado ou companheiro fixo
( ) 3- separado ou divorciado ( ) 4- viúvo

Ocupação: ( ) 1- estudante ( ) 2- com ocupação (remunerada)
( ) 3- sem ocupação (não aposentado) ( ) 4- dona de casa
( ) 5- em auxílio-doença ( ) 6- aposentado por invalidez
( ) 7- aposentado por tempo serviço

Escolaridade: _____ Grau: ( ) 1- Completo ( ) 2- Incompleto
(____ anos de estudo completos)

Repetência escolar: _____ anos repetidos

Sabe ler e escrever? ( ) 1- sim ( ) 2- não

Tabagismo Passado: ( ) 1- sim ( ) 2- não Se sim, tempo de uso: _____ (anos)

Tabagismo Atual: ( ) 1- sim ( ) 2- não Se sim, maior n° cigarros/dia: _____

Peso atual (medido): _____ (Kg) Altura (medida): _____ (m)

IMC: _____ [Peso ÷ (altura)^2] Circunferência da cintura:_____

Tem diagnóstico psiquiátrico atual: ( ) 1 – Sim ( ) 2- Não

Quais: 1. _____

2. _____

3. _____

4. _____

Faz atualmente uso de psicofármacos: ( ) 1 – Sim ( ) 2- Não (Se sim, acrescentar medicação no quadro de medicações)

Teve, no passado, diagnóstico psiquiátrico

Quais: 1. _____

2. _____

3. _____

4. _____

Fez, no passado, uso de psicofármacos: ( ) 1 – Sim (Inserir tempo.) ( ) 2- Não.

Quais: 1. _____

2. _____

3. _____

4. _____

Vive atualmente com o irmão SZ: ( ) 1 – Sim ( ) 2- Não;

Se sim, quanto tempo apos o diagnóstico _____ (Anos)

Viveu com o irmão apos o diagnóstico: ( ) 1 – Sim ( ) 2- Não;

Se sim, quanto tempo _____ (Anos). Quanto tempo afastado _____ (Anos)

Tem diagnóstico de doenças crônicas: ( ) 1 – Sim ( ) 2- Não

Quais: 1. _____

2. _____

3. _____

4. _____

Faz uso de medicação para doenças crônicas: ( ) 1 – Sim ( ) 2- Não (inserir no quadro medicações)

Endereço : _____

Cidade: _____ CEP: _____-____

Telefone para contato: 1- _____

2- _____

Familiar/Responsável:

Nome: _____ Telefone: _____

Data: ___ / ___ / _____

Medicações Atuais (TODAS), em uso e respectivas doses:

Medicação (nome genérico)	Dose/dia (com unidade) ou total de comprimidos/cápsulas ou outras formas utilizadas	Finalidade
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
7.		
8.		
9.		
10.		

Evolução da consulta médica:

Nome e assinatura do médico responsável

ESCALA BREVE DE FUNCIONAMENTO (FAST)

Nome:_____Data:_____
Prontuário:_____Sexo:( )Feminino ( )Masculino Idade:_____
Diagnóstico:_____
Medicação:_____
Tempo: _____min

Qual é o grau de dificuldade em relação aos seguintes aspectos?

Por favor, pergunte ao paciente ao paciente as frases abaixo e responda a que melhor descreve seu grau de dificuldade. Para responder utilize a seguinte escala:

(0) nenhuma ; (1) pouca; (2) bastante; (3) imensa

AUTONOMIA	(0)	(1)	(2)	(3)
1. Ser responsável pelas tarefas de casa	(0)	(1)	(2)	(3)
2. Morar sozinho	(0)	(1)	(2)	(3)
3. Fazer as compras da casa	(0)	(1)	(2)	(3)
4. Cuidar de si mesmo (aspecto físico, higiene...)				
TRABALHO	(0)	(1)	(2)	(3)
5. Realizar um trabalho remunerado	(0)	(1)	(2)	(3)
6. Terminar as tarefas tão rápido quanto necessário	(0)	(1)	(2)	(3)
7. Obter o rendimento previsto no trabalho	(0)	(1)	(2)	(3)
8. Trabalhar de acordo com seu nível de escolaridade	(0)	(1)	(2)	(3)
9. Ser remunerado de acordo com o cargo que ocupa				
COGNIÇÃO	(0)	(1)	(2)	(3)
10. Concentrar-se em uma leitura ou filme	(0)	(1)	(2)	(3)
11. Fazer cálculos mentais	(0)	(1)	(2)	(3)
12. Resolver adequadamente os problemas	(0)	(1)	(2)	(3)
13. Lembrar o nome de pessoas novas	(0)	(1)	(2)	(3)
14. Aprender uma nova informação				
FINANÇAS	(0)	(1)	(2)	(3)
15. Administrar seu próprio dinheiro	(0)	(1)	(2)	(3)
16. Fazer compras equilibradas				
RELAÇÕES INTERPESSOAIS	(0)	(1)	(2)	(3)
17. Manter uma amizade	(0)	(1)	(2)	(3)
18. Participar de atividades sociais	(0)	(1)	(2)	(3)
19. Dar-se bem com as pessoas à sua volta	(0)	(1)	(2)	(3)
20. Convivência familiar	(0)	(1)	(2)	(3)
21. Relações sexuais satisfatórias	(0)	(1)	(2)	(3)
22. Capaz de defender os próprios interesses				
LAZER	(0)	(1)	(2)	(3)
23. Praticar esporte ou exercício	(0)	(1)	(2)	(3)
24. Ter atividade de lazer				

FORMA 2

Categorias Semânticas: Utensílios de Cozinha; tipos de bebida alcoólica; armas

Nome:
_____
Sexo: _____Idade: _____ Data nascimento: _____
Aplicador : _____ Data da aplicação : _____

Lista de Palavras	Lista 1	Lista 2	Lista 3	Recuperação (20-25 min.)
Garfo				
Vodca				
Frigideira				
Revólver				
Espada				
Xícara				
Whisky				
Cerveja				
Pote				
Bomba				
Rifle				
Vinho				
T = Resp. Corretas				
			Tempo:	Tempo:

RECONHECIMENTO TARDIO

1	**colher**	**S**	**N**	**13**	**faca**	**S**	**N**
2	**REVOLVER**	**S**	**N**	**14**	**VODCA**	**S**	**N**
3	**Boneca**	**S**	**N**	**15**	**truta**	**S**	**N**
4	**cachaça**	**S**	**N**	**16**	**BOMBA**	**S**	**N**
5	**GARFO**	**S**	**N**	**17**	**FRIGIDEIRA**	**S**	**N**
6	**POTE**	**S**	**N**	**18**	**ouro**	**S**	**N**
7	**Sanfona**	**S**	**N**	**19**	**VINHO**	**S**	**N**
8	**abridor de lata**	**S**	**N**	**20**	**Limão**	**S**	**N**
9	**ESPADA**	**S**	**N**	**21**	**XÍCARA**	**S**	**N**
10	**lápis**	**S**	**N**	**22**	**WHISKY**	**S**	**N**
11	**canhão**	**S**	**N**	**23**	**Conhaque**	**S**	**N**
12	**CERVEJA**	**S**	**N**	**24**	**RIFLE**	**S**	**N**

Total de acertos: _____/12
Erros: Recuperação semântica de falsos positivos: _____/6 (claro)
Erros: Recuperação semântica de falsos positivos: _____/6 (escuro)
Total de erros (falsos positivos): _____/12

	Raw Score	T-Score
Total de Recuperação (total de respostas corretas nas listas 1, 2 e 3)		
Recuperação Tardia (lista 4)		
Retenção (%): (Lista 4/ soma de lista 2 + lista 3) x 100		
Discriminação de Reconhecimento (total no R corretas – total de falsos positivos)		

Normative table (Appendix A): _____

STROOP:

	Erros	Tempo
Palavras		
Cores		
Palavras-Cores		

Protocolo WAIS-III:

Obs:. Protocolo usado somente para pesquisa.

1. DÍGITOS:

Aplicar sempre as 2 tentativas.

Interromper após **erro nas 2 tentativas** do mesmo item.

Dígitos em ordem direta 1ªtent. / resp.	**Ponto 1ª tent.**	**2ªtent. / resp.**	**Ponto 2ª tent.**	**Pontos**
1. 1-7		6-3		**0 1 2**
2. 5-8-2		6-9-4		**0 1 2**
3. 6-4-3-9		7-2-8-6		**0 1 2**
4. 4-2-7-3-1		7-5-8-3-6		**0 1 2**
5. 6-1-9-4-7-3		3-9-2-4-8-7		**0 1 2**
6. 5-9-1-7-4-2-8		4-1-7-9-3-8-6		**0 1 2**
7. 3-8-2-9-5-1-7-4		5-8-1-9-2-6-4-7		**0 1 2**
8. 2-7-5-8-6-2-5-8-4		7-1-3-9-4-2-5-6-8		**0 1 2**
Dígitos em ordem inversa 1ªtent. / resp.	**Ponto 1ª tent.**	**2ªtent. / resp.**	**Ponto 2ª tent.**	**Pontos**
1. 2-4		5-7		**0 1 2**
2. 4-1-5		6-2-9		**0 1 2**
3. 3-2-7-9		4-9-6-8		**0 1 2**
4. 1-5-2-8-6		6-1-8-4-3		**0 1 2**
5. 5-3-9-4-1-8		7-2-4-8-5-6		**0 1 2**
6. 8-1-2-9-3-6-5		7-4-3-9-1-2-8		**0 1 2**
7. 7-2-8-1-9-6-5-3		9-4-3-7-6-2-5-8		**0 1 2**
Total ordem direta=_____ (máx.= 16)		**Total ordem indireta=_____** (máx.= 14)		**Total=_____** (máx.=30)

2. SEQÜÊNCIA DE NÚMEROS E LETRAS:

Interromper após **erro nas 3 tentativas** de um mesmo item.

Eu vou dizer um grupo de números e letras. Depois que eu apresentá-los, quero que você diga primeiro os números em ordem, começando com o menor número. Em seguida, diga-me as letras em ordem alfabética. Por exemplo, se eu falar B-7, sua resposta deverá ser 7-B. O número deverá vir primeiro e, em seguida, a letra. Se eu falar 9-C-3, então sua resposta deverá ser 3-9-C. Primeiro os números em ordem crescente e depois as letras em ordem alfabética. Vamos praticar:

6-F (6-F) / **G-4** (4-G) / **3-W-5** (3-5-W) **/ T-7-L** (7-L-T) / **1-J-A** (1-A-J)

Tentativa	Itens / resposta	Pontos por tentativa		Pontos no item
1	**L-2 /** (2-L)	**0**	**1**	**0 1 2 3**
2	**B-5 /** (5-B)	**0**	**1**	
3	**6-P /** (6-P)	**0**	**1**	
1	**H-1-8 /** (1-8-H)	**0**	**1**	**0 1 2 3**
2	**R-4-D /** (4-D-R)	**0**	**1**	
3	**F-7-L /** (7-F-L)	**0**	**1**	
1	**V-1-J-5 /** (1-5-J-V)	**0**	**1**	**0 1 2 3**
2	**T-9-A-3 /** (3-9-A-T)	**0**	**1**	
3	**7-N-4-L /** (4-7-L-N)	**0**	**1**	
1	**5-P-3-Y-9 /** (3-5-9-P-Y)	**0**	**1**	**0 1 2 3**
2	**8-D-6-G-1 /** (1-6-8-D-G)	**0**	**1**	
3	**K-2-C-7-S /** (2-7-C-K-S)	**0**	**1**	
1	**W-8-H-5-F-3 /** (3-5-8-F-H-W)	**0**	**1**	**0 1 2 3**
2	**6-G-9-A-2-S /** (2-6-9-A-G-S)	**0**	**1**	
3	**M-4-E-7-Q-2 /** (2-4-7-E-M-Q)	**0**	**1**	
1	**5-T-9-J-2-X-7 /** (2-5-7-9-J-T-X)	**0**	**1**	**0 1 2 3**
2	**E-1-H-8-R-4-D /** (1-4-8-D-E-H-R)	**0**	**1**	
3	**R-3-B-4-Z-1-C /** (1-3-4-B-C-R-Z)	**0**	**1**	
1	**5-H-9-S-2-N-6-A /** (2-5-6-9-A-H-N-S)	**0**	**1**	**0 1 2 3**
2	**D-1-R-9-B-4-K-3 /** (1-3-4-9-B-D-K-R)	**0**	**1**	
3	**7-M-2-T-6-F-1-Z /** (1-2-6-7-F-M-T-Z)	**0**	**1**	
				Total=_____ (máx.=21)

WAIS-III
Escala de Inteligência Wechsler

Subtestes	Funções Avaliadas	Escore Bruto	Escore Ponderado
Seqüência de Números e Letras	Atenção Memória Verbal Concentração Memória Imediata		
Dígitos	Atenção Automática Memória Imediata		

Observações sobre a Aplicação das Escalas Psicológicas
(para uso dos psicólogos)

_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____

Data: ___ / ___ / _____ Assinatura: _____