



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

KARINE MARIA BOLL

PARAOXONASE 1 E DOENÇAS PSIQUIÁTRICAS

Londrina
2018

KARINE MARIA BOLL

PARAOXONASE 1 E DOENÇAS PSIQUIÁTRICAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Estefânia Gastaldello
Moreira

Londrina
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Boll, Karine Maria.

Paraoxonase 1 e doenças psiquiátricas / Karine Maria Boll. - Londrina, 2018.
70 f.

Orientador: Estefânia Gastaldello Moreira.

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2018.
Inclui bibliografia.

1. Paraoxonases - Tese. 2. Psiquiatria - Tese. 3. Estresse oxidativo - Tese. I. Moreira, Estefânia Gastaldello. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

KARINE MARIA BOLL

PARAOXONASE 1 E DOENÇAS PSIQUIÁTRICAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Estefânia Gastaldello
Moreira
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. André Demambre Bacchi
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Décio Sabbatini Barbosa
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Célio Roberto Estanislau
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^a. Dr^a. Graziela Scaliante Ceravolo
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 20 de Março de 2018.

AGRADECIMENTOS

É muito difícil escolher as palavras adequadas para agradecer a todos que incentivaram, estimularam, colaboraram, acompanharam e ampararam a elaboração desta tese de doutoramento. Incrivelmente assustadora é a possibilidade de não lembrar dos nomes que trilharam junto comigo. Seria extremamente injusto omitir ou deixar de homenagear aqueles que realmente merecem. Perdão, caro amigo, caso acontecer essa falha...

Primeiro, agradeço a Deus. Fonte de toda força e guia absoluto de todo caminho.

Meus pais, Waldier e Irene que dedicaram seu esforço para me mostrar a busca por um caminho iluminado pelo trabalho, pelos livros e pela ciência.

Meu irmão, Luciano que nunca saiu de meu coração e pensamento nem um dia sequer e que tantas vezes acreditou muito mais em meu trabalho do que eu mesma.

Meu marido, Fábio que veio acompanhar e incentivar, com amor e amizade, cada dia de trabalho e estudo.

Meus amigos, todos parceiros das atividades, análises, pesquisas, discussões e “insanidades” de uma tese nesta área da Ciência da Saúde. “Alfred ou Zezão”, Andreia, Bruno, Camila, Carine, Carla, Chiara, Cláudia, Denise, Dora, Edcléia, Gabriele, Greggi, Kamila, Keiko, Kleber, Luciana, Luiz, Manuel, Mara, Marcelo, Marcos, Martina, Neusa, Rafaela, Sirlei, Valdo, Susy, Vivian e aos queridos do Grupo Santana IV, Aninha e Renato, Bruna e Rafael, Carol e Guilherme, Débora e Rafael, Jossaine (Jô) e Henrique, Marcela e Everton, Maria Eliza e Nilton, Mayra e Gustavo e Rodriane (Rô) e Heitor.

Ao amigo Arnaldo Montuory, que plantou a semente desse doutoramento, que a distância acompanhou e vibrou cada etapa e que partiu sem poder ver finalizado este trabalho. “Seu” Arnaldo, comemore lá de cima essa conquista, ela é muito sua também (rs).

Meus colegas de trabalho no Hospital Universitário, estagiários e residentes. Aos funcionários da Universidade Estadual de Londrina e aos parceiros da Universidade Federal de São Paulo.

Aos meus professores e mestres, hoje vários tornaram-se grandes amigos, que despertaram o que há de mais precioso, a vontade do saber.

Agradeço a todos os professores da banca, Prof. Dr. Alexandre, Prof. Dr. André, Prof. Dr. Célio, Prof^a. Dr^a. Cíntia, Prof. Dr. Décio, Prof^a. Dr^a. Francis, Prof^a. Dr^a. Gislaine e Prof^a. Dr^a. Graziela que dedicaram tempo e compartilharam seus conhecimentos para lapidar este trabalho no exame de qualificação e na defesa desta tese.

Porém, o agradecimento maior não poderia ser a outra pessoa que não fosse minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Estefânia. Que acompanhou de forma tão paciente, iluminada e preciosa a aluna, a farmacêutica, a pós-graduanda e a mulher. Que ofertou a oportunidade dessa trajetória. Que foi inspiração e amparo desde o Mestrado. Que foi uma grande amiga no momento mais difícil. Que ensinou na prática a nobreza de dividir conhecimento para multiplicá-lo e que me fez acreditar que tudo isso é possível.

A caminhada foi dura, é verdade. Mas também teve seu brilho e mostrou grandes companheiros. A melhor parte, com toda certeza, é reconhecer o crescer e florescer durante o caminho.

De coração, muito obrigada a todos vocês! Cada um foi incrivelmente importante e especial!

“Não quero a faca, nem o queijo.
Quero a fome.”
(Adélia Prado)

1 BOLL, Karine Maria. **Paraoxonase 1 e Doenças Psiquiátricas**. 2018. 70 f. Tese
2 (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

3 4 5 **RESUMO** 6 7

8 Espécies reativas a oxigênio e nitrogênio (RONS) e marcadores imunoinflamatórios tem sido
9 relacionados com doenças psiquiátricas como depressão, transtorno bipolar, ansiedade,
10 transtorno obsessivo compulsivo e esquizofrenia (SCZ). A paraoxonase 1 (PON1) é uma
11 enzima polimórfica antioxidante cuja atividade tem sido investigada em doenças que
12 envolvem estresse oxidativo em suas fisiopatologias. A atividade da PON1 pode ser
13 mensurada utilizando diferentes substratos, que podem ou não ser influenciados por seus
14 polimorfismos. A relação entre atividade da PON1 e diversas doenças tem sido investigada
15 utilizando diferentes terminologias, o que pode levar um leitor pouco familiarizado com a
16 PON1 a conclusões equivocadas. O objetivo deste trabalho é revisar os estudos que
17 investigam a possível associação da PON1 com diferentes transtornos psiquiátricos e relatar
18 os resultados utilizando uma terminologia padronizada, a fim de oferecer uma visão mais
19 clara sobre esta análise. Outro objetivo é delinear os marcadores de estresse oxidativo e
20 nitrosativo e imunoinflamatórios em pacientes com SCZ crônica. Na revisão da literatura, os
21 estudos apontam redução da atividade da PON1 determinada com o substrato fenilacetato
22 (arilesterase ou AREase), em pacientes com transtornos de humor (inclusive os crônicos) e
23 nos pacientes esquizofrênicos não medicados. Em SCZ crônicos polimedicados, atividade
24 da AREase é usualmente similar aos valores do grupo controle. Em relação à atividade da
25 PON1 determinada com o substrato paraoxon (atividade POase), é difícil estabelecer
26 conclusões porque os resultados são heterogêneos, o que pode ser parcialmente explicado
27 pelo fato de que a atividade é influenciada pelo polimorfismo Q192R e a maioria dos autores
28 não realiza ajuste da atividade POase pelo polimorfismo. No estudo de caso-controle com
29 SCZ crônicos, selecionaram-se 125 pacientes ambulatoriais e 118 controles saudáveis.
30 Foram quantificados hidroperóxidos lipídicos (LOOH), produtos avançados de oxidação
31 proteica (AOPP), subprodutos de óxido nítrico (NOx), potencial antioxidante total plasmático
32 (TRAP) e atividade da PON1/AREase. Marcadores imunoinflamatórios já conhecidos por
33 suas alterações em SCZ também foram mensurados: leptina, IL-6, receptor solúvel de TNF
34 e quimiocinas CCL-11 e CCL-3. Não houve associações significantes entre SCZ crônica e
35 marcadores de O&NS (AOPP, NOx, LOOH) e os antioxidantes (PON1 e TRAP). Leptina,
36 sTNF-R, CCL-3 e CCL-11 estavam significativamente aumentados no grupo SCZ. Não
37 houve associação significativa entre pró-inflamatórios e os biomarcadores de O&NS
38 (leptina/CXCL-8 e AOPP; IL-6 e NOx; CCL-3 e LOOH; CCL-3/IL-6/NOx e TRAP). Este
39 estudo de caso-controle sugere que há significantes correlações entre as vias inflamatórias
40 e de estresse oxidativo e nitrosativo (O&NS) desempenhando um papel ativo na
41 fisiopatologia da SCZ crônica. Os resultados encontrados apontam que os marcadores de
42 O&NS e a enzima PON1 (atividade AREase) não podem ser considerados biomarcadores
43 aplicáveis para pacientes SCZ crônicos estáveis e polimedicados. Em conclusão, a pesquisa
44 e análise dos resultados envolvendo PON1 e sua relação com transtornos psiquiátricos
45 necessita de atenção extrema para a metodologia e terminologia adotadas para verificar o
46 "status" da PON1 e é altamente recomendado o ajuste ou correção dos resultados de
47 acordo com os polimorfismos da população estudada. Sem esta padronização e de novos e
48 maiores estudos, não se pode avaliar a PON1 como marcador de transtornos psiquiátricos.
49

50 **Palavras-chave:** PON1. Doenças psiquiátricas. Antioxidantes. Estresse oxidativo e
51 nitrosativo. Polimorfismo da PON1.

1 BOLL, Karine Maria. **Paraoxonase 1 and Psychiatric Disorders**. 2018. 70 p. Thesis
2 (Doctorate degree in Health Sciences) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina,
3 2018.

4 5 6 **ABSTRACT** 7 8

9 Oxygen and nitrogen reactive species (O&NRS) and immune inflammatory markers ation
10 have been described to play a role in psychiatric disorders like depression, bipolar
11 disorder, anxiety, obsessive compulsive disorder and schizophrenia (SCZ). Paraoxonase
12 1 (PON1) is a polymorphic antioxidant enzyme with peroxidase properties which activity
13 has been described to be altered in diseases where oxidative stress is involved in the
14 pathophysiology. Since PON1 activity may be estimated using different substrates which
15 may or may not be influenced by polymorphisms, the literature investigating a possible
16 link between PON1 activity and diseases employs different terminologies and may
17 mislead the reader unfamiliar with PON1 to erroneous conclusions. We aimed to revise
18 studies investigating a possible association of PON1 with different psychiatric diseases
19 and report the results using a standardized terminology in order to offer a clearer view on
20 the status of the knowledge and to delineate O&NS biomarkers and immune
21 inflammatory markers in patients with chronic SCZ. In the review of literature, the studies
22 seem to support a decreased PON1 activity determined with the substrate phenylacetate
23 (i.e., arylesterase or AREase), in mood disorders patients (even in the chronic ones) and
24 in drug free SCZ patients. In chronic polymedicated SCZ patients, AREase activity is
25 usually similar to control values. Regarding PON1 activity determined with the substrate
26 paraoxon (i.e., POase activity), broad conclusions are more difficult to be established
27 because the results are more heterogeneous, which can be partially explained by the
28 fact that this activity is influenced by the Q192R polymorphism and that most of the
29 authors did not adjust the POase activity by this polymorphism. In the case-control study
30 with chronic SCZ, 125 outpatients and 118 healthy controls were enrolled. The markers
31 included lipid hydroperoxides (LOOH), advanced oxidation protein products (AOPP),
32 nitric oxide metabolites (NOx), total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP) and
33 paraoxonase 1 (PON1) activity. Immune inflammatory markers known to be altered in
34 SCZ were also measured: leptin, IL-6, soluble TNF receptors (sTNF-Rs) and the
35 chemokines CCL-11 and CCL-3. There were no significant associations between chronic
36 SCZ and the O&NS markers (AOPP, NOx, LOOH) and the anti-oxidants PON1 and
37 TRAP. Leptin, sTNF-R, CCL-3 and CCL-11 were significantly higher in SCZ. There were
38 significant associations between pro-inflammatory and O&NS biomarkers (leptin/CXCL-8
39 and AOPP; IL-6 and NOx; CCL-3 and LOOH; CCL-3/IL-6/NOx and TRAP). This case-
40 control study suggests there were significant intercorrelations between inflammatory and
41 O&NS pathways, which play a role in the pathophysiology of chronic SCZ. O&NS
42 markers and the enzyme PON1 are not useful as biomarkers in chronic stable
43 polymedicated SCZ patients. In conclusion, the search and analysis of results involving
44 PON1 and relation with psychiatric disorders needs extreme attention for methodology
45 and terminology were adopted to verify the status of PON1 and it's highly recommended
46 to adjust or correct the results according to the variance of the polymorphisms of the
47 studied population. From this standardization and new and larger studies, PON1 may be
48 a marker for psychiatric diseases.

49
50 **Key words:** PON1. Psychiatric disorders. Antioxidants. Oxidative and nitrosative stress.
51 PON1 polymorphism.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Estruturas dos substratos utilizados para a determinação enzimática e suas reações catalíticas mediadas pela paraoxonase 1 (PON1) sérica.....20
- Figura 2** – Atividade plasmática total da PON1 nos diferentes genótipos. Cada ponto indica a atividade de um indivíduo dentro de cada genótipo.....21

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – *Socio-demographic, oxidative & nitrosative stress and inflammatory biomarkers in healthy controls (HC) versus chronic SCZ patients*.....52
- Tabela 2** – *Results of multivariate general linear model analysis with oxidative & nitrosative stress (O&NS) biomarkers (AOPP, LOOH, NOx, TRAP, PON-1) as dependent variables and age, sex and diagnosis as explanatory variables*.....52
- Tabela 3** – *Multivariate general linear model analysis with the 3 oxidative and nitrosative stress biomarkers (AOPP, LOOH and NOx) as dependent variables as age, sex, diagnosis, TRAP, PON-1 and immune-inflammatory markers (leptin, IL-6, CXCL-8, CCL-11, sTNF-R1) as explanatory variables*52
- Tabela 4** – *Multivariate general linear model analysis with oxidative and nitrosative stress biomarkers (AOPP, LOOH and NOx) and immune-inflammatory (IL-6, CXCL-8, sTNF-R1, CCL-3 and leptin) markers as dependent variables and age, sex, diagnosis and antioxidant markers (TRAP and PON-1) as explanatory variables*53
- Tabela 5** – *Automatic logistic regression analysis with chronic schizophrenia as dependent variables (controls as reference group) and the 5 oxidative & nitrosative stress (O&NS) and 5 immune-inflammatory biomarkers as explanatory variables (forced entry of age and gender)*53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância (<i>Analysis of Variance</i>)
AOPP	Produtos Avançados de Oxidação Proteica (<i>Advanced Oxidation Protein Products</i>)
AREase	Arilesterase (<i>Arylesterase</i>)
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (<i>Brain-derived Neurotrophic Factor</i>)
BP	Transtorno Bipolar (<i>Bipolar Disorder</i>)
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CCL	Citocina
CMPA	Acetato de 4-clorometilfenol (<i>4-chloromethylphenol acetate</i>)
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CXCL	Quimiocina
DSM-IV-TR	Manual Diagnóstico Estatístico de Transtornos Mentais: Texto revisado – quarta edição (<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i>)
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (<i>Enzyme-Liked Immunosorbent Assay</i>)
FEP	Primeiro Surto Psicótico (<i>First episode psychotic</i>)
GLM	Modelo Linear Generalizado (<i>Generalized Linear Model</i>)
GPx	Glutathiona Peroxidase (<i>Glutathione Peroxidase</i>)
HC	Controles Saudáveis (<i>Healthy Controls</i>)
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade (<i>Hight Density Lipoprotein</i>)
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana (<i>Human Immunodeficiency Virus</i>)
IL	Interleucina (<i>Interleukin</i>)
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade (<i>Low Density Lipoprotein</i>)
LOOH	Hidroperóxidos Lipídicos (<i>Lipid Hydroperoxides</i>)
MDA	Malondialdeído (<i>Malondialdehyde</i>)
MDD	Transtorno Depressivo Maior (<i>Major Depressive Disorder</i>)
NF-κB	Fator Nuclear kappa B
NOx	Subprodutos do Óxido Nítrico (<i>Nitric Oxide subproducts</i>)
O&NS	Estresse oxidativo e nitrosativo (<i>Oxidative and nitrosative stress</i>)
PA	Fenilacetato (<i>Phenylacetate</i>)

PANSS	Síndrome de Sintomas Positivos e Negativos (<i>Positive and Negative Syndrome Symptoms</i>)
PO	Paraoxon
PON	Paraoxonase
PROESQ	Programa de Esquizofrenia da Universidade Federal de São Paulo
QL	Quimioluminescência (<i>Quimioluminescence</i>)
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio (<i>Reactive Oxygen Species</i>)
RNS	Espécies Reativas de Nitrogênio (<i>Reactive Nitrogen Species</i>)
SCID-I	Entrevista Clínica Estruturada (<i>Structured Clinical Interview</i>)
SCZ	Esquizofrenia (<i>Schizophrenia</i>)
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Humana
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Polimorfismo de Nucleotídeo Único (<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>)
SOD	Superóxido Dismutase (<i>Superoxide Dismutase</i>)
sTNF-R	Receptores Solúveis do Fator de Necrose Tumoral (<i>Soluble Tumor Necrosis Factor receptors</i>)
TAS	Status Antioxidante Total (<i>Total Antioxidant Status</i>)
TR	Resistência ao Tratamento (<i>Treatment Resistance</i>)
TRAP	Potencial Antioxidante Total Plasmático (<i>Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter</i>)
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	ESTRESSE OXIDATIVO E IMUNOINFLAMAÇÃO RELACIONADOS ÀS DOENÇAS PSIQUIÁTRICAS.....	16
1.2	PARAOXONASES	18
1.3	PARAOXONASE 1, ESTRESSE OXIDATIVO E INFLAMAÇÃO	22
2	OBJETIVOS	25
2.1	OBJETIVOS GERAIS	25
2.1.1	Artigo 1: <i>Paraoxonase 1 and Psychiatric Disorders</i>	25
2.1.2	Artigo 2: <i>Oxidative and Nitrosative Stress Biomarkers in Chronic Schizophrenia</i>	25
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
2.2.1	Artigo 1: <i>Paraoxonase 1 and Psychiatric Disorders</i>	25
2.2.2	Artigo 2: <i>Oxidative and Nitrosative Stress Biomarkers in Chronic Schizophrenia</i>	25
3	METODOLOGIA	27
3.1	COMPOSIÇÃO DO ESTUDO	27
3.2	ARTIGO 1: <i>PARAOXONASE 1 AND PSYCHIATRIC DISORDERS</i>	27
3.2.1	Delineamento	27
3.2.2	Coleta de Dados.....	27
3.2.3	Descritores Utilizados.....	28
3.2.4	Tabulação de Publicações Científicas.....	28
3.3	ARTIGO 2: <i>OXIDATIVE AND NITROSATIVE STRESS BIOMARKERS IN CHRONIC SCHIZOPHRENIA</i>	28
3.3.1	Delineamento	28
3.3.2	População e Amostragem	28
3.3.3	Instrumentos.....	29
3.3.3.1	<i>Diagnóstico de Esquizofrenia Crônica (DSM – IV – TR)</i>	29
3.3.3.2	<i>Classificação quanto ao hábito de fumar</i>	29
3.3.4	Análises Laboratoriais	29

3.3.4.1	<i>Determinação da atividade sérica total da PON1 (atividade da AREase)</i>	30
3.3.4.2	<i>Determinação De Produtos Avançados de Oxidação Proteica (AOPP)</i>	30
3.3.4.3	<i>Determinação de Hidroperóxidos Lipídicos (LOOH)</i>	30
3.3.4.4	<i>Determinação do Potencial Antioxidante Total Plasmático (TRAP)</i>	31
3.3.4.5	<i>Determinação de Subprodutos do Óxido Nítrico (NOx)</i>	31
3.3.4.6	<i>Determinação de citocinas, quimiocinas e leptina</i>	32
3.3.5	Considerações Éticas	32
3.3.6	Análise Estatística	32
4	ARTIGOS	34
4.1	<i>PARAOXONASE 1 AND PSYCHIATRIC DISORDERS</i>	35
4.2	<i>OXIDATIVE AND NITROSATIVE STRESS BIOMARKERS IN CHRONIC SCHIZOPHRENIA</i>	50
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
	REFERÊNCIAS	58
	ANEXOS	68
	Anexo 1 – Parecer da Comissão de Ética	69

1 1 INTRODUÇÃO

2

3 As doenças psiquiátricas são um grande desafio médico, social e
4 econômico para a atualidade e representam a maior causa de inaptidão em todo o
5 mundo (NEUROSCIENCE, 2016). A ausência de testes laboratoriais aprovados para
6 diagnóstico, prognóstico e avaliação crítica de risco indicam um enorme campo de
7 pesquisa na área da Psiquiatria (Biologically-Inspired Biomarkers for Mental
8 Disorders, 2017).

9 Observa-se que 1 em cada 5 (17,6%) indivíduos pesquisados tem ou
10 teve nos últimos 12 meses algum transtorno psiquiátrico e 29,2% terá ao longo de
11 suas vidas de acordo com a metanálise publicada por Steel et al. (2014). Mais de
12 97% dos pacientes com transtorno bipolar, por exemplo, preenchem o critério de
13 mais de uma doença psiquiátrica concomitante, e a co-ocorrência de três ou mais
14 doenças é dramaticamente maior que a comorbidade com apenas uma desordem
15 além do transtorno bipolar (MERIKANGAS et al., 2007).

16 Os transtornos psiquiátricos mais identificados entre as mulheres
17 compreendem ansiedade e distúrbios de humor e entre os homens são os distúrbios
18 relacionados ao abuso de álcool e de outras substâncias. Além disso, é amplamente
19 estabelecido que os pacientes em atendimento clínico psiquiátrico compõem um
20 grupo de alto risco de suicídio (LARGE et al., 2016) reforçando a ideia de
21 importância destes pacientes no contexto global.

22 A busca por novos tratamentos, permeada pela busca do
23 entendimento maior de como se dá o processo da doença revela-se de extrema
24 importância no cenário científico atual. Diante de toda complexidade das interações
25 que modulam o sistema nervoso central (SNC) e as alterações patológicas do
26 humor, novos indicadores biológicos têm sido estudados.

27 A evolução do conhecimento envolvendo a fisiopatologia das
28 doenças psiquiátricas envolve diretamente mecanismos relacionados ao sistema
29 imunoinflamatório e de estresse oxidativo e nitrosativo (LEONARD; MAES, 2012;
30 MAES et al., 1995; MOYLAN et al., 2013; entre outros). A teoria da neuroprogressão
31 das doenças psiquiátricas pressupõe que alterações no sistema imunológico são
32 acompanhadas por aumento de marcadores inflamatórios, catabólitos do triptofano e

1 espécies reativas de oxigênio (ROS) afetando o crescimento e a função dos circuitos
2 neuroniais (CHAN et al., 2011; MOYLAN et al., 2014).

3 Os fundamentos bioquímicos da neuroprogressão são multifatoriais
4 e interativos, não apenas por suas vias, mas também pela sensibilização ao estresse
5 do meio. Elementos centrais incluem o sistema dopaminérgico, citocinas
6 inflamatórias, estresse oxidativo, neurotrofinas como o fator neurotrófico derivado do
7 encéfalo (BDNF) e mudanças envolvendo epigenética. Pode-se considerar, em
8 parte, o transtorno bipolar como um transtorno neuroprogressivo no qual há o
9 potencial de um processo fisiopatológico modificável que ocorre de maneira
10 longitudinal na trajetória da doença e é associado com a compensação inadequada
11 do estresse metabólico. O resultado das mudanças neuroprogressivas pode ser o
12 dano tecidual, mudanças estruturais, com perda progressiva da espessura da
13 matéria cinzenta, e sequelas funcionais em que os substratos neurais da regulação
14 do humor podem aumentar o risco de re-ocorrência e reduzir a resposta ao
15 tratamento (BERK et al., 2011).

16 Marcadores biológicos são utilizados para o processo de
17 estadiamento clínico, o qual é o principal determinante do prognóstico e escolha do
18 tratamento em algumas áreas da Medicina, como na Oncologia e Cardiologia (BERK
19 et al., 2017). Em contrapartida, na Psiquiatria não existem biomarcadores objetivos
20 e, portanto, ainda não foram definidos os componentes críticos para o estadiamento
21 das diferentes desordens. A área iniciou a tentativa do uso de modelos de cena para
22 demonstrar a sequência de vulnerabilidade, estados de risco, pródromo, início,
23 progressão e cronicidade em estágio final, e relacioná-los com o resultado e escolha
24 de tratamentos específicos (BERK et al., 2017). Porém, é preciso enfatizar que os
25 estágios iniciais da maioria das doenças psiquiátricas não são específicos e se
26 sobrepõem, favorecendo a aplicação de modelos transdiagnósticos de estadiamento
27 (HICKIE et al., 2013).

28 Doenças psiquiátricas frequentemente coexistem com outras
29 patologias como síndrome metabólica e doenças cardiovasculares (KESSLER;
30 MERIKANGAS; WANG, 2007; MERIKANGAS; KALAYDJIAN, 2007) sugerindo a
31 existência de mecanismos fisiopatológicos compartilhados. Alterações no sistema
32 imuno-inflamatório e estresse oxidativo são condições biológicas que acompanham
33 doenças mentais (NG et al., 2008) e que poderiam ser o elo de ligação entre

1 doenças psiquiátricas a algumas de suas comorbidades como doenças
2 cardiovasculares e síndrome metabólica (MAES et al., 2011).

3 4 1.1 ESTRESSE OXIDATIVO E IMUNOINFLAMAÇÃO RELACIONADOS ÀS DOENÇAS PSIQUIÁTRICAS

5 O SNC é particularmente sensível ao estresse oxidativo por diversas
6 razões. A primeira delas é o alto consumo de oxigênio (o encéfalo pode metabolizar
7 mais que 4×10^{21} moléculas de glicose por minuto). A segunda é a alta produção de
8 espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS), originários de reações
9 neuroquímicas específicas, como a oxidação da dopamina. A terceira razão é o
10 aumento do depósito de íons metálicos como cobre e zinco no encéfalo com o
11 envelhecimento (BUSH; TANZI, 2008), catalisando a produção de elevados níveis de
12 ROS e RNS. E ainda, mais uma razão é a abundância de lipídios no SNC (por
13 exemplo, a mielina), macromoléculas que são particularmente susceptíveis à
14 oxidação (CHIURCHIÙ; ORLACCHIO; MACCARRONE, 2016).

15 O estresse oxidativo ocorre quando a geração de ROS e RNS
16 suplanta a capacidade de defesa antioxidante. ROS e RNS geralmente são
17 produzidas durante o metabolismo celular normal e são altamente reativas. Vários
18 mecanismos de defesa antioxidante, que podem ser enzimáticos (catalase,
19 glutathione peroxidase, superóxido dismutase) ou não-enzimáticos (vitamina C e E,
20 zinco, glutathione, selênio, riboflavina, carotenoides etc.) ajudam a balancear estas
21 espécies (CHIRICO; PIALOUX, 2012).

22 Baixas concentrações de antioxidantes decorrentes de estresse
23 oxidativo podem aumentar a atividade da lipoxigenase (que catalisa parte da cascata
24 do ácido araquidônico), assim aumentando os processos anti-inflamatórios
25 encefálicos. O excesso de ROS e RNS pode danificar carboidratos, lipídios,
26 proteínas e DNA, o que pode resultar em disfunção celular. O acúmulo de ROS e
27 RNS também pode levar à produção de citocinas pró-inflamatórias e anti-
28 inflamatórias. (BIRBEN et al., 2012). Após alteração no status redox e exposição
29 celular a espécies reativas, há o desencadeamento do processo de transcrição de
30 genes pró-inflamatórios e os fatores de transcrição regulados através de
31 mecanismos redox-sensíveis, como o fator nuclear kappa B (NF-κB), ativador de
32 proteína-1 (AP-1), fator nuclear ativado de células T e fator 1 induzível por hipóxia.
33 Neste sentido, a ativação do NF- κB por ROS estimula a transcrição de um grande

1 número de genes que codificam citocinas inflamatórias (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8) e
2 moléculas de adesão (AKIRA; KISHIMOTO, 1997; WARD, 1996). Alinhado a isso, o
3 excesso de ROS pode estimular pela atividade das células-T as reações do ácido
4 araquidônico ou podem produzir direta ou indiretamente danos à barreira
5 hematoencefálica e aos neurônios (CHIURCHIÙ; ORLACCHIO; MACCARRONE,
6 2016).

7 Crescentes evidências relacionam doenças psiquiátricas com
8 alterações dos marcadores imuno-inflamatórios (ANDERSON et al., 2013;
9 BRINHOLI et al., 2015; MAES et al., 1995; MILLER et al., 2011; POTVIN et al.,
10 2008), principalmente às citocinas. As quimiocinas, que são citocinas com
11 capacidade de quimioatração, também têm suas alterações investigadas em
12 diversos transtornos psiquiátricos como depressão, transtorno bipolar e
13 esquizofrenia (ASEVEDO et al., 2013; NOTO et al., 2015; STUART; BAUNE, 2014).

14 A ativação da resposta imune celular e inflamatória podem provocar
15 diversos sintomas comuns às doenças psiquiátricas tais como ansiedade, anedonia,
16 fadiga e comprometimento cognitivo leve (LEONARD; MAES, 2012). Estes efeitos
17 são parcialmente mediados pelo aumento das citocinas pró-inflamatórias
18 interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF- α) e
19 citocinas derivadas da resposta Th1 como interleucina-2 (IL-2) e interferon γ . Como
20 em efeito cascata, a resposta imune ativada leva à depleção dos níveis de triptofano
21 (com conseqüente redução da produção de serotonina e aumento de produção de
22 catabólitos pró ansiedade e depressão) e aumento do estresse oxidativo e
23 nitrosativo, provocando dano celular e proteico que aumentam novamente o
24 potencial de inflamação. Todos estes fatores associam-se à neuroprogressão,
25 resultante da combinação entre neurodegeneração (apoptose neuronal) e reduzidas
26 taxas de neurogênese e neuroplasticidade (DAVIS et al., 2014; LEONARD; MAES,
27 2012; PEDRINI et al., 2012).

28 O dano celular também pode estimular ainda mais as vias
29 autoimunes, levando ao aumento da neuroinflamação e do estresse oxidativo e
30 reforçando ainda mais os efeitos depressogênicos e neuroprogressivos. Estes
31 efeitos contribuem para o estado depressivo, aumentam a chance de recorrência,
32 resistência ao tratamento e cronicidade do estado depressivo (MOYLAN et al.,
33 2014). Exemplo dessa situação é apresentado por Leonard e Maes (2012), em

1 revisão publicada que sugere que a depressão poderia ser resultado de uma
2 complexa combinação de resposta imune celular e inflamatória.

3 4 1.2 PARAOXONASES

5 As paraoxonases (PON) são enzimas detoxificadoras que
6 compreendem três membros: PON1, PON2 e PON3. Embora a PON2 seja a enzima
7 caracterizada primeiro entre as paraoxonases, o nome da família (i.e., paraoxonase)
8 originou-se da capacidade da PON1 de hidrolisar o praguicida paraoxon (BAR-
9 ROGOVSKY; HUGENMATTER; TAWFIK, 2013). Os três genes que codificam as
10 PON localizam-se no braço longo do cromossomo humano número 7 (7q21-22)
11 (AVIRAM; ROSENBLAT, 2004).

12 A PON2 é uma enzima intracelular de 43-kDa expressa em vários
13 tecidos, incluindo encéfalo, fígado, pulmão, rim, coração, pâncreas, intestino
14 delgado, músculo, testículo, endotélio, epitélio traqueal e também em macrófagos
15 (MOCHIZUKI et al., 1998; NG et al., 2001; ROSENBLAT, 2003; STOLTZ et al.,
16 2006). Esta enzima apresenta atividade antioxidante (NG et al., 2001) e parece ser
17 um importante componente da defesa antioxidante intracelular particularmente
18 devido à sua ampla distribuição e localização mitocondrial (DEVARAJAN et al.,
19 2011; GIORDANO et al., 2011; NG et al., 2001; PRIMO-PARMO et al., 1996).
20 Recentemente tem sido sugerido que a PON2 encefálica pode desempenhar papel
21 relevante na susceptibilidade ao estresse oxidativo e neuroinflamação, e que sua
22 modulação positiva pode representar uma nova estratégia de neuroproteção
23 (FURLONG, 2016).

24 A PON3 é uma glicoproteína de 40 kDa expressa principalmente no
25 fígado e, em concentrações menores, no rim. A PON3 é encontrada na circulação
26 sanguínea fortemente ligada às lipoproteínas de alta densidade (HDL) (DRAGANOV
27 et al., 2000; REDDY et al., 2001). Ela foi o último membro da família a ser descrito e
28 é, portanto, a menos caracterizada.

29 A PON1 é, de longe, o membro mais estudado (PRIMO-PARMO et
30 al., 1996). Trata-se de uma glicoproteína de 45 kDa e, como a PON3, ela é expressa
31 principalmente no fígado e parte dela é secretada no sangue associada à HDL. A
32 PON1 é capaz de se transferir para outros tecidos através da HDL (DEAKIN et al.,
33 2002). Baixos níveis desta enzima são encontrados em outros tecidos, sendo o

1 epitélio descrito como um deles (COSTA; GIORDANO; FURLONG, 2011a).

2 O papel fisiológico da PON1 ainda é pouco conhecido mas sabe-se
3 que é uma enzima cálcio-dependente que hidrolisa diversos substratos como
4 lactonas, incluindo drogas (ex, antibacteriano prulifloxacin), metabólitos do ácido
5 araquidônico, homocisteína tiolactona, moléculas de *quórum sensing* ou percepção
6 de quórum (N-acil-homoserina lactona; metabólitos de praguicidas organofosforados
7 (diazoxon, paraoxon, clorpirifós oxon); gases neurotóxicos (sarin, soman) (CAMPS et
8 al., 2011; TEIBER et al., 2008; COSTA; GIORDANO; FURLONG, 2011;
9 MARSILLACH et al., 2008).

10 As PON estão envolvidas tanto na bioativação quanto na inativação
11 de substâncias específicas por uma capacidade altamente eficiente de hidrolisá-las
12 (FURLONG et al., 2016). Também há a hipótese de que seus polimorfismos
13 genéticos estejam relacionados a doenças e respostas ao tratamento.

14 A PON1 é uma enzima polimórfica, com mais de 160 polimorfismos
15 de nucleotídeos únicos (SNP) descritos na região codificadora e reguladora do gene
16 que transcreve a PON1 (JARVIK et al., 2003; RICHTER; JARVIK; FURLONG,
17 2008a). A maioria desses polimorfismos ainda não está caracterizada, mas acredita-
18 se que podem afetar a eficiência da transcrição (emparelhamento, estabilidade da
19 mensagem ou a eficiência da poliadenilação). Contudo, os SNP mais estudados são
20 os polimorfismos das regiões de codificação Q192R (rs 662) e L55M (rs 854560) e
21 da região promotora C-108T (MACKNESS; MACKNESS, 2015) e que afetam
22 atividade e/ou concentração da PON1.

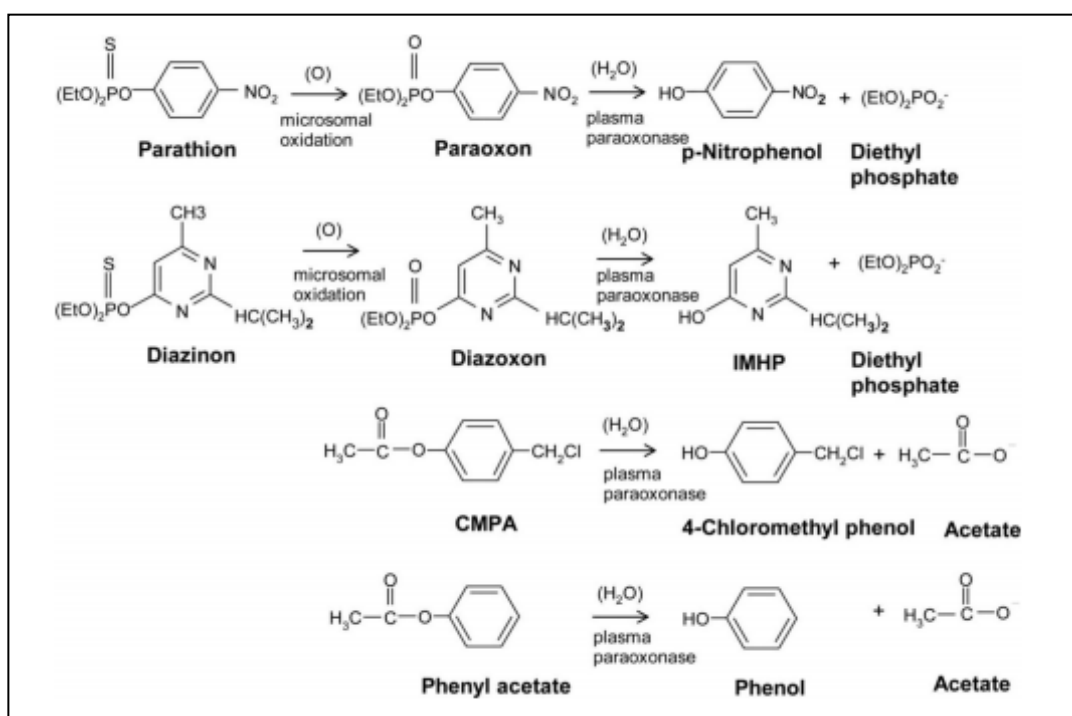
23 O polimorfismo L55M, que compreende uma substituição de leucina
24 pela metionina na posição 55, tem sido associado à concentração plasmática da
25 enzima PON1. A aloenzima M está associada a baixas concentrações plasmáticas
26 da PON1 (MACKNESS et al., 1998) enquanto a L a maiores concentrações e,
27 portanto, maior atividade enzimática (LEVIEV; JAMES, 2000).

28 O polimorfismo Q192R, que compreende uma substituição da
29 glutamina pela arginina na posição 192 é o mais estudado. Ele influencia a atividade
30 catalítica da PON1, mas a direção dessa mudança é dependente do substrato (LI et
31 al., 2000; MACKNESS et al., 2001). A aloenzima R é mais eficiente em hidrolisar o
32 paraoxon (HUMBERT et al., 1993) e o acetato de 4-clorometilfenol (CMPA)
33 (RICHTER; JARVIK; FURLONG, 2008b), enquanto a Q é mais eficiente para

1 hidrolisar substratos como o diazoxon, por exemplo. Portanto, se um estudo objetiva
 2 estimar a atividade plasmática total de PON1 independentemente do polimorfismo
 3 Q192R, é imprescindível o uso de um substrato cuja taxa de biotransformação não
 4 seja influenciada pelo Q192R, como, por exemplo, o fenilacetato (COSTA; COLE;
 5 FURLONG, 2005; JARVIK et al., 2000). A Figura 1 apresenta diferentes substratos
 6 utilizados na determinação da atividade PON1.

7

8 **Figura 1:** Estruturas dos substratos utilizados para a determinação enzimática e
 9 suas reações catalíticas mediadas pela paraoxonase 1 (PON1) sérica.



10

Fonte: RICHTER; JARVIK; FURLONG, 2008b.

11

12

13

14

15

16

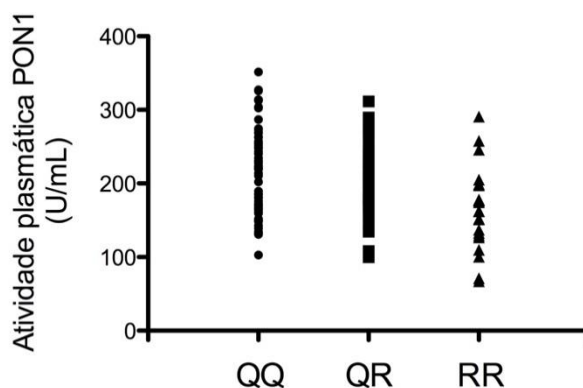
17

18

Ainda, é importante reconhecer que a atividade da PON1 pode variar até 50 vezes e a concentração proteica até 15 vezes dentro do mesmo genótipo PON1 Q192R (COSTA et al., 2003; RICHTER; FURLONG, 1999). A Figura 2, extraída de um estudo recentemente publicado pelo nosso grupo (MOREIRA et al., 2017), mostra a atividade plasmática total da PON1 em uma população dividida de acordo com o genótipo Q192R. Essa figura ilustra a grande variabilidade da atividade plasmática dentro de cada um dos genótipos Q192R (i.e., QQ, QR ou RR)

1 sugerindo que existem fatores ambientais que podem modular a expressão/atividade
2 da PON1.

3 **Figura 2:** Atividade plasmática total da PON1 nos diferentes genótipos. Cada ponto
4 indica a atividade de um indivíduo dentro de cada genótipo.



5 **Fonte:** MOREIRA et al., 2017.

6

7

8 Vários fatores ambientais já foram descritos como moduladores da
9 atividade da PON1, entre eles estão: o consumo de bebidas alcoólicas (consumo
10 moderado aumenta a atividade e grande consumo reduz atividade enzimática), fumo
11 (reduz atividade), obesidade (reduz atividade), dieta (ingestão de antioxidantes como
12 vitamina C, E e polifenóis pode aumentar atividade enzimática enquanto uma
13 alimentação rica em gorduras reduz atividade), medicamentos (estatinas e
14 fenofibrato aumentam a atividade sérica da PON1, fármacos indutores enzimáticos
15 como fenobarbital aumentam atividade hepática mas reduzem atividade sérica
16 durante tratamento prolongado e outras drogas como rosiglitazona e eritropoietina
17 aumentam atividade sérica da PON1), idade (atividade diminui com o
18 envelhecimento) e sexo (mulheres tem maior atividade enzimática que homens)
19 (BORTOLASCI et al., 2014b; COSTA; COLE; FURLONG, 2005; COSTA;
GIORDANO; FURLONG, 2011b; KOTA et al., 2013).

20

21 A atividade e os genótipos da PON1 têm sido avaliados em diversos
22 estudos como possíveis marcadores de susceptibilidade para algumas doenças
23 (principalmente cardiovasculares) ou intoxicação com xenobióticos (principalmente
24 organofosforados) mas, frente ao acima exposto, ficam claras as recomendações
dos estudiosos da PON1:

1 a) quando a determinação da atividade da PON1 for realizada
2 utilizando-se um substrato que é diferencialmente metabolizado
3 pelos diferentes genótipos Q192R, há a necessidade de ajuste da
4 atividade pelo genótipo;

5 b) se o genótipo não for determinado, a atividade da PON1 deve ser
6 determinada com um substrato cujo metabolismo não sofra
7 influência do genótipo Q192R;

8 c) estudos que associam somente o genótipo Q192R a doenças
9 devem ser vistos com cautela devido à grande variação de atividade
10 que existe dentro de cada genótipo (BILLECKE; TEIBER, 2011;
11 JARVIK et al., 2000).

12 Portanto, não é surpresa que muitas análises que avaliam doença
13 ou risco de exposição utilizando apenas análise de SNP e não os níveis de atividade
14 enzimática chegaram a resultados inconclusivos (RICHTER; JARVIK; FURLONG,
15 2008b). O mesmo vale para os muitos estudos que empregam a taxa de hidrólise do
16 paraoxon para estimar a atividade total da PON1 e não ajustam o resultado pelo
17 genótipo Q192R (RICHTER; JARVIK; FURLONG, 2008b).

18 O termo *status* da PON1 refere-se à determinação tanto do genótipo
19 Q192R quanto da atividade plasmática da PON1 utilizando-se um substrato cujo
20 metabolismo não seja influenciado pelo genótipo Q192R, geralmente o fenilacetato
21 (LI; COSTA; FURLONG, 1993).

22 23 1.3 PARAOXONASE 1, ESTRESSE OXIDATIVO E INFLAMAÇÃO

24 O principal papel fisiológico da PON1 ainda não foi determinado
25 (MACKNESS et al., 1993; WATSON et al., 1995) porém, esta enzima tem sido
26 investigada como marcador de susceptibilidade em doenças que envolvam estresse
27 oxidativo, como doenças cardiovasculares, síndrome metabólica, resistência à
28 insulina, doenças psiquiátricas (BORTOLASCI et al., 2014a, 2014b; FERRÉ et al.,
29 2013; GARELNABI; LITVINOV; MAHINI, 2012).

30 A PON1 protege a HDL de se oxidar tanto hidrolisando fosfolipídios
31 quanto hidroperóxidos (WATSON et al., 1995). Ainda, a PON1 protege lipoproteínas
32 de baixa densidade (LDL) de se oxidarem e estimula a atividade da HDL de
33 aumentar o efluxo de colesterol dos macrófagos (EFRAT; AVIRAM, 2010;

1 GUGLIUCCI, 2014). Esses mecanismos explicam como a PON1 protege contra a
2 oxidação de LDL mediada por macrófagos e apresenta atividade anti-inflamatória e
3 anti-aterogênica (Mackness and Mackness, 2015; Costa et al., 2005). Macrófagos
4 ativados produzem peróxidos, óxido nítrico e mieloperoxidase que podem gerar
5 peroxinitrito e ácido hipocloroso e, esses, podem danificar a PON1. Ainda mais, a
6 mieloperoxidase pode oxidar a PON1 e, assim, inativá-la e diminuir sua ligação à
7 HDL (GUGLIUCCI; MENINI, 2015). Esses resultados indicam que assim como a
8 PON1 pode apresentar atividade antioxidante e anti-inflamatória, na presença de
9 estímulo inflamatório e oxidativo a atividade da PON1 pode ser prejudicada. De fato,
10 a atividade plasmática da PON1 está diminuída em situações de intenso estresse
11 oxidativo como síndrome metabólica, obesidade, diabetes descontrolada ou com
12 complicações micro e macrovasculares e pacientes dislipidêmicos (KOTA et al.,
13 2013).

14 Avaliando o fator obesidade ou obesidade visceral, realidade comum
15 na população mundial, ressalta-se que a gordura visceral é metabolicamente ativa,
16 secretando citocinas proinflamatórias e outras proteínas de fase aguda reativas que
17 vêm sendo relacionadas com o aumento da severidade dos sintomas psiquiátricos
18 como, por exemplo, os sintomas depressivos (MCINTYRE et al., 2007) e que como
19 já discutido anteriormente, contribui com o desequilíbrio do balanço de estresse
20 oxidativo. Alterações em outras vias metabólicas e inflamatórias sugerem um
21 mecanismo biológico comum ao transtorno bipolar e à síndrome metabólica incluindo
22 alterações na sinalização glicocorticoide, estresse oxidativo, desregulação
23 autonômica e alteração da biossíntese energética (MCINTYRE et al., 2009).

24 Outro mecanismo que pode estar envolvido na modulação da
25 atividade da PON1 na presença de estresse oxidativo é o da leptina. A atividade da
26 PON1 tem associação negativa com concentrações de leptina (KOTA et al., 2013). A
27 leptina é um peptídeo hidrofóbico que pode se ligar à HDL e inibir diretamente a
28 enzima PON1. Assim, a leptina aumenta o estresse oxidativo (AVIRAM et al., 1999;
29 WU et al., 2009) através da geração de ROS (BEŁTOWSKI; WÓJCICKA; JAMROZ,
30 2003) e estimula a secreção de citocinas inflamatórias (LOFFREDA et al., 1998) e
31 outras proteínas de fase aguda com capacidade de reduzir a atividade da PON1
32 pela inibição da síntese hepática da PON1 (FEINGOLD et al., 1998).

1 A justificativa para este trabalho baseia-se na importância em
2 aumentar o conhecimento sobre a fisiopatologia das doenças psiquiátricas e sua
3 relação com o estresse oxidativo e nitrosativo, especialmente com a PON1, e seus
4 consequentes danos pela peroxidação lipídica. Compreender melhor o mecanismo
5 das doenças psiquiátricas e seus indicadores pode favorecer a elaboração de
6 estratégias otimizadas para avaliação de risco, diagnóstico, acompanhamento,
7 tratamento e prognóstico dos pacientes com doenças psiquiátricas.

8

1 2 OBJETIVOS

2

3 2.1 OBJETIVOS GERAIS

4

5 2.1.1 Artigo 1: *Paraoxonase 1 and Psychiatric Disorders*

6 - Realizar uma revisão bibliográfica sobre o papel da PON1 em
7 doenças psiquiátricas (depressão, transtorno bipolar, ansiedade, transtorno
8 obsessivo compulsivo e esquizofrenia) e sua habilidade em predizer diagnóstico,
9 estado da doença, resposta ao tratamento e prognóstico.

10

11 2.1.2 Artigo 2: *Oxidative and Nitrosative Stress Biomarkers in Chronic Schizophrenia*

12 - Avaliar o papel da PON1 e de outros marcadores de estresse
13 oxidativo e antioxidantes plasmáticos para delinear potenciais biomarcadores em
14 uma população com esquizofrenia crônica em tratamento ambulatorial comparada a
15 um grupo de controles saudáveis.

16

17 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

18

19 2.2.1 Artigo 1: *Paraoxonase 1 and Psychiatric Disorders*

20 - Revisar a literatura científica publicada sobre o tema paraoxonase
21 e diversas doenças psiquiátricas como transtorno de ansiedade, transtorno obsessivo
22 compulsivo, depressão, transtorno bipolar e esquizofrenia.

23 - Buscar, dentre as publicações elencadas, associações e relações
24 entre atividade enzimática e genótipos e diagnóstico, tratamento, controle e
25 prognóstico.

26

27 2.2.2 Artigo 2: *Oxidative and Nitrosative Stress Biomarkers in Chronic Schizophrenia*

28 - Quantificar marcadores oxidativos plasmáticos vinculados aos
29 lipídios (hidroperóxidos lipídicos) e às proteínas (produtos avançados de oxidação
30 proteica) em pacientes com esquizofrenia crônica em tratamento.

31 - Quantificar marcadores antioxidantes plasmáticos (potencial
32 antioxidante total e atividade da PON1) em pacientes com esquizofrenia crônica em
33 tratamento.

1 - Avaliar as dosagens de marcadores imunoinflamatórios (leptina, IL-
2 6, sTNF-R1, CXCL-8, CCL-11 e CCL-3) em pacientes com esquizofrenia crônica em
3 tratamento.

4 - Analisar possíveis associações dos marcadores imunoinflamatórios
5 e de estresse oxidativo e nitrosativo em pacientes com esquizofrenia crônica em
6 tratamento.

7

3 METODOLOGIA

3.1 COMPOSIÇÃO DO ESTUDO

Esta tese foi elaborada com dois estudos de metodologias distintas descritas a seguir.

A primeira metodologia descrita (item 3.2) é relacionada à elaboração do primeiro artigo científico apresentado, caracterizado como uma revisão bibliográfica.

A segunda metodologia descrita (item 3.3) refere-se ao segundo artigo científico apresentado, caracterizado como um estudo caso-controle.

3.2 ARTIGO 1: *PARAOXONASE 1 AND PSYCHIATRIC DISORDERS*

3.2.1 Delineamento

Estudo de revisão bibliográfica.

3.2.2 Coleta de Dados

Foram realizadas buscas na base de dados PubMed, que compreende mais de 27 milhões de citações da literatura biomédica do MEDLINE (Sistema Online de Busca e Análise de Literatura Médica, *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*), periódicos de ciências naturais e livros online. O PubMed é um recurso de livre acesso que é desenvolvido e mantido pela NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) na NLM (*U. S. National Library of Medicine*) que oferece citações e textos completos de acordo com autorização dos autores e publicações detentoras dos direitos autorais indexadas.

A primeira busca foi realizada no mês de Junho de 2016 e renovada em Agosto de 2017 para atualização de novos estudos publicados e/ou indexados durante o período de revisão bibliográfica. A seleção abrangeu estudos clínicos e experimentais e estes foram revisados e tabulados de acordo com a descrição a seguir.

1 3.2.3 Descritores Utilizados

2 Para a busca dos artigos científicos no banco de dados, foi utilizada
3 a palavra-chave “paraoxonase” associada a uma palavra-chave que representa o
4 diagnóstico-alvo da busca como *depression, major depressive disorder, anxiety,*
5 *psychosis, schizophrenia, obsessive compulsive disorders, bipolar disorders* e
6 *psychiatric disorders*.

8 3.2.4 Tabulação de Publicações Científicas

9 Os estudos selecionados foram tabulados de acordo com referência
10 ou autor, população de estudo, doença psiquiátrica, diagnóstico ou situação clínica,
11 tamanho amostral, variáveis controladas, presença e descrição da quantificação de
12 marcadores de estresse oxidativo e inflamatório, realização de genotipagem da
13 PON1 de maneira funcional ou molecular, identificação do substrato para mensurar a
14 atividade da PON1 e resultados encontrados.

15 Na verificação de variáveis controladas buscaram-se informações
16 que podem influenciar como viés de mensuração a dosagem da atividade total da
17 PON1 como o uso de cigarros, de antioxidantes ou suplementos alimentares, uso de
18 medicamentos, sexo da população amostral etc.

19 Quanto à identificação do substrato para quantificação da atividade
20 da PON1 optou-se em diferenciar os trabalhos que utilizaram paraoxon (atividade
21 POase), fenilacetato (atividade AREase) ou diazoxon (atividade diazoxonase).

23 3.3 ARTIGO 2: OXIDATIVE AND NITROSATIVE STRESS BIOMARKERS IN CHRONIC 24 SCHIZOPHRENIA

26 3.3.1 Delineamento

27 Estudo de caso-controle.

29 3.3.2 População e Amostragem

30 Foram recrutados 125 pacientes da unidade de acompanhamento
31 ambulatorial de pacientes com esquizofrenia PROESQ (Programa de Esquizofrenia)
32 da UNIFESP (Universidade Federal de São Paulo). Os pacientes eram estáveis e
33 41,2% preenchem o critério de remissão da esquizofrenia de acordo com

1 ANDREASEN et al. (2005). Dados como idade, tempo de diagnóstico de
2 esquizofrenia, resistência ao tratamento foram registrados.

3 O grupo controle foi composto de 118 voluntários saudáveis que não
4 apresentavam, nem seus parentes de primeiro grau, história de distúrbio psiquiátrico
5 maior, incluindo demência ou desabilidade intelectual de acordo com entrevista
6 clínica.

7 Excluíram-se os indivíduos que apresentavam condições clínicas
8 agudas ou crônicas associadas ao desequilíbrio do balanço de resposta inflamatória
9 como infecções, portadores de SIDA (Síndrome da Imunodeficiência Humana),
10 alergias, gravidez ou puerpério, doenças reumatológicas e imunológicas e pacientes
11 sob tratamento com drogas imunomoduladoras.

12

13 3.3.3 Instrumentos

14 3.3.3.1 *Diagnóstico de Esquizofrenia Crônica (DSM – IV – TR)*

15 O diagnóstico de esquizofrenia foi estabelecido de acordo com os
16 critérios do DSM-IV-TR (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* ou
17 *Manual Diagnóstico Estatístico de Transtornos Mentais: Texto revisado – quarta*
18 *edição*) utilizando uma entrevista clínica estruturada (SCID) realizada por médico
19 psiquiatra capacitado. Quando necessário, foram utilizados prontuários médicos e
20 informações de familiares.

21

22 3.3.3.2 *Classificação quanto ao hábito de fumar*

23 Os indivíduos participantes do estudo foram questionados sobre o
24 hábito de fumar, considerando-se as respostas “sim” ou “não” independente da
25 quantidade de cigarros por dia consumida.

26

27 3.3.4 Análises Laboratoriais

28 Amostras de 10mL de sangue foram coletadas após jejum,
29 centrifugadas e o plasma foi aliquoteado e armazenado a -80°C até descongelamento
30 para as análises dos biomarcadores.

1 3.3.4.1 *Determinação da atividade sérica total da PON1*

2 A dosagem da hidrólise do fenilacetato em baixa concentração
3 salina representa a atividade total plasmática da PON1, já que nessa condição o
4 polimorfismo Q192R não influencia a atividade catalítica da PON1 frente a esse
5 substrato. Essa reação foi medida a 270nm por 4 minutos a cada 15 segundos em
6 uma temperatura controlada de 25°C utilizando 20µl de plasma diluído 1:80 em
7 tampão. A atividade total da PON1 foi expressa em U/mL baseada no coeficiente de
8 extinção molar do fenilacetato de 1,31mMol/L cm⁻¹.

9 Seguindo a técnica descrita por Richter, Jarvik e Furlong (RICHTER;
10 JARVIK; FURLONG, 2008b), todas as reações foram realizadas e sua leitura
11 ultravioleta em microplacas utilizando uma leitora EnSpire (Perkin Elmer, NY, EUA).
12 Os experimentos foram realizados em triplicata, sendo que as replicatas com
13 variação maior que 10% foram repetidas.

15 3.3.4.2 *Determinação de Produtos Avançados de Oxidação Proteica (AOPP)*

16 Para a quantificação de AOPP no plasma utilizou-se o método
17 descrito por Witko-Sarsat *et al.* (1996). A leitura da reação de AOPP foi realizada em
18 leitor de microplacas (EnSpire, Perkin Elmer, USA) em comprimento de onda de 340
19 nm e os resultados expressos em mM de equivalente de cloramina T.

21 3.3.4.3 *Determinação de Hidroperóxidos Lipídicos (LOOH)*

22 A avaliação da produção de LOOH por quimiluminescência foi
23 realizada utilizando uma adaptação da técnica descrita por Flecha; Llesuy e Boveris
24 (1991) e Panis e colaboradores (2012). A quimiluminescência estimulada por t-butil
25 foi empregada para quantificar as concentrações de LOOH no soro. O ensaio
26 baseia-se no consumo das defesas antioxidantes e a formação de LOOH,
27 responsáveis pela elevação dos níveis de quimiluminescência relacionados ao
28 estresse oxidativo.

29 A leitura da reação foi realizada no equipamento luminômetro
30 Glomax[®] (TD20/20), ao abrigo da luz para evitar a fosforescência, em temperatura
31 controlada a 30 ° C durante 60 minutos. Os resultados foram expressos em unidades
32 relativas de luz (RLU) e a curva obtida foi utilizada como um indicador qualitativo da
33 lipoperoxidação.

1 Os resultados quantitativos foram obtidos após a integração da área
2 sob a curva utilizando o OriginLab® 7.5 software.

3 4 3.3.4.4 *Determinação do Potencial Antioxidante Total Plasmático (TRAP)*

5 O TRAP foi avaliado por quimiluminescência em uma adaptação do
6 método descrito por Repetto e colaboradores, 1996. Esta metodologia detecta
7 antioxidantes hidro e/ou lipossolúveis presentes no plasma.

8 Ao meio de reação (1,8 mL de tampão glicina 0,1 M, pH 8,6) foram
9 acrescentados 100 µL de luminol em solução aquosa 200 µM, 5 µL de plasma diluído
10 50% em tampão glicina e 100 µL de solução aquosa de 2,2' azo-bis (2-
11 amidinopropano) 200 mM. O 2,2' azo-bis gera radicais peroxil rapidamente, via
12 interação com radicais centrados em carbono e oxigênio molecular. Estes radicais
13 livres reagem com o luminol (que atua como um amplificador de sinal), produzindo
14 quimiluminescência. Esta reação é inibida pela superóxido dismutase, catalase,
15 análogos da vitamina E e ácido úrico, dentre outros antioxidantes.

16 A adição de plasma diminui a quimiluminescência por um período
17 proporcional à concentração plasmática de antioxidantes até que os radicais livres
18 sejam regenerados, restituindo-se os níveis iniciais de quimiluminescência. O
19 sistema foi calibrado com análogo de vitamina E (Trolox), 100 µL na concentração
20 de 20 µM em tampão glicina pH 8,6. Uma comparação do tempo de indução depois
21 da adição de concentrações conhecidas de Trolox e plasma permite obter valores de
22 TRAP em equivalentes de Trolox (µM Trolox).

23 Este experimento foi conduzido em um leitor de microplaca (Victor X-3, Perkin
24 Elmer®, EUA), em um modo de contagem não coincidente por 25 minutos e uma
25 faixa de resposta entre 300 a 620nm com controle de temperatura a 30°C. Todos os
26 experimentos foram realizados em triplicata, sendo que as replicatas com variação
27 maior que 10% foram repetidas.

28 29 3.3.4.5 *Determinação de Subprodutos do Óxido Nítrico (NOx)*

30 As dosagens de NOx foram realizadas pela mensuração das
31 concentrações plasmáticas de nitrito e nitrato, utilizando uma adaptação da técnica
32 descrita por Navarro-González e colaboradores (1998).

1 O método baseia-se na redução de nitrato a nitrito, mediado por
2 reações de oxidação e redução ocorridas entre o nitrato presente na amostra e o
3 sistema reagente cádmio-cobre com subsequente diazotização e detecção
4 colorimétrica dos compostos formados pela reação de Griess em um comprimento
5 de onda de 545nm em leitor de microplacas (EnSpire, Perkin Elmer, EUA).

6 Os resultados foram expressos em μM .

8 3.3.4.6 *Determinação de citocinas, quimiocinas e leptina*

9 Citocinas (IL-6), quimiocinas (CXCL-8, CCL-11, CCL-13), receptor
10 solúvel para fator de necrose tumoral (sTNF-R1) e leptina foram mensuradas por
11 ELISA (DuoSet R&D Systems[®], USA) de acordo com os procedimentos indicados
12 pelo fabricante dos kits diagnósticos. Os resultados foram expressos em pg/mL.

14 3.3.5 Considerações Éticas

15 Este estudo realizou-se em concordância com a Declaração de
16 Helsinki, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIFESP (Anexo 1) e
17 todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Informado previamente
18 ao desenvolvimento da pesquisa.

20 3.3.6 Análise Estatística

21 As diferenças entre controles e pacientes foram avaliadas utilizando
22 ANOVAs (variáveis contínuas) ou análises de tabelas de contingência usando testes
23 de Qui-quadrado de Pearson (variáveis categóricas).

24 As análises multivariadas foram utilizadas para examinar os efeitos
25 das variáveis explanatórias (por exemplo, dados demográficos e diagnóstico) em
26 variáveis dependentes (por exemplo, os biomarcadores de estresse oxidativo). Se
27 significativo, foram realizadas análises univariadas para avaliar os efeitos das
28 variáveis preditoras significativas nas variáveis dependentes.

29 Análise da regressão logística binária automática foi utilizada para
30 delinear os fatores de risco para a SCZ, tendo o grupo controle como grupo de
31 referência.

32 A fim de normalizar a distribuição de dados das variáveis (conforme
33 avaliado através do teste de normalidade de Kolmogorov Smirnov), alguns

1 marcadores foram transformados para logaritmo natural.

2 Todos os testes foram bicaudais e um valor de p menor ou igual a
3 0,05 foi adotado para significância estatística. A versão 22 do programa SPSS foi
4 utilizada para análise dos dados.

5

1 **4 ARTIGOS**

2

3 Os Resultados e Discussão serão apresentados na forma de artigos
4 científicos.

5 O primeiro artigo apresentado, intitulado como “*Paraoxonase 1 and*
6 *Psychiatric Disorders*” é um trabalho de revisão bibliográfica que atualmente está
7 sendo finalizado para submissão para publicação científica no periódico “*Journal of*
8 *Psychiatric Research*”.

9 O segundo artigo apresentado, intitulado como “*Oxidative and*
10 *Nitrosative Stress Biomarkers in Chronic Schizophrenia*” foi publicado no periódico
11 “*Psychiatric Research*” em 2017, volume 253, páginas 43 a 48.

12

1 4.1 ARTIGO 1: *PARAOXONASE1 AND PSYCHIATRIC DISORDERS*

2
3 **PARAOXONASE 1 AND PSYCHIATRIC DISORDERS**

4
5 Karine Maria Boll^a, Janaína Favaro Soares^b, Camila Rigobello^a, Estefânia Gastaldello
6 Moreira^{a,c*}

7
8 ^aGraduation Program in Health Sciences, State University of Londrina (UEL),
9 Londrina, PR, Brazil

10 ^bMedicine School, UEL, Londrina, PR, Brazil

11 ^cDepartment of Physiological Sciences, UEL, Londrina, PR, Brazil

12
13 *Corresponding author:

14 Departamento de Ciências Fisiológicas, Lab. 6; Centro de Ciências Biológicas
15 CEP 86057-970, Londrina, PR – Brazil.

16 Tel.: +55 (43) 3371-4307

17 E-mail address: egmoreira@uel.br

ABSTRACT

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26

Oxidative stress and lipid peroxidation have been described to play a role in psychiatric disorders. Paraoxonase 1 (PON1) is a polymorphic antioxidant enzyme with peroxidase properties which activity has been described to be altered in diseases where oxidative stress is involved in the pathophysiology. Since PON1 activity may be estimated using different substrates which may or may not be influenced by polymorphisms, the literature investigating a possible link between PON1 activity and diseases employs different terminologies and may mislead the reader unfamiliar with PON1 to erroneous conclusions. We aimed to revise studies investigating a possible association of PON1 with different psychiatric diseases and report the results using a standardized terminology in order to offer a clearer view on the status of the knowledge. In general, the studies seem to support a decreased PON1 activity determined with the substrate phenylacetate (i.e., arylesterase or AREase), in mood disorders patients (even in the chronic ones) and in drug free schizophrenic (SCZ) patients. In chronic polymedicated SCZ patients, AREase activity is usually similar to control values. Regarding PON1 activity determined with the substrate paraoxon (i.e., POase activity), broad conclusions are more difficult to be established because the results are more heterogenous, which can be partially explained by the fact that this activity is influenced by the Q192R polymorphism and that most of the authors did not adjust the POase activity by this polymorphism. The scarcity of studies investigating PON1 activity in anxiety disorders and obsessive compulsive disorder does not allow general conclusions.

Key words: PON1, anxiety, obsessive compulsive disorder, major depressive disorder, bipolar disorder, schizophrenia.

1 INTRODUCTION

2 Psychiatric disorders have high social and economic impacts. It has
3 been estimated that one in five adults (17.6%) experienced a common mental
4 disorder within the past 12 months and 29.2% across their lifetime (Steel et al.,
5 2014).

6 Psychiatric disorders frequently co-exist with other pathological
7 states such as metabolic syndrome and cardiovascular diseases (Kessler et al.,
8 2007; Merikangas and Kalaydjian, 2007) suggesting the existence of shared
9 pathophysiological mechanism(s). Oxidative stress is a biological condition
10 accompanying mental disorders that has been drawing attention (Ng et al., 2008)
11 and it may link psychiatric disorders and some of the comorbidities (Maes et al.,
12 2011).

13 Paraoxonases (PON) are a family of detoxifying enzymes composed
14 by three members: PON1, PON2 and PON3. PON1 and PON3 are expressed mainly
15 in the liver and part of them are secreted into the blood associated with serum high
16 density lipoproteins (HDLs), whereas PON2 is expressed in nearly all tissues (Bar-
17 Rogovsky et al., 2013). PON2 is the ancient member but the name of the family (i.e.,
18 paraoxonases) derived from the ability of PON1, the most studied PON, to hydrolyze
19 the pesticide paraoxon (Bar-Rogovsky et al., 2013). The primary physiological role of
20 PON1 is still uncertain but since its antioxidant property has been described
21 (Mackness et al., 1993; Watson et al., 1995), this enzyme has been investigated in
22 diseases that involve oxidative imbalance.

23 Considering that oxidative stress with consequent lipid peroxidation
24 have been described to play a role in psychiatric disorders and the peroxidase
25 property of PON1, the association of PON1 with different psychiatric diseases
26 diagnostic and clinical characteristics is the subject of this review.

27

28 DETERMINATION OF PON1 ACTIVITY AND GENOTYPING

29 PON1 is polymorphic and more than 160 single nucleotides
30 polymorphisms (SNP) have been described in the coding or in introns and regulatory
31 regions of the *PON1* gene (Jarvik et al., 2003; Richter et al., 2008). The majority of
32 these polymorphisms have not been yet characterized, but may affect splicing
33 efficiency, message stability or efficiency of polyadenylation.

1 The most studied polymorphisms in the coding region are the Q192R
2 (rs 662) which comprehends a substitution of glutamine by arginine at the position
3 192 and L55M (rs 854560) which comprehends a substitution of leucine by methionine
4 at the position 55.

5 The Q192R polymorphism influences the catalytic activity of PON1
6 but the direction of this change is substrate-dependent (Li et al., 2000; Mackness et
7 al., 2001). The R allozyme is more efficient to detoxify substrates such as paraoxon
8 and 4-chloromethyl phenol acetate (CMPA) whereas the Q one is more efficient to
9 detoxify substrates such as diazoxon, for example. Based on this knowledge, if a
10 study aims to estimate PON1 total plasmatic activity, it is strongly recommended the
11 use of a substrate which detoxifying rate is not influenced by the Q192R, eg.,
12 phenylacetate (Costa et al., 2005; Jarvik et al., 2000). It is noteworthy that many
13 studies from the literature employ the detoxifying rate of paraoxon to estimate PON1
14 total activity and do not adjust the result by the Q192R genotype which can mislead
15 data interpretation.

16 The L55M polymorphism does not affect PON1 catalytic activity, but
17 has been associated with plasma PON1 protein levels. PON1M55 is associated with
18 low plasma PON1 (Mackness et al., 1998). However, this appears to result primarily
19 from linkage disequilibrium with a polymorphism located in the promoter region, i.e.,
20 the C(-108)T. The -108C allele provides higher levels of PON1 (approximately
21 twice) than the -108T allele (Leviev and James, 2000).

22 Another point that needs to be taken into consideration when studies
23 investigating the association of PON1 genotypes with diseases are analyzed is that
24 PON1 activity may vary up to 50-fold and the PON1 protein levels up to 15-fold within
25 the same genotype (Costa et al., 2003; Richter and Furlong, 1999). In this way, it is
26 suggested that on the top of genotyping, PON1 total plasmatic activity be measured
27 in order to adjust the data.

28 Based on the above considerations, it has been suggested that to
29 have a more reliable scenario about PON1 as a marker of susceptibility for diseases,
30 the studies should investigate total PON1 plasmatic activity using phenylacetate (and
31 not paraoxon) associated or not with genotyping (Li et al., 1993).

32 Due to the different terminologies used in the literature, in this review
33 we will standardize the name of the PON1 activity by the substrate used. The

1 readers should be aware that activity determined using paraoxon (POase) or CMPA
2 (CMPAase) are influenced by the Q192R polymorphism and do not reflect total
3 PON1 activity. This later is reflected by AREase activity (substrate is phenylacetate)
4 determined under low salt condition.

6 **PON1 AND ANXIETY**

7 Adult patients diagnosed with general anxiety disorder (GAD) and
8 without other psychiatric comorbidities presented increased levels of hydroperoxides,
9 decreased POase activity (no adjustment for Q192R genotype) and unaltered
10 AREase activity (Bulut et al., 2013). There was no correlation between the severity of
11 GAD and the observed results. In a study conducted with kids and teenagers (6-16
12 years old) diagnosed with any anxiety disorder increased hydroperoxides levels were
13 also reported but neither POase or AREase PON1 activities were influenced by the
14 diagnostics (Ceylan et al., 2014).

15 In a study conducted with healthy subjects derived from a project
16 investigating the role of diverse risk factors in the genotype on responses to regular
17 exercise (Sklan et al., 2004), POase activity (no adjustment for Q192R genotype)
18 showed inverse association with state anxiety (i.e., experienced at a certain time).
19 Moreover, genotyping for Q192R, L55M and C(-108)T polymorphisms showed that
20 in individuals classified as high trait anxiety, it was more frequent PON1 192R
21 homozygous whereas in the ones classified as lower trait anxiety it was more
22 frequent individuals heterozygous to C(-108)T.

24 **PON1 AND OBSESSIVE COMPULSIVE DISORDERS**

25 The only study retrieved with patients diagnosed with obsessive
26 compulsive disorder was conducted with kids and teenagers (8-17 years) and report
27 decreased POase activity (data not adjusted for Q192R genotype) as well as
28 decreased total antioxidant status and increased total oxidant status. AREase activity
29 did not differ significantly between groups (Kandemir et al., 2013).

31 **PON1 AND DEPRESSION**

32 The first study that investigated a possible association between
33 PON1 and MDD patients reported no association (Sarandol et al., 2006) between

1 MDD and POase or AREase activities as well as Q192R functional genotype even
2 though a lipid peroxidation marker (malondialdehyde) was increased in patients. The
3 subjects were patients diagnosed with MDD and without other psychiatric
4 comorbidities. Basal blood was collected with patients free of antidepressants for at
5 least 3 weeks. Lack of altered AREase activity has also been reported in drug-naive
6 women diagnosed with MDD (Kodytková et al., 2009). There are, however, studies
7 reporting significant lower AREase, but not POase, activity in MDD patients (Barim et
8 al., 2009; Bortolasci et al., 2014; Kotan et al., 2011) including in patients that were
9 free of drug for 3 months (Kotan et al., 2011).

10 Regarding the effects of antidepressant treatment on PON1, one
11 study reported reduced POase and AREase activities after 6 weeks of
12 antidepressants treatment (Sarandol et al., 2006) whereas 3 studies reported
13 increased activities. Compared to pre-treatment values, Kodytková et al. (2009)
14 reported increased AREase and POase activities after 24 weeks of antidepressant
15 treatment (drug and dose adjusted for each patient); Barin et al. (2009) reported
16 increased AREase activity but not POase 3 months after the beginning of citalopram
17 treatment; Kotan et al. (2011) reported both AREase and POase activities to be
18 increased 24 weeks after antidepressant treatment.

19 In a meta-analysis study recently published (Liu et al., 2015), the
20 authors reported that serum PON1 activity was lower in acute episodes than controls
21 (studies used were Kotan et al., 2011; Barim et al., 2009 and Bortolasci et al., 2014),
22 but it didn't increase after antidepressant therapy (studies used were Kotan et al.,
23 2011 and Barim et al., 2009). The lack of significance regarding the antidepressant
24 therapy may be a caveat due to lack of statistical power (only 2 studies and a total of
25 67 patients) or to misunderstanding of the nomenclature of the activities. If the
26 authors are considering as paraoxonase activity the activity obtained with paraoxon
27 so we would have a negative (Barim et al., 2009) and a positive (Kotan et al., 2011)
28 study. But in this case, the work of Bortolasci et al (2014) could not have been
29 included in the analysis of acute episodes because they are considering total
30 paraoxonase activity which was obtained with phenylacetate as substrate and is
31 equivalent to what Barim et al. (2009) and Kotan et al., (2011) are considering
32 AREase activity. And if we consider AREase activity, both Barim et al. (2009) and
33 Kotan et al., (2011) studies report increased activity after antidepressant treatment.

1 Besides the association of MDD with PON1 activity, there are also
2 studies reporting on the association with the concentration of the enzyme as well as
3 with polymorphisms. Oglodek (2017) split the patients into mild, moderate and severe
4 depression groups and reported that patients with depression had lower PON1 blood
5 concentration levels as depression became more severe. Lawlor et al. (2007)
6 examined the databank from the British Women's Heart and Health (BWHH) study
7 and reported that in women aged 60-79 years, the 192R genotype was found to be
8 associated with respondent reports of doctor-diagnosed depression. This observation
9 was not corroborated by two other studies that employed DNA methodology (Rice et
10 al., 2009) or functional genotyping (Sarandol et al., 2006). Rice et al. (2009)
11 examined two independent older population samples (the ELSA and InCHIANTI
12 studies) which are not gender specific and have data from validated scales of
13 depression symptoms and found that the Q192R polymorphism was not associated
14 with current depressive symptoms or history of diagnosed depression in either study
15 independently, or across the combined sample of 3919 people aged 60-79 years.

16 In summary, the studies seem to support a decreased AREase PON1
17 activity in MDD patients which may play a role in the pathophysiology of MDD,
18 exacerbating the oxidative stress that is known to occur in this disorder (Maes et al.,
19 2012, 2011). Inflammation also takes place in the pathophysiology of MDD and since
20 PON-1 hepatic synthesis is inhibited by inflammatory stimulus (Feingold et al., 1998)
21 the decreased activity observed in MDD patients may be a result of lower
22 concentration of PON1 in the blood, as suggested by the study of Oglodek (2017).

23 **PON1 AND BIPOLAR DISORDER**

24 Compared to MDD, fewer studies investigating an association
25 between PON1 and bipolar disorder (BD) are available.

26 Regarding PON1 activity, the studies report decreased
27 POase/CMPAase (Ezzaher et al., 2010; Moreira et al., 2017, respectively) and
28 AREase activities (Moreira et al., 2017) in BD; lack of association between AREase
29 activity and BD (Bortolasci et al., 2014). Moreira et al. (2017) also report an inverse
30 association between CMPAase (equivalent to POase) and AREase activities and
31 number of depressive and manic episodes as well as an association between lower
32

1 CMPAase/POase activity and worse scores in quality of life and disability scales,
2 reflecting worse outcomes in mood disorders (both BD and MDD).

3 When PON1 Q192R polymorphism is considered, a positive
4 association between the R allele and BD was reported in a Tunisian population by
5 Ezzaher et al. (2012) which was partially corroborated by Kuçukali et al (2015), who
6 reported a lower frequency of QQ genotype in BD in a Turkish population but it did
7 not reach statistical significance. PON1 L55M studies are controversial with Ezzaher
8 et al. (2012) reporting a higher frequency and Kuçukali et al (2015) reporting a lower
9 frequency of the MM genotype in BD. Both studies, however, found a higher
10 frequency of the heterozygous LM genotype in BD. As previously mentioned, it is
11 difficult to weigh the results of genotyping when PON1 total plasmatic activity is not
12 measured. A priori, it is expected MM genotype individuals to express less PON1 and
13 it would be difficult to understand how they would be protected from BD if we
14 consider the antioxidant role of PON1.

16 **PON1 AND SCHIZOPHRENIA**

17 In drug naïve first episode psychosis (FEP) patients, decreased
18 AREase (Brinholi et al., 2015; Noto et al., 2015; Sarandol et al., 2015) and unaltered
19 POase (Sarandol et al., 2015) activities were reported. Recovery of the AREase
20 activity was observed 11 weeks after risperidone treatment (Noto et al., 2015) but not
21 6 weeks after diverse antipsychotics treatment (Sarandol et al., 2015). Despite the
22 recovery observed after risperidone treatment, AREase activity did not predict
23 treatment outcome though (Noto et al., 2015).

24 The results obtained in chronic patients with schizophrenia (SCZ) are
25 more diverse. In polymedicated SCZ patients, most of the studies report normal
26 AREase (Boll et al., 2017; Yegin, 2012) and POase (Kulaksizoglu and Kulaksizoglu,
27 2016; Mabrouk et al., 2014; Yegin, 2012) activities. Ünsal et al. (2013) reported lower
28 POase activity (not adjusted for PON1 Q192R genotype) in patients taking
29 olanzapine but not in patients taking quetiapine. Noteworthy, the statistical
30 significance disappears if the patients were combined into one group of SCZ patients
31 without taking into consideration the drug being taken. Kuçukali et al. (2008) also
32 reported lower POase activity in chronic SCZ patients. Differently from the other
33 studies, Sarandol et al (2007) evaluated POase and AREase activities in chronic

1 patients after a 3 weeks washout period and reported both activities to be lower than
2 the control group (i.e., similar to what is generally observed in drug naive FEP
3 patients). Six weeks after the drugs being reintroduced, there seems to be a partial
4 recovery of the enzyme activities (post-treatment values were not statistically
5 significant when compared to either pre-treatment or control values). There is only
6 one study reporting increased POase and AREase activities and it was conducted
7 with patients taking clozapine or risperidone for at least 1 year (Gilca et al., 2014).

8 Regarding PON1 polymorphisms, Matsumoto et al (2002) did not find
9 an association between the Q192R polymorphism and SCZ in a case-control study
10 conducted with a Japanese population. On the other hand, Kuçukali et al. (2008)
11 reported the RR genotype to be more prevalent in SCZ patients than controls.

12 Summing up, the majority of studies would suggest that in the
13 beginning of the disease, PON1 activity is lower but it is recovered with the
14 introduction of the appropriate pharmacotherapy even though markers of inflammation
15 and oxidative stress remain altered.

16

17 **FINAL CONSIDERATIONS**

18 There are not too many studies investigating the association of
19 PON1 with psychiatric disorders specially with anxiety disorders and obsessive
20 compulsive disorder.

21 It is noteworthy the great diversity of terminology regarding PON1
22 activity used by different authors which can certainly mislead the reader unfamiliar
23 with PON1 to erroneous conclusions.

24 In general, the studies seem to support a decreased AREase PON1
25 activity in mood disorders patients (both MDD and BD), even in the chronic ones. In
26 SCZ, AREase PON1 activity is also decreased but mainly in drug free patients. In
27 chronic polymedicated patients AREase activity is usually similar to control values,
28 indicating that antipsychotic treatment or the chronicity of the disease seem to
29 recover AREase activity. Regarding POase activity, broad conclusions are more
30 difficult to be established because the results are more heterogenous, which can be
31 partially explained by the fact that this activity is influenced by the Q192R
32 polymorphism and that most of the authors did not adjust the POase activity by this
33 polymorphism.

1 References

- 2
- 3 Bar-Rogovsky, H., Hugenmatter, A., Tawfik, D.S., 2013. The evolutionary origins of
4 detoxifying enzymes: The mammalian serum paraoxonases (PONs) relate to
5 bacterial homoserine lactonases. *J. Biol. Chem.* 288, 23914–23927.
6 doi:10.1074/jbc.M112.427922
- 7 Barim, A.O., Aydin, S., Colak, R., Dag, E., Deniz, O., Sahin, İ., 2009. Ghrelin,
8 paraoxonase and arylesterase levels in depressive patients before and after
9 citalopram treatment. *Clin. Biochem.* 42, 1076–1081.
10 doi:10.1016/j.clinbiochem.2009.02.020
- 11 Boll, K.M., Noto, C., Bonif??cio, K.L., Bortolasci, C.C., Gadelha, A., Bressan, R.A.,
12 Barbosa, D.S., Maes, M., Moreira, E.G., 2017. Oxidative and nitrosative stress
13 biomarkers in chronic schizophrenia. *Psychiatry Res.* 253, 43–48.
14 doi:10.1016/j.psychres.2017.03.038
- 15 Bortolasci, C.C., Vargas, H.O., Souza-Nogueira, A., Barbosa, D.S., Moreira, E.G.,
16 Nunes, S.O.V., Berk, M., Dodd, S., Maes, M., 2014. Lowered plasma
17 paraoxonase (PON)1 activity is a trait marker of major depression and PON1
18 Q192R gene polymorphism–smoking interactions differentially predict the odds
19 of major depression and bipolar disorder. *J. Affect. Disord.* 159, 23–30.
20 doi:10.1016/j.jad.2014.02.018
- 21 Brinholi, F.F., Noto, C., Maes, M., Bonifácio, K.L., Brietzke, E., Ota, V.K., Gadelha,
22 A., Cordeiro, Q., Belangero, S.I., Bressan, R.A., Vargas, H.O., Higachi, L., de
23 Farias, C.C., Moreira, E.G., Barbosa, D.S., 2015. Lowered paraoxonase 1
24 (PON1) activity is associated with increased cytokine levels in drug naïve first
25 episode psychosis. *Schizophr. Res.* 166, 225–230.
26 doi:10.1016/j.schres.2015.06.009
- 27 Bulut, M., Selek, S., Bez, Y., Karababa, I.F., Kaya, M.C., Gunes, M., Emhan, A.,
28 Aksoy, N., Sir, A., 2013. Reduced PON1 enzymatic activity and increased lipid
29 hydroperoxide levels that point out oxidative stress in generalized anxiety
30 disorder. *J. Affect. Disord.* 150, 829–833. doi:10.1016/j.jad.2013.03.011
- 31 Ceylan, M.F., Guney, E., Alisik, M., Ergin, M., Dinc, G.S., Goker, Z., Eker, S.,
32 Kizilgun, M., Erel, O., 2014. Lipid peroxidation markers in children with anxiety
33 disorders and their diagnostic implications. *Redox Rep.* 19, 92–96.

- 1 doi:10.1179/1351000213Y.0000000082
- 2 Costa, L.G., Cole, T.B., Furlong, C.E., 2005. Paraoxonase (PON1): from toxicology to
3 cardiovascular medicine. *Acta Biomed.* 76 Suppl 2, 50–7.
- 4 Costa, L.G., Cole, T.B., Jarvik, G.P., Furlong, C.E., 2003. Functional genomic of the
5 paraoxonase (PON1) polymorphisms: effects on pesticide sensitivity,
6 cardiovascular disease, and drug metabolism. *Annu. Rev. Med.* 54, 371–392.
7 doi:10.1146/annurev.med.54.101601.152421
- 8 Ezzaher, A., Mouhamed, D., Mechri, A., Araoud, M., Neffati, F., Douki, W., Gaha, L.,
9 Najjar, M., 2010. Lower paraoxonase 1 activity in Tunisian bipolar I patients.
10 *Ann. Gen. Psychiatry* 9, 36. doi:10.1186/1744-859X-9-36
- 11 Ezzaher, A., Mouhamed, D.H., Mechri, A., Neffati, F., Rejeb, J., Omezzine, A., Douki,
12 W., Bouslama, A., Gaha, L., Najjar, M.F., 2012. Association between bipolar I
13 disorder and the L55M and Q192R polymorphisms of the paraoxonase 1 (PON1)
14 gene. *J. Affect. Disord.* 139, 12–17. doi:10.1016/j.jad.2011.06.029
- 15 Feingold, K.R., Memon, R.A., Moser, A.H., Grunfeld, C., 1998. Paraoxonase activity
16 in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase
17 response. *Atherosclerosis* 139, 307–315. doi:10.1016/S0021-9150(98)00084-7
- 18 Gilca, M., Piriou, G., Gaman, L., Delia, C., Iosif, L., Atanasiu, V., Stoian, I., 2014. A
19 study of antioxidant activity in patients with schizophrenia taking atypical
20 antipsychotics. *Psychopharmacology (Berl.)* 231, 4703–4710.
21 doi:10.1007/s00213-014-3624-0
- 22 Jarvik, G.P., Jampsa, R., Richter, R.J., Carlson, C.S., Rieder, M.J., Nickerson, D. a,
23 Furlong, C.E., 2003. Novel paraoxonase (PON1) nonsense and missense
24 mutations predicted by functional genomic assay of PON1 status.
25 *Pharmacogenetics* 13, 291–5. doi:10.1097/01.fpc.0000054086.48725.90
- 26 Jarvik, G.P., Rozek, L.S., Brophy, V.H., Hatsukami, T.S., Richter, R.J., Schellenberg,
27 G.D., Furlong, C.E., 2000. Paraoxonase (PON1) phenotype is a better predictor
28 of vascular disease than is PON1 192 or PON1 55 genotype. *Arterioscler.*
29 *Thromb. Vasc. Biol.* 20, 2441–2447.
- 30 Kandemir, H., Abuhandan, M., Aksoy, N., Savik, E., Kaya, C., 2013. Oxidative
31 imbalance in child and adolescent patients with obsessive compulsive disorder.
32 *J. Psychiatr. Res.* 47, 1831–1834. doi:10.1016/j.jpsychires.2013.08.010
- 33 Kessler, R.C., Merikangas, K.R., Wang, P.S., 2007. Prevalence, comorbidity, and

- 1 service utilization for mood disorders in the United States at the beginning of the
2 twenty-first century. *Annu. Rev. Clin. Psychol.* 3, 137–158.
3 doi:10.1146/annurev.clinpsy.3.022806.091444
- 4 Kodydková, J., Vávrová, L., Zeman, M., Jiráček, R., Macáček, J., Staňková, B.,
5 Tvrzická, E., Žák, A., 2009. Antioxidative enzymes and increased oxidative
6 stress in depressive women. *Clin. Biochem.* 42, 1368–1374.
7 doi:10.1016/j.clinbiochem.2009.06.006
- 8 Kotan, V.O., Sarandol, E., Kirhan, E., Ozkaya, G., Kirli, S., 2011. Effects of long-term
9 antidepressant treatment on oxidative status in major depressive disorder: A 24-
10 week follow-up study. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* 35,
11 1284–1290. doi:10.1016/j.pnpbp.2011.03.021
- 12 Kucukali, C.I., Aydin, M., Ozkok, E., Orhan, N., Cakir, U., Kilic, G., Ozbek, Z., Ince,
13 N., Kara, I., 2008. Paraoxonase-1 55/192 genotypes in schizophrenic patients
14 and their relatives in Turkish population. *Psychiatr. Genet.* 18, 289–294.
15 doi:10.1097/YPG.0b013e3283060f94
- 16 Küçükali, C.I., Ulusoy, C., Özkan, Ö., Orhan, N., Güleç, H., Erdağ, E., Buker, S.,
17 Tüzün, E., 2015. Evaluation of paraoxonase 1 polymorphisms in patients with
18 bipolar disorder. *In Vivo (Brooklyn)*. 29, 103–108.
- 19 Kulaksizoglu, B., Kulaksizoglu, S., 2016. Relationship between neutrophil/lymphocyte
20 ratio with oxidative stress and psychopathology in patients with schizophrenia.
21 *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 12, 1999–2005. doi:10.2147/NDT.S110484
- 22 Lawlor, D. a, Day, I.N.M., Gaunt, T.R., Hinks, L.J., Timpson, N., Ebrahim, S., Davey
23 Smith, G., 2007. The association of the paraoxonase (PON1) Q192R
24 polymorphism with depression in older women: findings from the British
25 Women’s Heart and Health Study. *J. Epidemiol. Community Heal.* 61, 85–87.
26 doi:10.1136/jech.2006.049247
- 27 Leviev, I., James, R.W., 2000. Promoter polymorphisms of human paraoxonase
28 PON1 gene and serum paraoxonase activities and concentrations. *Arterioscler.*
29 *Thromb. Vasc. Biol.* 20, 516–521. doi:10.1161/01.ATV.20.2.516
- 30 Li, W., Costa, L.G., Furlong, C.E., 1993. Serum paraoxonase status: a major factor in
31 determining resistance to organophosphates. *J. Toxicol. Environ. Health* 40,
32 337–346.
- 33 Li, W.F., Costa, L.G., Richter, R.J., Hagen, T., Shih, D.M., Tward, a, Lulis, a J.,

- 1 Furlong, C.E., 2000. Catalytic efficiency determines the in-vivo efficacy of PON1
2 for detoxifying organophosphorus compounds. *Pharmacogenetics* 10, 767–79.
- 3 Liu, T., Zhong, S., Liao, X., Chen, J., He, T., Lai, S., Jia, Y., 2015. A Meta-Analysis of
4 Oxidative Stress Markers in Depression. *PLoS One* 10, e0138904.
5 doi:10.1371/journal.pone.0138904
- 6 Mabrouk, H., Mechria, H., Mechri, A., Azizi, I., Neffati, F., Douki, W., Gaha, L., Najjar,
7 M.F., 2014. Paraoxonase 1 activity and lipid profile in schizophrenic patients.
8 *Asian J. Psychiatr.* 9, 36–40. doi:10.1016/j.ajp.2013.12.019
- 9 Mackness, B., Davies, G.K., Turkie, W., Lee, E., Roberts, D.H., Hill, E., Roberts, C.,
10 Durrington, P.N., Mackness, M.I., 2001. Paraoxonase Status in Coronary Heart
11 Disease: Are Activity and Concentration More Important Than Genotype?
12 *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 21, 1451–1457. doi:10.1161/hq0901.094247
- 13 Mackness, B., Mackness, M.I., Arrol, S., Turkie, W., Durrington, P.N., 1998. Effect of
14 the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the
15 protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative
16 modification. *FEBS Lett* 423, 57–60. doi:S0014-5793(98)00064-7 [pii]
- 17 Mackness, M.I., Arrol, S., Abbott, C., Durrington, P.N., 1993. Protection of low-
18 density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein
19 associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 104, 129–135. doi:10.1016/0021-
20 9150(93)90183-U
- 21 Maes, M., Fišar, Z., Medina, M., Scapagnini, G., Nowak, G., Berk, M., 2012. New
22 drug targets in depression: inflammatory, cell-mediated immune, oxidative and
23 nitrosative stress, mitochondrial, antioxidant, and neuroprogressive pathways.
24 And new drug candidates—Nrf2 activators and GSK-3 inhibitors.
25 *Inflammopharmacology* 20, 127–150. doi:10.1007/s10787-011-0111-7
- 26 Maes, M., Kubera, M., Obuchowiczwa, E., Goehler, L., Brzeszcz, J., 2011. (Neuro)
27 Inflammatory and Oxidative & Nitrosative Stress Pathways. *Neuroendocrinol.*
28 *Lett.* 32, 7–24.
- 29 Merikangas, K.R., Kalaydjian, A., 2007. Magnitude and impact of comorbidity of
30 mental disorders from epidemiologic surveys. *Curr. Opin. Psychiatry* 20, 353–8.
31 doi:10.1097/YCO.0b013e3281c61dc5
- 32 Moreira, E.G., Correia, D.G., Bonifácio, K.L., Moraes, J.B. de, Cavicchioli, F.L.,
33 Nunes, C.S., Nunes, S.O.V., Vargas, H.O., Barbosa, D.S., Maes, M., 2017.

- 1 Lowered PON1 activities are strongly associated with depression and bipolar
2 disorder, recurrence of (hypo)mania and depression, increased disability and
3 lowered quality of life. *World J. Biol. Psychiatry* 0, 1–13.
4 doi:10.1080/15622975.2017.1322219
- 5 Ng, F., Berk, M., Dean, O., Bush, A.I., 2008. Oxidative stress in psychiatric disorders:
6 evidence base and therapeutic implications. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 11,
7 851–876. doi:10.1017/S1461145707008401
- 8 Noto, C., Ota, V.K., Gadelha, A., Noto, M.N., Barbosa, D.S., Bonifácio, K.L., Nunes,
9 S.O., Cordeiro, Q., Belangero, S.I., Bressan, R.A., Maes, M., Brietzke, E., 2015.
10 Oxidative stress in drug naïve first episode psychosis and antioxidant effects of
11 risperidone. *J. Psychiatr. Res.* 68, 210–216.
12 doi:10.1016/j.jpsychires.2015.07.003
- 13 Oglodek, E.A., 2017. The role of PON-1, GR, IL-18, and OxLDL in depression with
14 and without posttraumatic stress disorder. *Pharmacol. Reports* 69, 837–845.
15 doi:10.1016/j.pharep.2017.03.015
- 16 Rice, N.E., Bandinelli, S., Corsi, A.M., Ferrucci, L., Guralnik, J.M., Miller, M.A.,
17 Kumari, M., Murray, A., Frayling, T.M., Melzer, D., 2009. The paraoxonase
18 (PON1) Q192R polymorphism is not associated with poor health status or
19 depression in the ELSA or INCHIANTI studies. *Int. J. Epidemiol.* 38, 1374–1379.
20 doi:10.1093/ije/dyp265
- 21 Richter, R.J., Furlong, C.E., 1999. Determination of paraoxonase (PON1) status
22 requires more than genotyping. *Pharmacogenetics* 9, 745–753.
- 23 Richter, R.J., Jarvik, G.P., Furlong, C.E., 2008. Determination of Paraoxonase 1
24 Status Without the Use of Toxic Organophosphate Substrates. *Circ. Cardiovasc.*
25 *Genet.* 1, 147–152. doi:10.1161/CIRCGENETICS.108.811638
- 26 Sarandol, A., Kirli, S., Akkaya, C., Altin, A., Demirci, M., Sarandol, E., 2007.
27 Oxidative–antioxidative systems and their relation with serum S100 B levels in
28 patients with schizophrenia: Effects of short term antipsychotic treatment. *Prog.*
29 *Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* 31, 1164–1169.
30 doi:10.1016/j.pnpbp.2007.03.008
- 31 Sarandol, A., Sarandol, E., Acikgoz, H.E., Eker, S.S., Akkaya, C., Dirican, M., 2015.
32 First-episode psychosis is associated with oxidative stress: Effects of short-term
33 antipsychotic treatment. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 69, 699–707.

- 1 doi:10.1111/pcn.12333
- 2 Sarandol, A., Sarandol, E., Eker, S.S., Karaagac, E.U., Hizli, B.Z., Dirican, M., Kirli,
3 S., 2006. Oxidation of apolipoprotein B-containing lipoproteins and serum
4 paraoxonase/arylesterase activities in major depressive disorder. *Prog. Neuro-*
5 *Psychopharmacology Biol. Psychiatry* 30, 1103–1108.
6 doi:10.1016/j.pnpbp.2006.04.012
- 7 Sklan, E.H., Lowenthal, A., Korner, M., Ritov, Y., Landers, D.M., Rankinen, T.,
8 Bouchard, C., Leon, A.S., Rice, T., Rao, D.C., Wilmore, J.H., Skinner, J.S.,
9 Soreq, H., 2004. Acetylcholinesterase/paraoxonase genotype and expression
10 predict anxiety scores in Health, Risk Factors, Exercise Training, and Genetics
11 study. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101, 5512–5517. doi:10.1073/pnas.0307659101
- 12 Steel, Z., Marnane, C., Iranpour, C., Chey, T., Jackson, J.W., Patel, V., Silove, D.,
13 2014. The global prevalence of common mental disorders: A systematic review
14 and meta-analysis 1980-2013. *Int. J. Epidemiol.* 43, 476–493.
15 doi:10.1093/ije/dyu038
- 16 Ünsal, C., Albayrak, Y., Albayrak, N., Kuloğlu, M., Hashimoto, K., 2013. Reduced
17 serum paraoxonase 1 (PON1) activity in patients with schizophrenia treated with
18 olanzapine but not quetiapine. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 9, 1545–1552.
19 doi:10.2147/NDT.S52463
- 20 Watson, a D., Berliner, J. a, Hama, S.Y., La Du, B.N., Faull, K.F., Fogelman, a M.,
21 Navab, M., 1995. Protective effect of high density lipoprotein associated
22 paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density
23 lipoprotein. *J. Clin. Invest.* 96, 2882–2891. doi:10.1172/JCI118359
- 24 Yegin, A., 2012. Increased Oxidant Stress and Inflammation in Patients with Chronic
25 Schizophrenia. *Int. J. Clin. Med.* 3, 368–376. doi:10.4236/ijcm.2012.35070

4.2 OXIDATIVE AND NITROSATIVE STRESS BIOMARKERS IN CHRONIC SCHIZOPHRENIA

Psychiatry Research 253 (2017) 43–48



Contents lists available at ScienceDirect

Psychiatry Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/psychres

Oxidative and nitrosative stress biomarkers in chronic schizophrenia



Karine Maria Boll^{a,1}, Cristiano Noto^{b,c,1}, Kamila Landucci Bonifácio^a, Chiara Cristina Bortolasci^a, Ary Gadelha^c, Rodrigo Affonseca Bressan^c, Décio Sabbatini Barbosa^a, Michael Maes^{a,d,e,f,g,h,2}, Estefania Gastaldello Moreira^{a,2}

^a Graduation Program in Health Sciences, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brazil

^b First Episode Psychosis Program, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

^c Schizophrenia Program (PROESQ), Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

^d Department of Psychiatry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

^e IMPACT Strategic Research Center, Deakin University, Geelong, Australia

^f Resilialis, Waalre, the Netherlands

^g Department of Psychiatry, Medical University of Plovdiv, Plovdiv, Bulgaria

A B S T R A C T

There is evidence that the acute phase of schizophrenia (SCZ) is accompanied by specific changes in oxidative and nitrosative stress (O & NS) biomarkers. There are, however, no firm data regarding these biomarkers in chronic SCZ. Therefore, this study aimed to delineate O & NS biomarkers in patients with chronic SCZ. 125 outpatients with SCZ and 118 controls were enrolled. The markers included lipid hydroperoxides (LOOH), advanced oxidation protein products (AOPP), nitric oxide metabolites (NOx), total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP) and paraoxonase 1 (PON-1) activity. Immune-inflammatory markers known to be altered in SCZ were also measured: leptin, IL-6, soluble TNF receptors (sTNF-Rs) and the chemokines CCL-11 and CCL-3. There were no significant associations between chronic SCZ and the O & NS markers (AOPP, NOx, LOOH) and the anti-oxidants PON-1 and TRAP. Leptin, sTNF-R, CCL-3 and CCL-11 were significantly higher in SCZ. There were significant associations between pro-inflammatory and O & NS biomarkers (leptin/CCL-8 and AOPP; IL-6 and NOx; CCL-3 and LOOH; CCL-3/IL-6/NOx and TRAP). In conclusion, there were significant intercorrelations between inflammatory and O & NS pathways, which play a role in the pathophysiology of chronic SCZ. O & NS markers and the enzyme PON-1 are not useful as biomarkers in chronic stable polymedicated SCZ patients.

1. Introduction

Schizophrenia (SCZ) is a chronic psychiatric disorder with a neuroprogressive course (Davis et al., 2014). Its etiology is multifactorial, with important genetic components. On the top of altered dopaminergic neurotransmission, abnormal functioning of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis as well as activated immune-inflammatory pathways (see Stuart and Baune, 2014 for a list of references) and redox cascades have been reported (Leza et al., 2015; Moylan et al., 2014; Tsai et al., 2013). The role that these pathways play in neuroprogression have been specially investigated since they can affect neuronal plasticity, signal transduction and induce apoptosis (Leza et al., 2015; Mahadik et al., 2001; Manji et al., 2012; Sen et al., 2008; Shahani and Sawa, 2012). Several biomarkers have been investigated as potential indicators of trait, neuroprogression and treatment effec-

tiveness. Nevertheless, meta-analyses studies (Miller et al., 2011; Potvin et al., 2008; Zhang et al., 2008) demonstrated an impressive heterogeneity of results in the literature, suggesting that characteristics such as stage of the illness, use of medications and clinical features might be confounding factors.

For oxidative/nitrosative stress (O & NS) markers in early stages of SCZ, Şimşek et al. (2016) reported that untreated adolescents with acute psychosis did not differ from controls in their plasmatic levels of the antioxidants superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) as well as 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG), a marker of DNA oxidation.

In first episode psychosis (FEP) patients (i.e., patients that are experiencing psychotic symptoms or a psychotic episode for the first time), peripheral oxidative stress is suggested to be present by data reporting increased SOD activity, enhanced levels of lipid peroxidation

* Corresponding author at: IMPACT Strategic Research Center, Barwon Health, Deakin University, Geelong, Vic, Australia.
E-mail addresses: dr.michaelmaes@hotmail.com (M. Maes).

¹ Both authors contributed equally to this work.

² MM and EGM share senior authorship.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.psychres.2017.03.038>

Received 5 August 2016; Received in revised form 30 January 2017; Accepted 21 March 2017

Available online 21 March 2017

0165-1781/© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

markers (i.e., malondialdehyde or MDA and thiobarbituric acid reactive substances or TBARS), decreased activity of both GPx and paraoxonase 1 (PON1) as well as lowered total radical-trapping antioxidant capacity (TRAP) (García-Buena et al., 2014; Noto et al., 2015b; Sarandol et al., 2015). Additionally, García-Buena et al. (García-Buena et al., 2014) also reported an increased activity of nuclear factor kappa B (NFκB), a main regulator of O&NS status, in blood mononuclear cells of FEP patients as well as increased nitrite levels. Treatment with risperidone (11 weeks) normalized PON1 activity and decreased lipid hydroperoxides (LOOH), suggesting an anti-oxidant effect (Noto et al., 2015b) of treatment. Sarandol et al. (Sarandol et al., 2015) did not observe alterations in SOD, MDA and GPx after short-term antipsychotic treatment (6 weeks). Krüsa et al. (2016) did not observe significant differences between controls and FEP patients in serum total antioxidant capacity, peroxides and some oxidative stress indexes but they observed significant improvements in oxidant/antioxidant balance after 7 months of antipsychotics treatment.

In SCZ, meta-analysis studies reported nitric oxide and lipid peroxidation to be increased and seric total antioxidant status (TAS) to be increased after antipsychotic treatment (mainly olanzapine and risperidone) approximately 2.5 months after acute psychosis (Platow et al., 2013). Higher levels of lipid peroxidation and protein carbonyl at early (within first 10 years of a psychotic episode) and late stages of SCZ in the absence of TRAP alterations were observed by Pedrini et al. (2012). Moreover, a meta-analysis published by Coughlin et al. (Coughlin et al., 2013) described that TAS, red blood cells catalase activity (CAT) and plasma nitrite are state markers of SCZ whereas red blood cells SOD appears to be a trait marker because its levels were decreased in FEP, acutely relapsed inpatients and stable outpatients.

Our group has been investigating the profile of various cytokines, chemokines and O&NS markers in different stages of SCZ. FEP patients presented significantly higher IL-6, IL-10 and TNF-α levels as well as TRAP than healthy controls and lower serum activity of PON1 (Noto et al., 2015b). Moreover, an inverse association between PON1 activity and the levels of IL-4, IL-6 and IL-10 was observed (Brinholi et al., 2015). FEP patients treated with risperidone for 11 weeks presented increased activity of PON1 and decreased levels of IL-6, IL-10, TNF-α and lipid hydroperoxides (Noto et al., 2015b). In chronically-treated SCZ patients, we observed increased levels of IL-6, soluble tumor necrosis factor receptors (sTNF-R), leptin and the chemokines CCL-11 (eotaxin) and CCL-3 (MIP-1α), whereas the levels of IL-2, IL-4 and IL-10 were decreased (Noto et al., 2015a). Moreover, using the combination of five biomarkers (sTNF-R1, sTNF-R2, CCL-11, IL-10 and IL-4) we were able to predict the diagnosis of SCZ with a sensitivity of 70.0%, whereas the increased levels of sTNF-R1, sTNF-R2 and CCL-3 were related to treatment resistance (Noto et al., 2015a).

In this study, we focused on some O&NS markers in patients with chronic SCZ versus controls in order to delineate their use as potential biomarkers for chronic SCZ. These markers were chosen because they have been investigated by our group in other neuro-immune diseases as well. O&NS damage to plasmatic lipids (lipid hydroperoxides) and proteins (advanced oxidation protein products) were evaluated as well as the antioxidants TRAP and PON-1 activity. We also examined possible associations between immune-inflammatory markers (leptin, IL-6, sTNF-R1, CXCL-8, CCL-11 and CCL-3) already described in our study population (Noto et al., 2015a) and these O&NS markers.

2. Methods

2.1. Subjects

All patients (125) were recruited at the PROESQ (Schizophrenia Program), an outpatient unit at the Universidade Federal de São Paulo, Brazil. The diagnosis of SCZ was established according to the criteria of the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV-TR) using its Structured Clinical Interview (SCID).

Medical records and familial informants were contacted when necessary. Patients were stable and 41.2% fulfilled remission criteria (Andreassen et al., 2005). The mean age of onset was 22.65 (SD: 8.55), and mean time of illness was 11.75 years (SD: 8.29). Since PROESQ is a specialized center, there is a higher level of treatment resistance (TR) than in regular services. In our sample 56.9% fulfilled criteria of TR and 38.5% were under clozapine treatment. All the others patients were under distinct antipsychotic treatment, including both first and second generation antipsychotics.

The comparison group consisted of 118 healthy volunteers (HC) who neither themselves nor their first-degree family members had a current or previous history of a major psychiatric disorder, including dementia and intellectual disability, according to SCID-I.

Acute and chronic general medical conditions associated with an imbalance in inflammatory responses such as infections, HIV, allergies, pregnancy or the postpartum period, rheumatologic or immunological conditions were exclusion criteria for both cases and controls. In addition, individuals who were under treatment with immunomodulatory drugs were also excluded.

This investigation was carried out in accordance with the latest version of the Declaration of Helsinki. The Research Ethics Committee of UNIFESP approved the research protocol, and all participants provided written informed consent prior to the enrollment.

2.2. Laboratory measurements

A blood sample of 10 mL was withdrawn from all individuals. Blood was immediately centrifuged, and the serum was aliquoted and stored at -80 °C until thawed for the biomarkers assays.

The O&NS markers measured were advanced oxidation protein products (AOPP), lipid hydroperoxides (LOOH), nitric oxide metabolites (NOx), total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP) and the activity of PON-1. AOPP was quantified in a microplate reader (EnSpire, Perkin Elmer, USA) at a wavelength of 340 nm (Hanasand et al., 2012) and is expressed in mM of equivalent chloramine T. LOOH was quantified by chemiluminescence in a Glomax Luminometer (TD 20/20), in the dark, at 30 °C for 60 min (adapted from Flecha et al., 1991 and Panis et al., 2012) and the results are expressed in relative light units (RLU). NOx was assessed in a microplate reader (EnSpire*, Perkin Elmer, USA) at a wavelength of 545 nm by measuring the concentration of nitrite and nitrate (adapted from Navarro-González et al., 1998) and results are expressed as μM. TRAP was evaluated in a microplate reader (Victor X-3, Perkin Elmer, USA) and results are expressed in μM trolox (Repetto et al., 1996). For the determination of seric PON-1 total activity (i.e., arylesterase activity) the rate of hydrolysis of phenyl acetate was determined in a microplate reader (EnSpire, Perkin Elmer, USA) at 270 nm and 25 °C. The activity is expressed in U/mL based on the phenyl acetate molar extinction coefficient of 1.31 mMol/L cm⁻¹ (Richter et al., 2008).

Cytokines and chemokines (IL-6, CXCL-8, CCL-11, CCL-3, sTNF-R1 and leptin), were measured by ELISA (DuoSet, R&D Systems, USA) according to the procedures supplied by the manufacturer and were expressed in pg/mL.

2.3. Statistics

Differences between controls and SCZ subjects were assessed using ANOVAs (continuous variables) or analyses of contingency tables using Pearson chi-square tests (categorical variables). Multivariate general linear model (GLM) analyses were used to examine the effects of explanatory variables (e.g. demographic data and diagnosis) on dependent variables (e.g. the oxidative stress biomarkers). If significant, tests of between-subject effects (univariate GLM analyses) were used to assess the effects of the significant predictor variables on the dependent variables. Automatic stepwise binary logistic regression analysis was used to delineate the significant risk factors of SCZ as dependent

Table 1
Socio-demographic, oxidative & nitrosative stress and inflammatory biomarkers in healthy controls (HC) versus chronic SCZ patients.

Variable	HC	SCZ	F/X ²	df	P
Age (years)	34.8 (10.5)	36.1 (11.0)	0.76	1/216	0.386
Sex (M/F)	74/44	85/40	0.75	1	0.386
Familial income (R \$/month)	2315 (2496)	2560 (2196)	0.31	1/123	0.579
Current smoker (N/Y)	56/22	28/21	2.89	1	0.089
AOPP (nM chloramine T)	191.7 (146.3)	211.2 (159.4)	0.95	1/235	0.330
LOOH (RLU $\times 10^3$)	2.1 (1.6)	2.0 (1.2)	0.30	1/227	0.583
NOx (μ M)	11.9 (9.2)	11.0 (6.0)	0.76	1/235	0.383
TRAP (μ M trolox)	926.9 (149.3)	964.9 (145.4)	3.84	1/230	0.051
PON-1 activity (U/ml)	178.6 (58.6)	181.6 (47.7)	0.18	1/230	0.672
IL-6 (pg/ml)	1.1 (6.1)	0.4 (2.1)	0.63	1/165	0.427
Leptin (pg/ml)	1615.0 (889.1)	2374.0 (1083.2)	22.77	1/167	< 0.001
CXCL-8 (pg/ml)	381.7 (1631.2)	361.3 (1575.1)	0.01	1/166	0.941
CCL-11 (pg/ml)	488.8 (1662.8)	696.5 (1046.1)	0.67	1/166	0.416
CCL-3 (pg/ml)	1550.0 (5761.9)	4465.1 (9358.9)	3.78	1/114	0.054
sTNF-R1 (pg/ml)	791.1 (527.5)	1263.4 (430.0)	31.20	1/166	< 0.001

Continuous variables are presented as means (SD) and were analyzed by ANOVA whereas categorical variables are presented as frequency and were analyzed by the Chi-Square test.

variable and healthy controls as reference group. In order to normalize the data distribution of variables (as assessed using the Kolmogorov-Smirnov test of normality) we log-transformed the biomarkers. All tests were 2-tailed and a p-value of 0.05 was used for statistical significance. The SPSS (version 22) was employed for data analysis.

3. Results

3.1. Socio-demographic and biomarker data

Table 1 shows the socio-demographic and biomarker data of the 243 subjects enrolled in this study. There were no significant differences between controls and patients regarding age, sex, familial income, smoking status and levels of AOPP, NOx, LOOH, TRAP, PON-1, IL-6, CXCL-8, CCL-11 and CCL-3. SCZ patients showed higher levels of leptin and sTNF-R1 than controls. It is noteworthy that we did not use p-corrections on the data presented in Table 1 because these univariate statistical results were only used to define the explanatory variables that were employed as determinants in multivariate GLM and logistic regression analyses.

3.2. O&N stress and immune-inflammatory markers

Table 2 shows the results of multivariate GLM analysis with oxidative stress markers (AOPP, NOx, LOOH, TRAP and PON-1) markers as dependent variables and age, sex and diagnosis as explanatory variables. Multivariate tests showed that age and sex are associated with changes in O&N biomarkers. There was no association between chronic SCZ and these biomarkers. Tests of between-subject effects showed that age was positively associated with NOx and AOPP, whereas males with AOPP, LOOH, NOx and TRAP. PON-1 was not significantly associated with any of the explanatory variables. Forced entry of other putative explanatory variables, including familial income, use of antipsychotics, use of clozapine, showed that these variables were not significantly associated with the biomarkers. Also smoking behavior did not have any significant univariate effect on the biomarkers (F=0.17, df=5/106, p=0.972).

Table 2

Results of multivariate general linear model analysis with oxidative & nitrosative stress (O&N) biomarkers (AOPP, LOOH, NOx, TRAP, PON-1) as dependent variables and age, sex and diagnosis as explanatory variables.

	Dependent variable	Explanatory variable	F	df	p-value
Multivariate	O&N markers	Age	5.67	5/195	< 0.001
		Sex	9.74	5/195	< 0.001
		Diagnosis	1.59	5/195	0.166
Significant between-subject effects	AOPP	Age (+)	15.12	1/199	< 0.001
		Sex (M > F)	21.05		< 0.001
		LOOH (Sex (M > F))	10.52	1/199	0.001
NOx	Age (+)	9.98	1/199	0.022	
	Sex (M > F)	5.35		0.002	
	TRAP (Sex (M > F))	17.56	1/199	< 0.001	

(+): positive association as determined by the parameter estimates.

(-): negative association as determined by the parameter estimates.

M > F: values in males are significantly greater than in females.

Table 3

Multivariate general linear model analysis with the 3 oxidative and nitrosative stress biomarkers (AOPP, LOOH and NOx) as dependent variables and age, sex, diagnosis, TRAP, PON-1 and immune-inflammatory markers (leptin, IL-6, CXCL-8, CCL-11, sTNF-R1) as explanatory variables.

	Dependent variable	Explanatory variable	F	df	p-value	
Multivariate	AOPP, LOOH and NOx	Age	4.73	3/119	0.004	
		Sex	12.26	3/119	< 0.001	
		Diagnosis	1.24	3/119	0.298	
		TRAP	3.06	3/119	0.031	
		PON-1 activity	6.73	3/119	< 0.001	
		Leptin	2.88	3/119	0.039	
		IL-6	2.87	3/119	0.040	
		CXCL-8	4.34	3/119	0.006	
		CCL-11	2.99	3/119	0.034	
		sTNF-R1	0.49	3/119	0.697	
Significant between-subject effects	AOPP	Sex (M > F)	19.22	1/132	< 0.001	
		Age (+)	7.57		0.007	
		Leptin (+)	8.50		0.004	
		TRAP (+)	4.94		0.028	
		PON-1 activity (+)	6.57		0.012	
		CXCL-8 (+)	4.50		0.032	
		NOx	Sex (M > F)	8.81	1/132	0.004
			Age (+)	4.00		0.048
			PON-1 activity (+)	11.04		0.001
			IL-6 (+)	6.46		0.012
LOOH	Sex (M > F)	8.02	1/132	0.005		
	CXCL-8 (+)	6.18		0.014		
	CCL-11 (-)	8.63		0.004		

(+): positive association as determined by the parameter estimates.

(-): negative association as determined by the parameter estimates.

M > F: values in males are significantly greater than in females.

Table 3 shows the results of a multivariate GLM with only the O&N markers (AOPP, LOOH and NOx) as dependent variables and age, sex, diagnosis as well as antioxidant (TRAP, PON-1) and immune-inflammatory (leptin, IL-6, CXCL-8, CCL-11, sTNF-R1) markers as explanatory variables. All explanatory variables, except diagnosis and sTNF-R1 were significantly associated with the O&N biomarkers. The same table shows that AOPP levels were predicted by male sex, age, leptin, TRAP, PON-1 activity and CXCL-8. NOx levels were significantly and positively associated with male sex, age, PON-1 activity and IL-6. LOOH levels were significantly predicted by male sex, CXCL-8 and CCL-11 levels.

Table 4
Multivariate general linear model analysis with oxidative and nitrosative stress biomarkers (AOPP, LOOH and NOx) and immune-inflammatory (IL-6, CXCL-8, sTNF-R1, CCL-3 and leptin) markers as dependent variables and age, sex, diagnosis and antioxidant markers (TRAP and PON-1) as explanatory variables.

	Dependent variables	Explanatory variables	F	df	P
Multivariate	Pre-oxidant and immune-inflammatory markers	Diagnosis	4.00	9/75	< 0.001
		Sex	11.02		< 0.001
		Age	2.17		0.034
		TRAP	4.34		< 0.001
		PON-1 activity	2.34		0.022
Significant between-subject effects	AOPP	Sex (M > F)	10.58	1/89	0.002
		Age (+)	12.92		0.001
		PON-1 activity (+)	8.85		0.004
		Sex (M > F)	15.27	1/89	< 0.001
		Age (+)	5.51		0.021
	NOx	TRAP (-)	7.84		0.006
		PON-1 activity (+)	7.16		< 0.009
		Diagnosis (CON < SCZ)	24.32	1/89	< 0.001
		Sex (M > F)	46.90		< 0.001
	Leptin	TRAP (+)	8.13		0.005
		PON-1 activity (+)	7.67		0.007
		Diagnosis (CON < SCZ)	13.81	1/89	< 0.001
	sTNF-R1	Diagnosis (CON < SCZ)	5.44	1/89	0.022
		TRAP (-)			
	IL-6	Diagnosis (CON < SCZ)	12.78	1/89	0.001
TRAP (-)		9.82		0.002	
CCL-3	Diagnosis (CON < SCZ)	8.40	1/89	0.005	
	TRAP (-)				
CCL-11	Diagnosis (CON < SCZ)				
	TRAP (-)				

(+): positive association as determined by the parameter estimates.

(-): negative association as determined by the parameter estimates.

M > F: values in males are significantly greater than in females.

CON < SCZ: values in healthy controls are significantly lower than in chronic schizophrenia.

Table 4 shows the outcomes of the multivariate GLM analysis with O & NS (AOPP, LOOH and NOx) and immune-inflammatory (leptin, IL-6, CXCL-8, sTNFR-1 and CCL-11) biomarkers as dependent variables and sex, age, diagnosis and antioxidants (TRAP and PON-1) as explanatory variables. All the explanatory variables reached statistical significance. As previously described, AOPP and NOx were positively associated with males, age and PON-1 activity. Moreover, in this model, TRAP was negatively associated with NOx. Leptin was predicted by diagnosis, sex, and TRAP and PON-1 activity. IL-6 and CCL-3 levels were both inversely associated with TRAP levels. As already reported in a previous paper from our group, the chronic SCZ group showed higher leptin, sTNF-R1, CCL-11 and CCL-3 levels than controls (Noto et al., 2015a).

3.3. Logistic regression of odds of chronic SCZ versus healthy controls

Table 5 shows the outcome of an automatic binary logistic regression analysis with SCZ as the dependent variable (controls as the reference group). Four variables significantly predicted SCZ ($X^2=78.49$, $df=4$, $p < 0.001$; Nagelkerke=0.555): sTNF-R1, CCL-11, leptin, and TRAP were positively associated with SCZ. Forced entry of sex and age showed no significant association with SCZ.

4. Discussion

Differently from our *a priori* hypothesis, there was a lack of

Table 5
Automatic logistic regression analysis with chronic schizophrenia as dependent variables (controls as reference group) and the 5 oxidative & nitrosative stress (O & NS) and 5 immune-inflammatory biomarkers as explanatory variables (forced entry of age and gender).

Significant explanatory variables	Wald	Df	P	Odds ratio	95% Lower–Upper CI
sTNF-R1	6.90	1	0.009	5.16	1.52–17.55
CCL-11	4.56	1	0.033	1.97	1.06–3.68
Leptin	10.03	1	0.002	1.00	1.00–1.00
TRAP	9.23	1	0.002	1.01	1.00–1.01
Age	1.44	1	0.230	0.97	0.93–1.02
Sex	2.78	1	0.096	0.33	0.09–1.21

95% CI: 95% confidence intervals (lower – upper).

association between SCZ and O & NS markers (AOPP, NOx and LOOH) as well as the anti-oxidant enzyme PON-1. Presence of SCZ did not explain the variation in the evaluated O & NS markers either when they were evaluated alone or when they were combined with inflammatory markers. This was somewhat surprising since O & NS is known to be present in SCZ (Anderson et al., 2013; Bošković et al., 2011; Leza et al., 2015). However, there are discrepant results in the literature (Bošković et al., 2011; Smaga et al., 2015), which can be explained by a myriad of factors such as the diversity of cases enrolled in each study (stage of the disease, nutritional habits, type of antipsychotic used, ethnicity, lifestyle) and analytical techniques. Regarding antipsychotics, we have recently published a study comparing the *in vitro* antioxidant capacity of six drugs (clozapine, olanzapine, risperidone, ziprasidone, quetiapine and haloperidol) and there were important differences among them, which could be explained by their chemical structure (Brinholi et al., 2016). Since patients were under different antipsychotics and the markers were evaluated in the peripheral blood, it is possible to conceive that depending on the antipsychotic plasmatic level and on the antipsychotic anti-oxidant potential, some markers may have been influenced by the presence of the drug.

Significant associations were observed among some of the inflammatory and the O & NS markers evaluated in our study. The positive associations among pro-inflammatory cytokines and O & NS markers (i.e., leptin and CXCL-8 with AOPP; IL-6 with NOx; and CXCL-8 with LOOH) reinforce the intricate relation among inflammatory and oxidative/nitrosative pathways. Moreover, the multivariate general linear model indicated that levels of anti-oxidants would explain part of the variation in O & NS markers and leptin in a positive relation, i.e., the greater the anti-oxidants the greater the O & NS markers or leptin. PON-1 was positively associated with AOPP, NOx and leptin, whereas TRAP was associated with AOPP and leptin. We could speculate that these anti-oxidants are up-regulated as a compensatory mechanism to counteract the increased oxidation but PON-1 activity is known to be decreased by O & NS, leptin and inflammation (Belkowski et al., 2010; Bionaz et al., 2007). As a matter of fact, PON-1 is considered a negative acute phase protein which hepatic synthesis is inhibited by an inflammatory stimulus (Feingold et al., 1998) and it is noteworthy that in FEP patients we did observe a decrease in the total plasmatic activity of PON-1 which was reestablished after 11 weeks of treatment with risperidone (Noto et al., 2015b). Paralleling this result, Sarandol et al. reported reduced paraoxonase and arylesterase activities of PON1 in drug-naïve or drug-free patients, which were partially recovered after a 6-week antipsychotic treatment (Sarandol et al., 2007b). However, in the present study we are dealing with chronic, stable, polymedicated patients and since PON-1 is known to be modulated by diverse environmental factors (Costa et al., 2011) the current knowledge does not allow us to speculate what would be the net influence of diverse inflammatory markers and drugs on the PON1 modulation. In our study, besides the positive associations mentioned above, there was

a negative association between TRAP and NOx, IL-6 and CCL-3 and a logistic regression indicated TRAP to be a weak but protective factor for SCZ which would corroborate studies that indicate TRAP to be reduced in patients with SCZ (Albayrak et al., 2013; Chittiprol et al., 2010; Koga et al., 2015). There are, however, studies that indicate increased levels of TAS (Vidović et al., 2014) and no difference in TRAP (Sarandol et al., 2007a). These diverging results may rely on the fact that TRAP is influenced by many confounding factors such as sex, age, diet, vitamin E and C, hemoglobin and uric acid levels (Ghiselli et al., 2000; Sautin and Johnson, 2008).

The main associations that we observed with the O & NS markers were with physiological variables. As expected, an increase in the O & NS status was observed with age (NOx and AOPP) and in males (AOPP, LOOH and NOx).

The logistic regression conducted with the O & NS and the inflammatory markers indicated that the main predictors in chronic SCZ were the sTNF-R1 (5-fold higher) and CCL-11 (2-fold higher) reinforcing what has already been reported by Noto et al. (2015a). Increased levels of TNF- α and/or TNF receptors are consistently reported to be increased in SCZ patients at different stages of the disease (Brinholi et al., 2015; Coelho et al., 2008; Hope et al., 2009; Miller et al., 2011; Noto et al., 2015a; Potvin et al., 2008). Less investigated, however, is the chemokine CCL-11 in these patients. CCL-11 is a selective recruiter of eosinophils and more recently it has been reported to play a role in aging-associated impairment of both hippocampal neurogenesis and learning and memory (Villeda et al., 2011). In this way, CCL-11 may be a key player in the modulation of hippocampal function by the immune system and this may have great relevance to psychiatric disorders in which decreased hippocampal neurogenesis occurs such as depression, bipolar disorder and SCZ. As a matter of fact, an association between increased plasmatic CCL-11 and SCZ was observed in two other studies (Azevedo et al., 2013; Teixeira et al., 2008).

Leptin also reached significance as a predictor of SCZ but to a lower extent than sTNF-R1 and CCL-11 did. Leptin is an inflammatory cytokine synthesized in the adipocytes that is essential for Th1 and Th2-dependent immune responses (Batra et al., 2010). Even though diverse confounding factors (e.g. age, sex, obesity, metabolic syndrome diagnosis) may influence the level of leptin, a meta-analysis study published recently (Stubbs et al., 2016) reported leptin to be elevated in patients with SCZ after adjusting data for the use of antipsychotics or BMI. Leptin has been suggested as a marker of SCZ and to be related to behavioral and cognitive alterations present in this disorder (Neelamekum et al., 2014).

In conclusion, the O & NS markers evaluated in this study did not differ between chronic SCZ patients and controls suggesting that pharmacotherapy may be more effective in modulating the peripheral oxidative response rather than the immune-inflammatory one. Moreover, these findings also suggest that O & NS markers and the enzyme PON-1 are not useful as biomarkers in chronic stable poly-medicated SCZ patients.

Funding

CN and KLB received PhD scholarships from CAPES. MM is supported by a CNPq PVE fellowship at the Health Sciences Graduation Program, Universidade Estadual de Londrina. DSB is a senior research fellow from Fundação Araucária.

Conflict of interest

AG was on the Speakers' Bureau and/or has acted as a consultant for Janssen-Cilag.

RAB has received research funding from FAPESP, CNPq, CAPES, Fundação Safrá, Fundação ABADS, Janssen, Eli Lilly, Lundbeck, Novartis and Roche, has served as a speaker for Astra Zeneca, Bristol, Janssen, Lundbeck and Revista Brasileira de Psiquiatria and

is a shareholder of Radiopharmacia Ltda and Biomolecular Technology Ltda.

References

- Albayrak, Y., Ünal, C., Beyazyüz, M., Ünal, A., Kılıçlı, M., 2013. Reduced total antioxidant level and increased oxidative stress in patients with deficit schizophrenia: a preliminary study. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 45, 144–149. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.04.020>.
- Anderson, G., Berk, M., Dodd, S., Bechter, K., Alhama, A.C., Dell'Osso, B., Kanba, S., Moutji, A., Fatemi, S.H., Buckley, P., Debnath, M., Das, U.N., Meyer, U., Müller, N., Kamchanatawan, B., Maes, M., 2013. Immuno-inflammatory, oxidative and nitrosative stress, and neuroprogressive pathways in the etiology, course and treatment of schizophrenia. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 42, 1–4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.10.008>.
- Androssen, N.C., Carpenter, W.T., Kane, J.M., Lasser, R.A., Marder, S.R., Weinberger, D.R., 2005. Remission in schizophrenia: proposed criteria and rationale for consensus. *Am. J. Psychiatry* 162, 441–449. <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.162.3.441>.
- Azevedo, E., Gadelha, A., Noto, C., Manter, R.B., Zugman, A., Belangero, S.I.N., Berberian, A.A., Scarpato, B.S., Ladeira, E., Teixeira, A.L., Gama, C.S., Bragança, R.A., Brietzke, E., 2013. Impact of peripheral levels of chemokines, BDNF and oxidative markers on cognition in individuals with schizophrenia. *J. Psychiatry. Res.* 47, 1376–1382. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2013.05.032>.
- Batra, A., Ghur, B., Glauber, R., Erben, U., Ilbe, J., Stroth, T., Fedde, I., Chang, H.D., Zeitz, M., Siegmund, B., 2010. Leptin: a critical regulator of CD4+ T-cell polarization in vitro and in vivo. *Endocrinology* 151, 56–62. <http://dx.doi.org/10.1210/en.2009-0565>.
- Belkowski, J., Wojcicka, G., Jakubowski, H., 2010. Modulation of paraoxonase 1 and protein N-homocysteinylation by leptin and the synthetic liver X receptor agonist T0901317 in the rat. *J. Endocrinol.* 204, 191–198. <http://dx.doi.org/10.1093/endo/bq-0298>.
- Biomax, M., Yrevski, E., Calamari, L., Librandi, F., Ferrarri, A., Bertoni, G., 2007. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90, 1740–1750. <http://dx.doi.org/10.3181/jds.2006-445>.
- Bošković, M., Vovk, T., Koves Plešničar, B., Grabnar, I., 2011. Oxidative stress in schizophrenia. *Curr. Neuropharmacol.* 9, 301–312. <http://dx.doi.org/10.2174/157015911795596595>.
- Brinholi, F.F., Farias, C.C. de, Bonifácio, K.L., Higuchi, L., Casagrande, R., Moreira, E.G., Barbosa, D.S., 2016. Clozapine and olanzapine are better antioxidants than haloperidol, quetiapine, risperidone and ziprasidone in vitro models. *Biomed. Pharmacother.* 81, 411–415. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2016.02.047>.
- Brinholi, F.F., Noto, C., Maes, M., Bonifácio, K.L., Brietzke, E., Ota, V.K., Gadelha, A., Cordeiro, Q., Belangero, S.I., Bragança, R.A., Vargas, H.O., Higuchi, L., de Farias, C.C., Moreira, E.G., Barbosa, D.S., 2015. Lowered paraoxonase 1 (PON1) activity is associated with increased cytokine levels in drug naïve first episode psychosis. *Schizophr. Res.* 166, 225–230. <http://dx.doi.org/10.1016/j.schres.2015.06.009>.
- Chittiprol, S., Venkatasubramanian, G., Nodakantachar, N., Babu, S.V.S., Reddy, N.A., Shetty, K.T., Gangadhar, B.N., 2010. Oxidative stress and neopterin abnormalities in schizophrenia: a longitudinal study. *J. Psychiatry. Res.* 44, 310–313. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2009.09.002>.
- Coelho, F.M., Reis, H.J., Nicodato, R., Romano-Silva, M.A., Teixeira, M.M., Buzas, M.E., Teixeira, A.L., 2008. Increased serum levels of inflammatory markers in chronic institutionalized patients with schizophrenia. *Neuroimmunomodulation* 15, 140–144.
- Costa, L.G., Giordano, G., Furlong, C.E., 2011. Pharmacological and dietary modulators of paraoxonase 1 (PON1) activity and expression: the hunt goes on. *Biochem. Pharm.* 81, 337–344. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2010.11.008>.
- Coughlin, J.M., Ishimiki, K., Kano, S.I., Edwards, J.A., Sefidodin, F.T., Shimano, M.A., Daley, E.L., Zandi, P.P., Lewke, F.M., Casella, N.G., Pomper, M.G., Yellon, R.H., Sawa, A., 2013. Marked reduction of soluble superoxide dismutase-1 (SOD1) in cerebrospinal fluid of patients with recent-onset schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 18, 10–11. <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2012.6>.
- Davis, J., Moylan, S., Harvey, B.H., Maas, M., Berk, M., 2014. Neuroprogression in schizophrenia: pathways underpinning clinical staging and therapeutic corollaries. *Aust. New Z. J. Psychiatry* 48, 512–529. <http://dx.doi.org/10.1177/004467414333012>.
- Feingold, K.R., Memon, R.A., Moser, A.H., Grunfeld, C., 1998. Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response. *Atherosclerosis* 139, 307–315. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9150\(98\)00084-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9150(98)00084-7).
- Flotow, J., Buckley, P., Miller, B.J., 2013. Meta-analysis of oxidative stress in schizophrenia. *Biol. Psychiatry*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.03.018>.
- Flecha, J.G., Llesuy, S., Boveris, A., 1991. Hydroperoxide-initiated chemiluminescence: an assay for oxidative stress in biopsies of heart, liver and muscle. *Free Radic. Biol. Med.* 10, 93–100.
- Garcia-Bueno, R., Bioque, M., Mac-Dowell, K.S., Barcoana, M.F., Martínez-Cengotitabengoa, M., Pina-Camacho, L., Rodríguez-Jiménez, R., Saiz, P.A., Castro, C., Lafuente, A., Santabarbara, J., González-Firto, A., Parellada, M., Rubio, G., García-Portilla, M.P., Mico, J.A., Bernardo, M., León, J.C., 2014. Pro-/Anti-inflammatory dysregulation in patients with first episode of psychosis: toward an integrative inflammatory hypothesis of schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 40, 376–387. <http://dx.doi.org/10.1093/schbul/sbt001>.
- Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F., Scaccini, C., 2000. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic. Biol.*

- Med. 29, 1106–1114.
- Hanassand, M., Omdal, R., Norheim, K.B., Geransson, L.G., Brede, C., Jonsson, G., 2012. Improved detection of advanced oxidation protein products in plasma. *Clin. Chim. Acta* 413, 901–906. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2012.01.038>.
- Hops, S., Melle, L., Aukrust, F., Steen, N.E., Birkenaes, A.B., Lorentzen, S., Agartz, I., Ueland, T., Andreassen, O.A., 2009. Similar immune profile in bipolar disorder and schizophrenia: selective increase in soluble tumor necrosis factor receptor I and von Willebrand factor. *Hope. Bipolar Disord.* 11, 726–734.
- Koga, M., Saitohda, A.V., Sawa, A., Sedlak, T.W., 2015. Implications for reactive oxygen species in schizophrenia pathogenesis. *Schizophr. Res.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.schres.2015.06.022>.
- Krisa, K., Haring, L., Vasar, E., Koido, K., Janno, S., Vasar, V., Zilmer, K., Zilmer, M., 2016. Antipsychotic treatment reduces indices of oxidative stress in first episode psychosis patients. *Oxid. Med. Cell. Longev.*
- Leza, J.C., Garcia-Buena, B., Biocque, M., Arango, C., Parellada, M., Do, K., O'Donnell, P., Bernardo, M., 2015. Inflammation in schizophrenia: a question of balance. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 55, 612–628. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.05.014>.
- Mohadjik, S.P., Evans, D., Lal, H., 2001. Oxidative stress and role of antioxidant and ω -3 essential fatty acid supplementation in schizophrenia. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 25, 463–493. [http://dx.doi.org/10.1016/S0279-5846\(00\)00181-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0279-5846(00)00181-0).
- Mamji, H., Kato, T., Di Prospero, N.A., Neas, S., Beal, M.F., Krams, M., Chen, G., 2012. Impaired mitochondrial function in psychiatric disorders. *Nat. Rev. Neurosci.* 13, 293–307. <http://dx.doi.org/10.1038/nrn3229>.
- Miller, B.J., Buckley, P., Seabolt, W., Melfor, A., Kirkpatrick, B., 2011. Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects. *Biol. Psychiatry* 70, 663–671. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2011.04.013>.
- Moylan, S., Berk, M., Dean, O.M., Samimi, Y., Williams, L.J., O'Neill, A., Hayley, A.C., Pasco, J.A., Anderson, G., Jacka, F.N., Maes, M., 2014. Oxidative & nitrosative stress in depression: why so much stress? *Neurosci. Biobehav. Rev.* 45, 46–62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.05.007>.
- Navarro-González, J. a., García-Benayas, C., Arenas, J., 1998. Semi automated measurement of nitrate in biological fluids. *Clin. Chem.* 44, 679–681.
- Neelamkantan, S., Nurjono, M., Lee, J., 2014. Regulation of interleukin-6 and leptin in schizophrenia patients: a preliminary analysis. *Clin. Psychopharmacol. Neurosci.* 12, 209–214. <http://dx.doi.org/10.9758/cpn.2014.12.3.209>.
- Nota, C., Maes, M., Ota, V.K., Teixeira, A.L., Bressan, R.A., Gadelha, A., Brietzke, E., 2015a. High predictive value of immune-inflammatory biomarkers for schizophrenia diagnosis and association with treatment resistance. *World J. Biol. Psychiatry* 16, 422–429. <http://dx.doi.org/10.3109/15622975.2015.1062552>.
- Nota, C., Ota, V.K., Gadelha, A., Noto, M.N., Barbosa, D.S., Bonifácio, K.L., Nunes, S.O., Cordeiro, Q., Belangero, S.J., Bressan, R.A., Maes, M., Brietzke, E., 2015b. Oxidative stress in drug naïve first episode psychosis and antioxidant effects of risperidone. *J. Psychiatr. Res.* 68, 210–216. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2015.07.003>.
- Panis, C., Herrera, A.C.S.A., Victorino, V.J., Campos, F.C., Freitas, L.F., De Rossi, T., Colado Simão, A.N., Cecchini, A.L., Cecchini, R., 2012. Oxidative stress and hematological profiles of advanced breast cancer patients subjected to paclitaxel or docorubicin chemotherapy. *Breast Cancer Res. Treat.* 133, 89–97. <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-011-1693-x>.
- Padrini, M., Mazzarda, R., Friso, G.R., de Bittoncourt Pasquali, M.A., Schnorr, C.E., Moreira, J.C.F., Teixeira, A.L., Lobato, M.I.R., Walz, J.C., Belmonte-de-Abrun, P.S., Kauer-Sant'Anna, M., Kępczyński, 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. *J. Psychiatr. Res.* 46, 819–824. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2012.03.019>.
- Potvin, S., Sep, E., Sepelny, A.A., Gendron, A., Bah, R., Kotzass, E., 2008. Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol. Psychiatry* 63, 801–808. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.09.024>.
- Repetto, M., Reides, C., Gomez Carretero, M.L., Costa, M., Griemberg, G., Liesay, S., 1996. Oxidative stress in blood of HIV infected patients. *Clin. Chim. Acta* 255, 107–117.
- Richter, R.J., Jarvik, G.P., Furlong, C.E., 2008. Determination of paroxonase I status Without the use of toxic organophosphate substrates. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 1, 147–152. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.108.811638>.
- Sarandol, A., Kirli, S., Akkaya, C., Altin, A., Demirel, M., Sarandol, E., 2007a. Oxidative-antioxidative systems and their relation with serum S100 B levels in patients with schizophrenia: effects of short term antipsychotic treatment. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 31, 1164–1169. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2007.03.008>.
- Sarandol, A., Kirli, S., Akkaya, C., Ocak, N., Eroz, E., Sarandol, E., 2007b. Coronary artery disease risk factors in patients with schizophrenia: effects of short term antipsychotic treatment. *J. Psychopharmacol.* 21, 857–863. <http://dx.doi.org/10.1177/0269881107077609>.
- Sarandol, A., Sarandol, E., Acikgoz, H.E., Eker, S.S., Akkaya, C., Dirican, M., 2015. First-episode psychosis is associated with oxidative stress: effects of short-term antipsychotic treatment. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 69, 699–707. <http://dx.doi.org/10.1111/pcn.12333>.
- Sautin, Y.Y., Johnson, R.J., 2008. Uric Acid: the Oxidant-Antioxidant Paradox. *Nucleotides, Nucleosides Nucleic Acids* 27, 608–619. <http://dx.doi.org/10.1080/15257770802138558>.
- Sen, N., Hara, M.R., Kornberg, M.D., Cascio, M.B., Bao, B.-I., Shabani, N., Thomas, B., Dawson, T.M., Dawson, V.L., Snyder, S.H., Sawa, A., 2008. Nitric oxide-induced nuclear GAPDH activates p300/CBP and mediates apoptosis. *Nat. Cell Biol.* 10, 866–873. <http://dx.doi.org/10.1038/nchi1747>.
- Shahani, N., Sawa, A., 2012. Protein S-nitrosylation: role for nitric oxide signaling in neuronal death. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 1820, 736–742. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.07.010>.
- Simsek, S., Gencoglan, S., Yiksoz, T., Kaplan, I., Alaca, R., Aktas, H., 2016. Oxidative stress and DNA damage in untreated first-episode psychosis in adolescents. *Neuropsychobiology* 73, 92–97. <http://dx.doi.org/10.1159/000444488>.
- Smaga, I., Niedzielska, E., Gawlik, M., Monieczewska, A., Kozek, J., Przegalińska, E., Pesa, J., Filip, M., 2015. Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 2. Depression, anxiety, schizophrenia and autism. *Pharmacol. Rep.* 67, 569–580. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpharep.2014.12.015>.
- Stuart, M.J., Banno, B.T., 2014. Chemokines and chemokine receptors in mood disorders, schizophrenia, and cognitive impairment: a systematic review of biomarker studies. *Neurosci. Biobehav. Rev.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.02.001>.
- Stuhls, B., Wang, A.K., Vancampfort, D., Müller, B.J., 2016. Are leptin levels increased among people with schizophrenia versus controls? A systematic review and comparative meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology* 63, 144–154. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psychres.2015.09.026>.
- Teixeira, A.L., Reis, H.J., Nicolato, R., Brito-Melo, G., Correa, H., Teixeira, M.M., Romano-Silva, M.A., 2008. Increased serum levels of CCL11/eotaxin in schizophrenia. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 32, 730–734. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2007.11.019>.
- Tsai, M.-C., Liou, C.-W., Lin, T.-K., Lin, I.-M., Huang, T.-L., 2013. Changes in oxidative stress markers in patients with schizophrenia: the effect of antipsychotic drugs. *Psychiatry Res.* 209, 284–290. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psychres.2013.01.023>.
- Vidović, B., Stefanović, A., Milovanović, S., Đurđević, B., Kotar-Steveljčić, J., Ivančević, J., Miljković, M., Spasić, S., 2014. Associations of oxidative stress status parameters with traditional cardiovascular disease risk factors in patients with schizophrenia. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 74, 184–191. <http://dx.doi.org/10.3109/00365513.2013.873947>.
- Villeda, S. a., Luo, J., Mosher, K.I., Zou, B., Britschgi, M., Bieri, G., Stan, T.M., Fainberg, N., Ding, Z., Eggel, A., Lacin, K.M., Czir, E., Park, J., Couillard-Despres, S., Aigner, L., Li, G., Peskind, E.R., Koye, J. a., Quinn, J.F., Galasko, D.R., Xie, X.S., Rando, T.A., Wyss-Coray, T., 2011. The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function. *Nature* 477, 90–94. <http://dx.doi.org/10.1038/nature09357>.
- Zhang, X.Y., Zhou, D.F., Wu, G.Y., Cao, L.Y., Tan, Y.L., Hsieh, C.N., Li, J., Lu, L., Kosten, T.A., Kosten, T.R., 2008. BDNF levels and genotype are associated with antipsychotic-induced weight gain in patients with chronic schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 33, 2200–2205. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.npp.1301619>.

1 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

2
3 A revisão realizada mostrou que há poucos estudos na literatura
4 científica que investigaram a associação da PON1 com as doenças psiquiátricas.
5 Entre os diversos diagnósticos estudados, ansiedade e transtorno obsessivo
6 compulsivo são os menos abordados neste tema. Fica evidente que a grande
7 diversidade de terminologias referindo-se à atividade da PON1 utilizadas por cada
8 autor pode facilmente levar leitores com pouca familiaridade a conclusões
9 equivocadas em suas análises.

10 A maioria dos estudos elencados descrevem a redução da atividade
11 AREase da PON1 nos pacientes crônicos com transtornos de humor (depressão e
12 transtorno bipolar). Nos pacientes virgens de medicamento com esquizofrenia, a
13 atividade AREase da PON1 também está reduzida.

14 Já nos pacientes com diagnóstico de esquizofrenia crônica e
15 estáveis (sob tratamento farmacoterapêutico) a atividade da AREase equipara-se
16 aos valores apresentados pelos grupos controles. Tais resultados, apresentados no
17 segundo artigo desta tese, sugerem que ou o tratamento com antipsicóticos ou a
18 cronicidade da doença podem recuperar a atividade da AREase. Diante disso,
19 possivelmente a farmacoterapia é mais efetiva na modulação da resposta oxidativa
20 plasmática que na resposta imune inflamatória, já que encontramos, em
21 consonância com outros autores, resultados que mostram alterações semelhantes
22 frente a este diagnóstico. Portanto, não podemos considerar a PON1 e os
23 marcadores de estresse oxidativo e nitrosativo analisados como biomarcadores
24 confiáveis para esquizofrenia crônica em pacientes medicados.

25 Com relação à atividade POase da PON1, é mais difícil estabelecer
26 conclusões pela heterogeneidade dos resultados publicados, fato que pode ser, pelo
27 menos em parte, explicado pela ausência de ajuste dos dados pelo polimorfismo
28 Q192R.

29 Na busca de novos resultados envolvendo a PON1, é extremamente
30 importante a especificação de qual metodologia e terminologia foram adotadas para
31 a verificação da atividade enzimática e faz-se essencial a realização de ajuste ou
32 correção de acordo com a variância dos polimorfismos da população estudada. A

- 1 partir desta padronização e de novos e maiores estudos a PON1 pode vir a ser um
- 2 marcador para as doenças psiquiátricas.
- 3

1 REFERÊNCIAS

- 2
- 3 AKIRA, S.; KISHIMOTO, T. NF-IL6 and NF-kappa B in cytokine gene regulation.
4 **Advances in immunology**, v. 65, p. 1–46, 1997.
- 5 ANDERSON, G. et al. Immuno-inflammatory, oxidative and nitrosative stress, and
6 neuroprogressive pathways in the etiology, course and treatment of schizophrenia.
7 **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 42, p. 1–
8 4, abr. 2013.
- 9 ANDREASEN, N. C. et al. Remission in Schizophrenia: Proposed Criteria and
10 Rationale for Consensus. **American Journal of Psychiatry**, v. 162, n. 3, p. 441–
11 449, mar. 2005.
- 12 ASEVEDO, E. et al. Impact of peripheral levels of chemokines, BDNF and oxidative
13 markers on cognition in individuals with schizophrenia. **Journal of Psychiatric**
14 **Research**, v. 47, n. 10, p. 1376–1382, out. 2013.
- 15 AVIRAM, M. et al. Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low
16 density lipoprotein and preserved by antioxidants. **Free Radical Biology and**
17 **Medicine**, v. 26, n. 7–8, p. 892–904, abr. 1999.
- 18 AVIRAM, M.; ROSENBLAT, M. Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and
19 macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. **Free Radical**
20 **Biology and Medicine**, v. 37, n. 9, p. 1304–1316, nov. 2004.
- 21 BAR-ROGOVSKY, H.; HUGENMATTER, A.; TAWFIK, D. S. The evolutionary origins
22 of detoxifying enzymes: The mammalian serum paraoxonases (PONs) relate to
23 bacterial homoserine lactonases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 33, p.
24 23914–23927, 2013.
- 25 BEŁTOWSKI, J.; WÓJCICKA, G.; JAMROZ, A. Leptin decreases plasma
26 paraoxonase 1 (PON1) activity and induces oxidative stress: The possible novel
27 mechanism for proatherogenic effect of chronic hyperleptinemia. **Atherosclerosis**, v.
28 170, n. 1, p. 21–29, 2003.

- 1 BERK, M. et al. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on
2 inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. **Neuroscience and**
3 **biobehavioral reviews**, v. 35, n. 3, p. 804–17, jan. 2011.
- 4 BERK, M. et al. Staging in bipolar disorder: from theoretical framework to clinical
5 utility. **World Psychiatry**, v. 16, n. 3, p. 236–244, out. 2017.
- 6 BILLECKE, S. S.; TEIBER, J. F. Pitfalls in the assessment of PON1 status in clinical
7 populations. **Fertility and Sterility**, v. 95, n. 8, p. e63, jun. 2011.
- 8 Biologically-Inspired Biomarkers for Mental Disorders. **EBioMedicine**, v. 17, p. 1–2,
9 mar. 2017.
- 10 BIRBEN, E. et al. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **WAO Journal**, v. 5, n.
11 January, p. 9–19, 2012.
- 12 BORTOLASCI, C. C. et al. Paraoxonase 1 status and interactions between Q192R
13 functional genotypes by smoking contribute significantly to total plasma radical
14 trapping antioxidant potential. **Neuroscience Letters**, v. 581, p. 46–51, out. 2014a.
- 15 BORTOLASCI, C. C. et al. Paraoxonase (PON)1 Q192R functional genotypes and
16 PON1 Q192R genotype by smoking interactions are risk factors for the metabolic
17 syndrome, but not overweight or obesity. **Redox Report**, v. 19, n. 6, p. 232–241, 18
18 nov. 2014b.
- 19 BRINHOLI, F. F. et al. Lowered paraoxonase 1 (PON1) activity is associated with
20 increased cytokine levels in drug naïve first episode psychosis. **Schizophrenia**
21 **Research**, v. 166, n. 1–3, p. 225–230, ago. 2015.
- 22 BUSH, A. I.; TANZI, R. E. Therapeutics for Alzheimer’s disease based on the metal
23 hypothesis. **Neurotherapeutics**, v. 5, n. 3, p. 421–432, jul. 2008.
- 24 CAMPS, J. et al. Paraoxonases as Potential Antibiofilm Agents: Their Relationship
25 with Quorum-Sensing Signals in Gram-Negative Bacteria. **Antimicrobial Agents**
26 **and Chemotherapy**, v. 55, n. 4, p. 1325–1331, abr. 2011.
- 27 CHAN, R. C. K. et al. Brain Anatomical Abnormalities in High-Risk Individuals, First-

- 1 Episode, and Chronic Schizophrenia: An Activation Likelihood Estimation Meta-
2 analysis of Illness Progression. **Schizophrenia Bulletin**, v. 37, n. 1, p. 177–188, 1
3 jan. 2011.
- 4 CHIRICO, E. N.; PIALOUX, V. Role of oxidative stress in the pathogenesis of sickle
5 cell disease. **IUBMB Life**, v. 64, n. 1, p. 72–80, 2012.
- 6 CHIURCHIÙ, V.; ORLACCHIO, A.; MACCARRONE, M. Is Modulation of Oxidative
7 Stress an Answer? The State of the Art of Redox Therapeutic Actions in
8 Neurodegenerative Diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016,
9 p. 1–11, 2016.
- 10 COSTA, L. G. et al. Functional genomic of the paraoxonase (PON1) polymorphisms:
11 effects on pesticide sensitivity, cardiovascular disease, and drug metabolism. **Annual**
12 **Review of Medicine**, v. 54, p. 371–392, 2003.
- 13 COSTA, L. G.; COLE, T. B.; FURLONG, C. E. Paraoxonase (PON1): from toxicology
14 to cardiovascular medicine. **Acta Biomedica**, v. 76 Suppl 2, n. 10, p. 50–7, jan.
15 2005.
- 16 COSTA, L. G.; GIORDANO, G.; FURLONG, C. E. Pharmacological and dietary
17 modulators of paraoxonase 1 (PON1) activity and expression: The hunt goes on.
18 **Biochemical Pharmacology**, v. 81, n. 3, p. 337–344, fev. 2011a.
- 19 COSTA, L. G.; GIORDANO, G.; FURLONG, C. E. Pharmacological and dietary
20 modulators of paraoxonase 1 (PON1) activity and expression: The hunt goes on.
21 **Biochemical Pharmacology**, v. 81, n. 3, p. 337–344, fev. 2011b.
- 22 DAVIS, J. et al. Neuroprogression in schizophrenia: Pathways underpinning clinical
23 staging and therapeutic corollaries. **Australian & New Zealand Journal of**
24 **Psychiatry**, v. 48, n. 6, p. 512–529, 1 jun. 2014.
- 25 DEAKIN, S. et al. Enzymatically Active Paraoxonase-1 Is Located at the External
26 Membrane of Producing Cells and Released by a High Affinity, Saturable, Desorption
27 Mechanism. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 6, p. 4301–4308, 8 fev.
28 2002.

- 1 DEVARAJAN, A. et al. Paraoxonase 2 Deficiency Alters Mitochondrial Function and
2 Exacerbates the Development of Atherosclerosis. **Antioxidants & Redox Signaling**,
3 v. 14, n. 3, p. 341–351, fev. 2011.
- 4 DRAGANOV, D. I. et al. Rabbit Serum Paraoxonase 3 (PON3) Is a High Density
5 Lipoprotein-associated Lactonase and Protects Low Density Lipoprotein against
6 Oxidation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 43, p. 33435–33442, 27 out.
7 2000.
- 8 EFRAT, M.; AVIRAM, M. Paraoxonase 1 Interactions with HDL, Antioxidants and
9 Macrophages Regulate Atherogenesis – A Protective Role for HDL Phospholipids.
10 **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 660, p. 153–166, 2010.
- 11 FEINGOLD, K. R. et al. Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels
12 decrease during the acute phase response. **Atherosclerosis**, v. 139, n. 2, p. 307–
13 315, ago. 1998.
- 14 FERRÉ, N. et al. Impaired paraoxonase-1 status in obese children. Relationships
15 with insulin resistance and metabolic syndrome. **Clinical Biochemistry**, v. 46, n. 18,
16 p. 1830–1836, dez. 2013.
- 17 FLECHA, B. G.; LLESUY, S.; BOVERIS, A. Hydroperoxide-initiated
18 chemiluminescence: an assay for oxidative stress in biopsies of heart, liver and
19 muscle. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 10, p. 93–100, 1991.
- 20 FURLONG, C. E. et al. Paraoxonases-1, -2 and -3: What are their functions?
21 **Chemico-Biological Interactions**, v. 259, n. Pt B, p. 51–62, 25 nov. 2016.
- 22 GARELNABI, M.; LITVINOV, D.; MAHINI, H. Antioxidant and anti-inflammatory role
23 of paraoxonase 1: Implication in arteriosclerosis diseases. **North American Journal**
24 **of Medical Sciences**, v. 4, n. 11, p. 523, 2012.
- 25 GIORDANO, G. et al. Paraoxonase 2 (PON2) in the mouse central nervous system:
26 A neuroprotective role? **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 256, n. 3, p.
27 369–378, nov. 2011.
- 28 GUGLIUCCI, A. Activation of paraoxonase 1 is associated with HDL remodeling ex

- 1 vivo. **Clinica Chimica Acta**, v. 429, p. 38–45, 2014.
- 2 GUGLIUCCI, A.; MENINI, T. Paraoxonase 1 and HDL maturation. **Clinica Chimica**
3 **Acta**, v. 439, p. 5–13, jan. 2015.
- 4 HICKIE, I. B. et al. Clinical classification in mental health at the cross-roads : which
5 direction next ? **BMC Medicine**, p. 1–14, 2013.
- 6 HUMBERT, R. et al. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity
7 polymorphism. **Nature genetics**, v. 3, n. 1, p. 73–6, jan. 1993.
- 8 JARVIK, G. P. et al. Paraoxonase (PON1) Phenotype Is a Better Predictor of
9 Vascular Disease Than Is PON1192 or PON155 Genotype. **Arteriosclerosis,**
10 **Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 20, n. 11, p. 2441–2447, 1 nov. 2000.
- 11 JARVIK, G. P. et al. Paraoxonase activity, but not haplotype utilizing the linkage
12 disequilibrium structure, predicts vascular disease. **Arteriosclerosis, Thrombosis,**
13 **and Vascular Biology**, v. 23, n. 8, p. 1465–1471, 2003.
- 14 KESSLER, R. C.; MERIKANGAS, K. R.; WANG, P. S. Prevalence, comorbidity, and
15 service utilization for mood disorders in the United States at the beginning of the
16 twenty-first century. **Annual review of clinical psychology**, v. 3, p. 137–158, 2007.
- 17 KOTA, S. et al. Implications of serum paraoxonase activity in obesity, diabetes
18 mellitus, and dyslipidemia. **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism**, v.
19 17, n. 3, p. 402, 2013.
- 20 LARGE, M. et al. Meta-Analysis of Longitudinal Cohort Studies of Suicide Risk
21 Assessment among Psychiatric Patients: Heterogeneity in Results and Lack of
22 Improvement over Time. **PLOS ONE**, v. 11, n. 6, p. e0156322, 10 jun. 2016.
- 23 LEONARD, B.; MAES, M. Mechanistic explanations how cell-mediated immune
24 activation, inflammation and oxidative and nitrosative stress pathways and their
25 sequels and concomitants play a role in the pathophysiology of unipolar depression.
26 **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 36, n. 2, p. 764–785, fev. 2012.
- 27 LEVIEV, I.; JAMES, R. W. Promoter polymorphisms of human paraoxonase PON1

- 1 gene and serum paraoxonase activities and concentrations. **Arteriosclerosis,**
2 **thrombosis, and vascular biology**, v. 20, n. 2, p. 516–521, 2000.
- 3 LI, W.; COSTA, L. G.; FURLONG, C. E. Serum paraoxonase status: a major factor in
4 determining resistance to organophosphates. **Journal of Toxicology and**
5 **Environmental Health**, v. 40, n. 2–3, p. 337–346, 1993.
- 6 LI, W. F. et al. Catalytic efficiency determines the in-vivo efficacy of PON1 for
7 detoxifying organophosphorus compounds. **Pharmacogenetics**, v. 10, n. 9, p. 767–
8 79, dez. 2000.
- 9 LOFFREDA, S. et al. Leptin regulates proinflammatory immune responses. **FASEB**
10 **journal: official publication of the Federation of American Societies for**
11 **Experimental Biology**, v. 12, n. 1, p. 57–65, jan. 1998.
- 12 MACKNESS, B. et al. Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic
13 polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density
14 lipoprotein oxidative modification. **FEBS Lett**, v. 423, n. 1, p. 57–60., 1998.
- 15 MACKNESS, B. et al. Paraoxonase Status in Coronary Heart Disease: Are Activity
16 and Concentration More Important Than Genotype? **Arteriosclerosis, Thrombosis,**
17 **and Vascular Biology**, v. 21, n. 9, p. 1451–1457, set. 2001.
- 18 MACKNESS, M. I. et al. Protection of low-density lipoprotein against oxidative
19 modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. **Atherosclerosis**, v.
20 104, n. 1–2, p. 129–135, 1993.
- 21 MACKNESS, M.; MACKNESS, B. Human paraoxonase-1 (PON1): Gene structure
22 and expression, promiscuous activities and multiple physiological roles. **Gene**, v.
23 567, n. 1, p. 12–21, ago. 2015.
- 24 MAES, M. et al. Plasma-soluble interleukin-2 and transferrin receptor in
25 schizophrenia and major depression. **European archives of psychiatry and clinical**
26 **neuroscience**, v. 244, p. 325–329, 1995.
- 27 MAES, M. et al. (Neuro) Inflammatory and Oxidative & Nitrosative Stress Pathways.
28 **Neuroendocrinology Letters**, v. 32, n. 1, p. 7–24, 2011.

- 1 MARSILLACH, J. et al. Immunohistochemical analysis of paraoxonases-1, 2, and 3
2 expression in normal mouse tissues. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 45, n.
3 2, p. 146–157, 15 jul. 2008.
- 4 MCINTYRE, R. S. et al. Should depressive syndromes be reclassified as “metabolic
5 syndrome type II”? **Annals of Clinical Psychiatry**, v. 19, n. 4, p. 257–264, 2007.
- 6 MCINTYRE, R. S. et al. Metabolic syndrome and major depressive disorder: Co-
7 occurrence and pathophysiologic overlap. **Current Diabetes Reports**, v. 9, n. 1, p.
8 51–59, 4 fev. 2009.
- 9 MERIKANGAS, K. R. et al. Lifetime and 12-month prevalence of bipolar spectrum
10 disorder in the national comorbidity survey replication. **Archives of General**
11 **Psychiatry**, v. 64, n. 5, p. 543–552, 2007.
- 12 MERIKANGAS, K. R.; KALAYDJIAN, A. Magnitude and impact of comorbidity of
13 mental disorders from epidemiologic surveys. **Current Opinion in Psychiatry**, v. 20,
14 n. 4, p. 353–8, 2007.
- 15 MILLER, B. J. et al. Meta-Analysis of Cytokine Alterations in Schizophrenia: Clinical
16 Status and Antipsychotic Effects. **Biological Psychiatry**, v. 70, n. 7, p. 663–671, out.
17 2011.
- 18 MOCHIZUKI, H. et al. Human PON2 gene at 7q21.3: cloning, multiple mRNA forms,
19 and missense polymorphisms in the coding sequence. **Gene**, v. 213, n. 1–2, p. 149–
20 157, jun. 1998.
- 21 MOREIRA, E. G. et al. Lowered PON1 activities are strongly associated with
22 depression and bipolar disorder, recurrence of (hypo)mania and depression,
23 increased disability and lowered quality of life. **The World Journal of Biological**
24 **Psychiatry**, v. 0, n. 0, p. 1–13, 30 maio 2017.
- 25 MOYLAN, S. et al. The neuroprogressive nature of major depressive disorder:
26 pathways to disease evolution and resistance, and therapeutic implications.
27 **Molecular Psychiatry**, v. 18, n. 5, p. 595–606, 24 maio 2013.
- 28 MOYLAN, S. et al. Oxidative & nitrosative stress in depression: Why so much

- 1 stress? **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 45, p. 46–62, set. 2014.
- 2 NAVARRO-GONZÁLVIZ, J. A; GARCÍA-BENAYAS, C.; ARENAS, J.
3 Semiautomated measurement of nitrate in biological fluids. **Clinical chemistry**, v. 44,
4 n. 3, p. 679–81, mar. 1998.
- 5 NEUROSCIENCE, N. Focus on psychiatric disorders. **Nature Neuroscience**, v. 19,
6 n. 11, p. 1381–1382, 26 out. 2016.
- 7 NG, C. J. et al. Paraoxonase-2 Is a Ubiquitously Expressed Protein with Antioxidant
8 Properties and Is Capable of Preventing Cell-mediated Oxidative Modification of Low
9 Density Lipoprotein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 48, p. 44444–
10 44449, 2001.
- 11 NG, F. et al. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic
12 implications. **The International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 11, n. 6,
13 p. 851–876, 2008.
- 14 NOTO, C. et al. High predictive value of immune-inflammatory biomarkers for
15 schizophrenia diagnosis and association with treatment resistance. **The World**
16 **Journal of Biological Psychiatry**, v. 16, n. 6, p. 422–429, 18 ago. 2015.
- 17 PANIS, C. et al. Oxidative stress and hematological profiles of advanced breast
18 cancer patients subjected to paclitaxel or doxorubicin chemotherapy. **Breast Cancer**
19 **Research and Treatment**, v. 133, n. 1, p. 89–97, 3 maio 2012.
- 20 PEDRINI, M. et al. Similarities in serum oxidative stress markers and inflammatory
21 cytokines in patients with overt schizophrenia at early and late stages of chronicity.
22 **Journal of Psychiatric Research**, v. 46, n. 6, p. 819–824, jun. 2012.
- 23 POTVIN, S. et al. Inflammatory Cytokine Alterations in Schizophrenia: A Systematic
24 Quantitative Review. **Biological Psychiatry**, v. 63, n. 8, p. 801–808, abr. 2008.
- 25 PRIMO-PARMO, S. L. et al. The human serum paraoxonase/arylesterase gene
26 (PON1) is one member of a multigene family. **Genomics**, v. 33, n. 3, p. 498–507, 1
27 maio 1996.

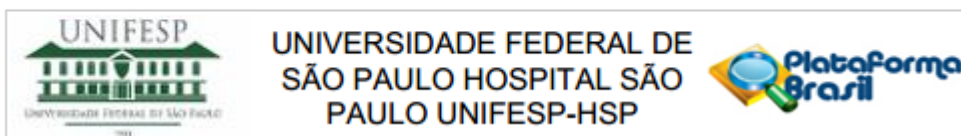
- 1 REDDY, S. T. et al. Human Paraoxonase-3 Is an HDL-Associated Enzyme With
2 Biological Activity Similar to Paraoxonase-1 Protein but Is Not Regulated by Oxidized
3 Lipids. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 21, n. 4, p. 542–
4 547, 1 abr. 2001.
- 5 RICHTER, R. J.; FURLONG, C. E. Determination of paraoxonase (PON1) status
6 requires more than genotyping. **Pharmacogenetics**, v. 9, p. 745–753, 1999.
- 7 RICHTER, R. J.; JARVIK, G. P.; FURLONG, C. E. Determination of Paraoxonase 1
8 Status Without the Use of Toxic Organophosphate Substrates. **Circulation:
9 Cardiovascular Genetics**, v. 1, n. 2, p. 147–152, 1 dez. 2008a.
- 10 RICHTER, R. J.; JARVIK, G. P.; FURLONG, C. E. Determination of Paraoxonase 1
11 Status Without the Use of Toxic Organophosphate Substrates. **Circulation:
12 Cardiovascular Genetics**, v. 1, n. 2, p. 147–152, 1 dez. 2008b.
- 13 ROSENBLAT, M. Mouse Macrophage Paraoxonase 2 Activity Is Increased Whereas
14 Cellular Paraoxonase 3 Activity Is Decreased Under Oxidative Stress.
15 **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 23, n. 3, p. 468–474, 1
16 mar. 2003.
- 17 STEEL, Z. et al. The global prevalence of common mental disorders: A systematic
18 review and meta-analysis 1980-2013. **International Journal of Epidemiology**, v.
19 43, n. 2, p. 476–493, 2014.
- 20 STOLTZ, D. A et al. Paraoxonase-2 deficiency enhances *Pseudomonas aeruginosa*
21 quorum sensing in murine tracheal epithelia. **AJP: Lung Cellular and Molecular
22 Physiology**, v. 292, n. 4, p. L852–L860, 15 dez. 2006.
- 23 STUART, M. J.; BAUNE, B. T. **Chemokines and chemokine receptors in mood
24 disorders, schizophrenia, and cognitive impairment: A systematic review of
25 biomarker studies** **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 2014.
- 26 TEIBER, J. F. et al. Dominant role of paraoxonases in inactivation of the
27 *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing signal N-(3-oxododecanoyl)-L-
28 homoserine lactone. **Infection and Immunity**, v. 76, n. 6, p. 2512–2519, 2008.

- 1 WARD, P. A. Role of Complement, Chemokines, and Regulatory Cytokines in Acute
2 Lung Injury. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 796, n. 1 Cytokines
3 and, p. 104–112, 31 out. 1996.
- 4 WATSON, A. D. et al. Protective effect of high density lipoprotein associated
5 paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density
6 lipoprotein. **Journal of Clinical Investigation**, v. 96, n. 6, p. 2882–2891, 1 dez.
7 1995.
- 8 WU, B. et al. Relationships of systemic oxidative stress to body fat distribution,
9 adipokines and inflammatory markers in healthy middle-aged women. **Endocrine**
10 **journal**, v. 56, n. 6, p. 773–82, 2009.

ANEXOS

ANEXO 1

Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: BIOMARCADORES PERIFÉRICOS NOS TRANSTORNOS PSICÓTICOS

Pesquisador: CRISTIANO DE SOUZA NOTO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 46320515.0.0000.5505

Instituição Proponente: Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP/EPM

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.222.250

Apresentação do Projeto:

Projeto CEP. 0729/15

O encaminhamento em tela refere-se a resposta de pendência apontada no parecer 1150983 datado de 16/7/2015

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral: determinar os níveis séricos de biomarcadores periféricos em pacientes com transtornos psicóticos e controles saudáveis, pareados por sexo e idade. .2 Objetivos Específicos: determinar se os níveis dos biomarcadores apresentam correlação como tempo de doença, uso de medicação e presença de características clínicas, com sintomas depressivos.

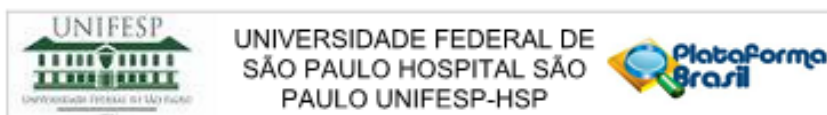
Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos e benefícios declarados no projeto original.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de estudo com o objetivo acadêmico de DOUTORADO, vinculado ao Departamento /Disciplina de Psiquiatria da Unifesp, Campus Vila Clementino

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14
 Bairro: VILA CLEMENTINO CEP: 04.023-061
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)5571-1062 Fax: (11)5539-7162 E-mail: secretaria.cepunifesp@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.322.258

PRONEX 2011/50740-5), conforme declaração anexa*.

Além disso, foi anexada a carta de ciência da Coordenadoria de Ensino e Pesquisa do HSP-HU.

PENDENCIA ATENDIDA.

Considerações Finais a critério do CEP:

PARECER LIBERADO AD REFERENDUM

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Eética DOUTORADO.docx	10/06/2015 00:44:55		Aceito
Folha de Rosto	Folha de Rosto.pdf	14/06/2015 22:16:59		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_534543.pdf	14/06/2015 22:17:37		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE Doutorado_Revisado_21.Jul.doc	20/07/2015 23:06:49		Aceito
Outros	Correções e inadequações apontadas.docx	06/08/2015 21:45:48		Aceito
Outros	Declaracao.pdf	06/08/2015 21:46:17		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_534543.pdf	06/08/2015 21:46:57		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Coordenadoria_Ensino.pdf	30/08/2015 22:56:55	CRISTIANO DE SOUZA NOTO	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_534543.pdf	30/08/2015 23:00:14		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14
 Bairro: VILA CLEMENTINO CEP: 04.023-061
 UF: SP Município: SÃO PAULO
 Telefone: (11)6571-1062 Fax: (11)6539-7162 E-mail: secretaria.cepunifesp@gmail.com