



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

FRANCIS FREGONESI BRINHOLI

**RELAÇÃO ENTRE NÍVEIS DE CITOCINAS E DA
PARAOXONASE-1 EM PRIMEIRO EPISÓDIO PSICÓTICO:
PODERIA A FARMACOTERAPIA INFLUIR NAS DEFESAS
ANTIOXIDANTES?**

Londrina
2016

FRANCIS FREGONESI BRINHOLI

**RELAÇÃO ENTRE NÍVEIS DE CITOCINAS E DA
PARAOXONASE-1 EM PRIMEIRO EPISÓDIO PSICÓTICO:
PODERIA A FARMACOTERAPIA INFLUIR NAS DEFESAS
ANTIOXIDANTES?**

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

Orientador: Prof. Dr. Décio Sabbatini Barbosa

Londrina
2016

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

Brinholi, Francis Fregonesi .

Relação entre níveis de citocinas e da paraoxonase-1 em primeiro episódio : poderia a farmacoterapia influir nas defesas antioxidantes? / Francis Fregonesi Brinholi. - Londrina, 2016.
75 f. : il.

Orientador: Décio Sabbatini Barbosa.

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2016.
Inclui bibliografia.

1. Enzimas - Tese. 2. Psicoses - Tese. 3. Citocinas - Tese. 4. Esquizofrenia - Tese. I. Barbosa, Décio Sabbatini . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

FRANCIS FREGONESI BRINHOLI

**RELAÇÃO ENTRE NÍVEIS DE CITOCINAS E DA PARAOXONASE-1
EM PRIMEIRO EPISÓDIO PSICÓTICO: PODERIA A
FARMACOTERAPIA INFLUIR NAS DEFESAS ANTIOXIDANTES?**

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

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Décio Sabbatini Barbosa
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Danielle Venturini
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Graziela Scianti Ceravolo
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Rúbia Casagrande
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Sandra Odebrecht Vargas Nunes
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 28 de junho de 2016.

*Dedico este trabalho aos meus pais.
Ninguém um dia recebeu mais apoio
incondicional do que eu tive de vocês.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Décio Sabbatini Barbosa, pela oportunidade, credibilidade e confiança, que foram fundamentais para meu crescimento profissional e pessoal. Sem a sua contribuição e ajuda este trabalho não teria se realizado e meu sonho não teria se concretizado.

Aos meus amigos do laboratório Carine, Denise, Kamilla, Luciana, Pauli e Vitor, pelas inúmeras vezes que se deslocaram de suas casas para me ajudarem com o tratamento experimental. Se não fosse pela boa vontade de todos vocês, este trabalho teria sido muito mais difícil e cansativo.

A professora Dra. Estefânia Gastaldello Moreira que com sua prática e conhecimento, contribuíram muito para obtenção dos meus resultados.

A Ms. Maria Emília Fávero e ao Laboratório de Pós-graduação do CCS. Obrigada pelo apoio e pela convivência agradável do dia a dia.

Aos meus pais, que sempre se fizeram presentes nos momentos mais difíceis. Obrigada pelo amor e carinho durante essa caminhada.

E, por fim, agradeço a Deus pela oportunidade da vida.

*Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver
Apesar de todos os desafios, incompreensões e períodos de crise.
Ser feliz é deixar de ser vítima dos problemas
E se tornar um autor da própria história...
Pedras no caminho?
Guardo todas, um dia vou construir um castelo...,
(Fernando Pessoa)*

BRINHOLI, Francis Fregonesi. **Relação entre níveis de citocinas e da paraoxonase-1 em primeiro episódio psicótico: poderia a farmacoterapia influir nas defesas antioxidantes?** 2016. 75f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

RESUMO

Embora considerável progresso tenha sido feito na busca pelos fatores de risco que contribuem para a fisiopatologia da esquizofrenia (SZ), a sua etiologia está longe de ser compreendida. Porém, há cada vez mais evidências sugerindo a participação do estresse oxidativo e da inflamação como coparticipantes na mediação para esta doença. Os objetivos principais deste estudo foram: avaliar a atividade enzimática da paraoxonase 1 (PON1) e os níveis plasmáticos de citocinas (interleucina (IL)-4, IL-6, IL-10 e fator de necrose tumoral- α frente a um primeiro episódio psicótico (PEP); e paralelamente analisar o potencial antioxidante de antipsicóticos (clozapina, haloperidol, olanzapina, quetiapina, risperidona e ziprasidona) utilizados no tratamento da SZ. A atividade da PON1 foi determinada pela hidrólise do fenilacetato, já as citocinas foram dosadas por meio de citometria de fluxo. A capacidade de eliminação de radicais livres ABTS+, a redução do radical livre DPPH• e produção de produtos de espécies reativas de oxigênio por neutrófilos foram os testes usados para avaliar a capacidade antioxidante das drogas antipsicóticas, in vitro. Foi observado que o PEP é caracterizado pela redução da atividade anti-inflamatória/antioxidante da PON1 e que existe uma relação inversa entre a diminuição desta atividade e o aumento nos níveis de algumas citocinas, incluindo IL-6, IL-4 e IL-10. Nos resultados in vitro, observou-se que antipsicóticos atípicos, principalmente clozapina e olanzapina, possuem atividade antioxidante. Em função dos resultados apresentados é razoável pensar que pacientes que fazem uso de antipsicóticos atípicos possam ter aumento da atividade antioxidante o que contribuiria para modulação das citocinas sugerindo um mecanismo neuroprotetor para estes medicamentos.

Palavras-chave: Antioxidantes. Antipsicóticos. Citocinas. Esquizofrenia. Estresse Oxidativo. Paraoxonase. Primeiro Surto Psicótico.

BRINHOLI, Francis Fregonesi. **Relationship between cytokine levels and paraoxonase-1 in first psychotic episode: pharmacotherapy could influence the antioxidant defenses?** 2016. 75p. Thesis (Doctoral degree in Health Sciences) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

ABSTRACT

Although considerable progress has been made in search for factors that contribute to the pathophysiology of schizophrenia (SZ), its etiology is far from being understood. However, there is increasing evidence suggesting the involvement of oxidative stress and inflammation as mediating factors for this disease. The main objectives of this study were: to evaluate the enzymatic activity of paraoxonase 1 (PON1) and cytokines (interleukin (IL)-4, IL-6, IL-10 and tumor necrosis factor- α) levels against a first episode psychotic (FEP); and analyze, in vitro, the antioxidant potential (clozapine, haloperidol, olanzapine, quetiapine, risperidone, ziprasidone) used in treatment of SZ. The activity of PON1 was determined by the formation of hydrolysis of phenyl acetate, as the cytokines assayed by flow cytometry. The scavenging capacity of free radical ABTS +, the reduction of free radical DPPH• and producing products of reactive oxygen species by neutrophils were used to assess the antioxidant capacity of antipsychotic drugs. The present study provides evidences that FEP is characterized by an inverse relationship between lowered activity of the anti-inflammatory/antioxidant enzyme PON1 and increased cytokine levels, including IL-6, IL-4 and IL-10. Atypical antipsychotics, particularly clozapine and olanzapine, have antioxidant activity, in vitro. The present study provides evidence that patients making use of atypical antipsychotics may have increased antioxidant activity and this increase would contribute to modulation of cytokines, suggesting a possible neuroprotective effect of these drugs.

Keywords: Antioxidants. Antipsychotic. Cytokines. First Episode Psychosis. Oxidative Stress. Paraoxonase. Schizophrenia.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS+	2,2-azino-bis-3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico
AGF	Escala Global de Funcionamento
BPRS	Escala Breve de Avaliação Psiquiátrica Ancorada
CAT	Catalase
CGI-S	Impressão Clínica Global para Gravidade da doença
CLZ	Clozapina
DPPH•	2,2 -difênil -1- picril -hidrazil
DSM	Diagnóstico e Estatística de <i>Transtornos Mentais</i>
EO	Estresse oxidativo
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
GLM	Análise do Modelo Linear Geral Multivariado
GPx	Glutathione peroxidase
GSH	Glutathione
HAL	Haloperidol
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
IL	Interleucina
INF	Interferon
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LOOH	Hidroperóxidos
LSD	Diethylamina do Ácido Lisérgico
NMDA	N-metil-D-aspartato
NOx	Subprodutos de Óxido Nítrico
OLZ	Olanzapina
PANSS	Escala de Síndrome Positiva e Negativa
PEP	Primeiro Episódio Psicótico
PON	Paraoxonase
QTP	Quetiapina
RIS	Risperidona
SCID	Entrevista Clínica Estruturada
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido Dismutase

SZ	Esquizofrenia
Th1	T-helper 1
Th2	T-helper 2
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral-alfa
ZPS	Ziprasidona

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	ESQUIZOFRENIA.....	12
1.2	RELAÇÃO ENTRE CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E ESQUIZOFRENIA.....	24
1.3	RELAÇÃO ENTRE ESTRESSE OXIDATIVO E ESQUIZOFRENIA.....	27
1.4	RELAÇÃO ENTRE ANTIPSICÓTICOS E ESTRESSE OXIDATIVO.....	32
2	OBJETIVOS	37
2.1	ARTIGO 1: LOWERED PARAOXONASE 1 (PON1) ACTIVITY IS ASSOCIATED WITH INCREASED CYTOKINE LEVELS IN DRUG NAÏVE FIRST EPISODE PSYCHOSIS.....	37
2.1.1	<i>Objetivo Geral</i>	37
2.1.2	<i>Objetivos Específicos</i>	37
2.2	ARTIGO 2: CLOZAPINE AND OLANZAPINE ARE BETTER ANTIOXIDANTS THAN HALOPERIDOL, QUETIAPINE, RISPERIDONE AND ZIPRASIDONE IN VITRO MODELS.....	37
2.2.1	<i>Objetivo Geral</i>	38
2.2.2	<i>Objetivos Específicos</i>	38
3	CASUÍSTICA E MÉTODOS	39
3.1	DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	39
3.2	AVALIAÇÃO CLÍNICA.....	39
3.2.1	<i>Definição de Casos e Inclusão na Pesquisa</i>	39
3.2.2	<i>Definição de Controle e Inclusão na Pesquisa</i>	41
3.3	AVALIAÇÃO LABORATORIAL.....	43
3.3.1	<i>Determinação da Atividade da Paraoxonase 1</i>	43
3.3.2	<i>Determinação de Marcadores Inflamatórios</i>	43
3.3.3	<i>Produção de Produtos de Espécies Reativas de Oxigênio por Neutrófilos</i>	44
3.3.4	<i>Redução do Radical Livre DPPH•</i>	45

3.3.5	<i>Capacidade de Eliminação de Radicais Livres ABTS+</i>	46
3.4	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	47
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	47
3.5.1	<i>Artigo 1: Lowered paraoxonase 1 (PON1) activity is associated with increased cytokine levels in drug naïve first episode psychosis</i>	47
3.5.2	<i>Artigo 2: Clozapine and Olanzapine are Better Antioxidants than Haloperidol, Quetiapine, Risperidone and Ziprasidone in Vitro Models</i>	48
4	RESULTADO E DISCUSSÃO	50
4.1	ARTIGO 1: LOWERED PARAOXONASE 1 (PON1) ACTIVITY IS ASSOCIATED WITH INCREASED CYTOKINE LEVELS IN DRUG NAÏVE FIRST EPISODE PSYCHOSIS.....	51
4.2	ARTIGO 2: CLOZAPINE AND OLANZAPINE ARE BETTER ANTIOXIDANTS THAN HALOPERIDOL, QUETIAPINE, RISPERIDONE AND ZIPRASIDONE IN VITRO MODELS	57
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	62
	REFERÊNCIAS	63
	ANEXO	74
	ANEXO A - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	74

1 INTRODUÇÃO

1.1 ESQUIZOFRENIA

A esquizofrenia (SZ) é uma doença debilitante do neurodesenvolvimento que afeta cerca de 1% da população mundial (RAHMOUNE et al., 2013; WU, KOSTEN, ZHANG, 2013). É caracterizada por uma ampla gama de comportamentos anormais, geralmente divididos em três categorias principais: sintomas positivos, tais como delírios, alucinações e distúrbios do pensamento; sintomas negativos, incluindo distúrbios do humor e isolamento social; e função cognitiva prejudicada (CHITTIPROL et al., 2010; BITANIHIRWE; WOO, 2011; AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013a; BOŠKOVIĆ et al., 2013). O início da doença aparece, normalmente, durante a adolescência ou início da idade adulta (SILVA, 2006; CHEW; FUSAR; SCHMITZ, 2013). Apesar de poder surgir de forma abrupta, no primeiro episódio psicótico (PEP), o quadro mais frequente se inicia de maneira insidiosa (SILVA, 2006; CHEW; FUSAR; SCHMITZ, 2013). Sintomas prodrômicos pouco específicos, incluindo perda de energia, iniciativa e interesse, humor depressivo, isolamento, comportamento inadequado, negligência com a aparência pessoal e higiene, podem surgir e permanecer por algumas semanas ou até meses antes do aparecimento de outros sintomas mais característicos da doença (SILVA, 2006).

Embora considerável progresso tenha sido feito na busca pelos fatores que contribuem para a fisiopatologia da SZ, sua etiologia está longe de ser compreendida (RAHMOUNE et al., 2013). Os avanços realizados nos últimos anos demonstram uma forte ligação entre alterações neuroquímicas,

neuroanatômicas e neurofisiológicas que incidem no comportamento esquizofrênico, porém ainda falta muito a ser feito na elucidação de um real diagnóstico que auxilie em tratamentos mais eficazes, reabilitação e possivelmente uma prevenção (BRESSAN, PILOWSKY, 2000; JIANG et al., 2013). Diversas teorias foram propostas a fim de tentar explicar a etiopatologia da SZ, dentre estas destacam-se:

Teoria Genética

A teoria genética está baseada no fato de que a SZ é uma doença hereditária (VALLADA FILHO; BUSATTO FILLHO, 1996). A prevalência estimada da SZ em diferentes populações é em torno de 1%. Porém, entre parentes de primeiro grau de um paciente esquizofrênico, o índice gira em torno de 10%, o qual vai decrescendo em parentes mais afastados sendo que em familiares em 2º e 3º grau, o risco aumenta seis e duas vezes, respectivamente (CANNON et al., 1998; CARDNO et al., 1999; TSUANG et al., 2001). Estudos conduzidos com gêmeos também demonstraram que existe um forte componente genético na fisiopatologia da SZ (CARDNO et al., 1999; KRINGLEN, 2000). Observa-se uma concordância em gêmeos monozigóticos entre 50 a 60% e em gêmeos dizigóticos entre 10 a 15% (CARDNO et al., 1999; SULLIVAN; KENDLER; NEALE, 2003). No entanto, caso a etiologia fosse apenas atribuída à genética, a concordância para a SZ, em gêmeos monozigóticos, seria 100% e, se fosse geneticamente independente, o risco seria o mesmo que o da população em geral, cerca de 1% (KRINGLEN, 2000; SULLIVAN; KENDLER; NEALE, 2003). Por um lado, estes estudos

demonstram a existência do componente genético mas, por outro lado, também ressalta a participação do componente ambiental na expressão da doença (VALLADA FILHO; BUSATTO FILLHO, 1996).

Teorias Neuroquímicas

Dentre as diversas teorias baseadas em neurotransmissores envolvidos na SZ, a teoria dopaminérgica, teoria serotoninérgica e glutamatérgica se destacam.

A teoria dopaminérgica originou-se após a observação de que certas drogas psicoestimulantes, como por exemplo, anfetaminas e levodopa, quando administradas em doses altas e repetidas por longos períodos, causavam uma psicose tóxica com características muito semelhantes às da SZ paranoide em fase ativa (LARUELLE et al., 1996). Estas substâncias possuem a propriedade de estimular a neurotransmissão da dopamina pelo seu efeito antagonista nos receptores pós-sinápticos da dopamina, além de impedir a sua inativação na fenda sináptica (LARUELLE et al., 1996). Assim, observou-se que sintomas esquizofreniformes, poderiam ser devido ao excesso de atividade dopaminérgica (LARUELLE et al., 1996). A partir desta observação, foram desenvolvidos antipsicóticos típicos, bloqueadores do receptor da dopamina do tipo D2 levando à diminuição da atividade dopaminérgica (FALKAI, et al., 2006).

A teoria serotoninérgica na fisiopatologia da SZ surgiu da relação entre a dietilamina do ácido lisérgico (LSD), uma substância

alucinógena, e o seu efeito como agonista dos receptores da serotonina (HARRISON, 1999). O uso de LSD leva a sintomas como desrealização, despersonalização e alucinações visuais, experiências semelhantes a alguns sintomas da SZ (SEELEY; STEPHENS; TATE., 2003). Essa observação levantou a possibilidade de que um déficit de serotonina estivesse envolvido na patogênese da SZ (SEELEY; STEPHENS; TATE., 2003). Ao observar o papel dos receptores da serotonina nesta doença, foi desenvolvida a clozapina (CLO), um antipsicótico atípico, utilizado para o tratamento desta patologia, que provou ser o fármaco mais eficaz quando comparados a antipsicóticos típicos, por possuir menor afinidade de ocupação para os receptores dopaminérgicos, tendo um alto grau de ocupação nos receptores serotoninérgicos o que leva a uma ausência de efeitos extrapiramidais sendo uma medicação de escolha para o tratamento na SZ refratária (REINKE et al., 2004).

A teoria glutamatérgica foi desenvolvida observando pesquisas que demonstraram que os receptores glutamatérgicos tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) estão envolvidos na fisiopatologia da SZ e podem ser alvo para tratamentos psicofarmacológicos (BRESSAN; PILOWSKY, 2003). Dois anestésicos, a fenciclidina e a cetamina, tiveram seu uso associado a sintomas psicóticos (delírios, desorganização, ilusões visuais e auditivas, embotamento afetivo, isolamento e retardo psicomotor) e à neurotoxicidade. Ambos anestésicos atuam como antagonistas do receptor glutamatérgico tipo NMDA (BRESSAN; PILOWSKI, 2003). O aminoácido glutamato é um neurotransmissor, geralmente excitatório, envolvido no processo de aprendizagem, memória e desenvolvimento cerebral (GOFF; COYLE, 2001). A

hipofunção do NMDA do sistema glutamatérgico altera a plasticidade sináptica, sendo esta a base desenvolvimento cognitivo, memória e aprendizagem (BRESSAN; PILOWSKI, 2003). Há uma grande diversidade de subtipos de receptores glutamatérgicos que são codificados geneticamente, mas cuja expressão pode ser alterada por fatores ambientais durante o desenvolvimento cerebral, criando uma disfunção glutamatérgica e aumentando o risco para o desenvolvimento da SZ (GOFF; COYLE, 2001).

Esquizofrenia como Distúrbio do Neurodesenvolvimento

Esta teoria foi baseada em estudos sugerindo que eventos de ocorrência precoce, durante a vida intrauterina ou logo após o nascimento, podem levar a prejuízos no desenvolvimento do sistema nervoso central e ser de importância fundamental na etiologia de uma parcela dos casos de SZ (AKIL; WEINBERGER, 2000). Estudos demonstraram que algumas complicações durante a gravidez, a saber: má-nutrição materna, hemorragia, partos antecipados, incompatibilidade sanguínea, hipóxia fetal, hipoglicemia, infecção materna, crescimento fetal anormal, complicações no parto podem aumentar o risco de desenvolvimento de SZ (BYRNE et al., 2007; OLGATI et al., 2009).

Vários agentes infecciosos também aparecem associados à SZ (BROWN; DERKITS, 2010). Estudos epidemiológicos observaram um aumento da prevalência de SZ em indivíduos nascidos durante epidemias de *H. influenza* e em nascimentos durante os meses de inverno/início da primavera, o

que pode estar associado à uma maior exposição materna a este vírus (BROWN; DERKITS, 2010). Elevação de anticorpos IgG, durante a vida intrauterina ou logo após o nascimento, para *Toxoplasma gondii*, citomegalovírus e herpes vírus tipo 2 podem levar a uma ativação da micróglia, que leva a um aumento da inflamação e do estresse oxidativo (EO) no sistema nervoso central (SNC). Estas alterações podem causar dano neuronal ficando este indivíduo mais vulnerável ao surgimento e perpetuação da psicose e/ou de outros sintomas que compõem a SZ (WEINBERGER, 2001; LEWIS, LEVITT; 2002; BUKA et al., 2008).

Teoria da neuropatologia

Esta teoria foi desenvolvida em achados de estudos utilizando a tomografia computadorizada de crânio. Este exame passou a detectar sinais consistentes de atrofia cerebral, incluindo alargamento dos ventrículos cerebrais e aumento de sulcos corticais numa proporção considerável de pacientes esquizofrênicos crônicos e agudos, independentemente de fatores não-específicos como idade, uso de neurolépticos e eletroconvulsoterapia (Lewis, 1999).

Estudos *post mortem* também demonstraram anormalidades nos cérebros de alguns pacientes esquizofrênicos, incluindo diminuições globais de volume/peso e reduções localizadas em áreas temporais e frontais, alterações no número, tamanho e distribuição dos neurônios em camadas e diminuição de células gliais (ARNOLD; RUSCHEINSKY; HAN, 1997; STEVENS, 1999).

Teorias Psicológicas

A partir da década de 40, teorias psicológicas tentando explicar a esquizofrenia a partir de relacionamentos familiares patológicos e padrões de comunicação interpessoal aberrantes ganharam força, influenciando certas escolas do pensamento psiquiátrico. Em 1948, Fromm-Reichmann introduziu a idéia da “mãe esquizofrenogênica”, observando que determinados padrões de comportamento materno, incluindo hostilidade e rejeição, pareciam ser frequentes em mães de pacientes que desenvolviam SZ (HOLMES, 2001). Porém, duas frentes em particular têm demonstrado, de forma convincente, que, fatores psicossociais não estão primariamente relacionados com a etiologia da doença, mas certamente influenciam a forma de aparecimento e o curso dos sintomas esquizofrênicos (BASTOS, 1981). Uma destas correntes diz respeito ao ambiente familiar de pacientes esquizofrênicos sendo que variados tipos de atitudes hostis ou do excesso de envolvimento emocional por parte de familiares de esquizofrênicos aumentam significativamente a taxa de recaída e reintegração hospitalar destes pacientes (BROWN; BIRLEY; WING, 1992). A segunda corrente relaciona-se com o estudo da influência de “eventos estressores psicossociais” no curso da doença. Sabe-se que o curso de diversas doenças pode ser influenciado por “eventos estressores psicossociais” como perda de familiar próximo, mudança de moradia, exames escolares, etc (ZUBIN; SPRING, 1997). Estudos investigando a influência destes eventos no curso da SZ sugerem que pacientes esquizofrênicos podem apresentar pioras dos sintomas diante deste tipo de estresse (ZUBIN; SPRING, 1997).

Apesar das diversas teorias a respeito da etiopatogia da SZ, nenhuma delas é capaz de explicar completamente a fisiopatologia desta doença sugerindo o envolvimento de forma associada tanto de fatores genéticos como ambientais.

Somando-se a estes fatos, há cada vez mais evidências indicando o envolvimento de radicais livres na disfunção neuronal, sendo o EO, definido como um desequilíbrio entre antioxidantes e pró-oxidantes no organismo, identificado como um possível elemento no processo neuropatológico (PEDRINI et al., 2012; WU, KOSTEN, ZHANG, 2013). Junto com estes, a inflamação também tem sido considerada como um importante causador e/ou fator de mediação para a SZ (NA; JUNG; KIM, 2014).

A SZ constitui um transtorno de difícil diagnóstico (AMORIN, 2000). O PEP é considerado o estágio inicial da doença, com surgimento dos primeiros sintomas (GOUVEA et al., 2014). O estabelecimento de critérios para a definição de um PEP é complexo pois trata-se de uma condição heterogênea, variando quanto à apresentação clínica e idade de início (AMORIN, 2000; DEL-BEN et al., 2010; GOUVEA et al., 2014). No momento da avaliação inicial do PEP, uma vasta gama de hipóteses diagnósticas pode ser levantada para justificar o quadro clínico, incluindo doenças psiquiátricas, neurológicas, outras condições médicas gerais ou ainda uso de substâncias psicoativas (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PSIQUIATRIA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2012). Soma-se a isso que, até o presente momento, não existem marcadores biológicos capazes de identificar a SZ, bem como outras representações objetivas para o espectro da SZ e outros transtornos psicóticos.

Diante disto, o diagnóstico desta patologia baseia-se fundamentalmente no julgamento clínico de informações obtidas por meio da anamnese psiquiátrica, com base em sintomas e síndrome clínica (JABLENSKY, 2010). Diante deste fato, torna-se ainda mais relevante a aplicação sistemática de critérios diagnósticos operacionais e uso de instrumentos de avaliação padronizados desenvolvidos especificamente para esse fim (DEL-BEN et al., 2010).

Para conduzir entrevistas clínicas estruturadas para gerar um diagnóstico de espectro da SZ e outros transtornos psicóticos, o diagnóstico requer, pelo menos, seis meses de sinais contínuos de perturbação que podem incluir sintomas prodrômicos ou residuais, entre eles, delírio, alucinações, discurso desorganizado, sintomas negativos e cognição prejudicada. Durante ao menos um mês desse período, pelo menos dois dos seguintes sintomas devem estar presentes e pelo menos um destes sintomas deve ser delírio, alucinações ou discurso desorganizado, sendo que estes sintomas não podem ser decorrentes do uso de substâncias psicoativas ou decorrentes de outras doenças (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1993).

O diagnóstico psiquiátrico é realizado com base nos dois principais sistemas de classificação diagnóstica: a Classificação Internacional das Doenças, 10ª revisão (CID-10) e o Manual Diagnóstico e Estatístico dos Transtornos Mentais, 5ª edição (DSM-5). Os transtornos esquizofrênicos se caracterizam em geral, na CID-10, por distorções fundamentais e características do pensamento e da percepção, e por afetos inapropriados ou embotados (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1993). Geralmente mantém-se clara a consciência e a capacidade intelectual, embora certos

déficits cognitivos possam evoluir no curso do tempo (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1993). Os fenômenos psicopatológicos mais importantes incluem o eco do pensamento, a imposição ou o roubo do pensamento, a divulgação do pensamento, a percepção delirante, ideias delirantes de controle, de influência ou de passividade, vozes alucinatórias que comentam ou discutem com o paciente na terceira pessoa, transtornos do pensamento e sintomas negativos (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1993). O DSM é um sistema de classificatório em que o espectro da SZ e outros transtornos mentais são definidos por anormalidades em um ou mais dos cinco domínios a seguir: delírios, alucinações, pensamento desorganizado, comportamento motor grosseiramente desorganizado ou anormal e sintomas negativos (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013b). A versão mais nova do DSM, o DSM-5, inclui a Avaliação de Incapacidade de Organização Mundial de Saúde (WHODAS) e a gravidade das dimensões dos sintomas das psicoses sendo avaliadas em escore de 0 (não presente) a 4 (presente) (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013b).

Outras escalas como: Entrevista Clínica Estrutura (SCID), Escala Breve de Avaliação Psiquiátrica Ancorada (BPRS), Escala de Síndrome Positiva e Negativa (PANSS), a Escala Calgary de Depressão e Escala Global de Funcionamento (AGF) também são utilizadas como ferramenta auxiliar no diagnóstico da SZ.

A SCID é uma escala de entrevista semi-estruturada para se realizar o diagnóstico de transtornos mentais e para realizar a seleção dos

pacientes e estabelecer um primeiro diagnóstico (GONÇALVES; STEIN; KAPCZINSKI, 2008).

Para fins de seguimento da evolução dos sintomas, existem duas escalas importantes de graduação de sintomas: a Escala de Síndrome Positiva e Negativa (PANSS) e a Escala Breve de Avaliação Psiquiátrica Ancorada (BPRS), ambas de fácil aplicação, necessitando de pequeno treinamento (BRESSAN, 2000). A BPRS é uma escala voltada para a psicopatologia grave que consiste de uma série de 18 itens que avaliam os sintomas psiquiátricos, com pontuações para cada item que varia de 1 (não presente) a 7 (muito grave). Ao mesmo tempo, a avaliação é realizada por itens específicos e significativos, a BPRS pode render uma pontuação global e os conjuntos de itens podem ser agrupados em categorias. A PANSS, desenvolvida por Kay e colaboradores (1987) e traduzida e adaptado no Brasil, por Vessoni (1993), é um instrumento que possibilita a aferição da graduação dos sintomas em pacientes com SZ, principalmente a agitação psicomotora. Este instrumento é composto pelos 18 extremos da BPRS e mais 12 sintomas adicionais, apresentando 30 sintomas e os escores de cada um dos 7 níveis de gravidade de psicopatologia.

Embora, o diagnóstico da SZ esteja baseado nos sintomas positivos e negativos, sintomas depressivos são muito frequentes (BRESSAN, 2000). Sugere-se, portanto, o uso de escalas específicas como a Escala Calgary de depressão para SZ, desenvolvida por Addington e colaboradores (1990) e traduzida e validada para uso no Brasil por Bressan (1998). Este instrumento foi desenvolvido para possibilitar a verificação da graduação dos

sintomas depressivos em pacientes com SZ, tais como: depressão, desesperança, autodepreciação, ideias de referência e de culpabilidade, culpa patológica, depressão matutina, despertar precoce, suicídio e depressão observada (BRESSAN, 1998).

A AGF é uma escala de avaliação global para verificar amplamente a gravidade dos transtornos psiquiátricos. Ela considera o funcionamento psicológico, social e ocupacional em um *continuum* hipotético de saúde-doenças mentais. Apesar de ter sido descrita pelo DSM-VI, não foi incluída no DSM-5.

Escalas para avaliação do uso de substâncias psicoativas em PEP são importantes devido a prevalência do uso dessas (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PSIQUIATRIA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2012). Em virtude da dificuldade de se firmar um diagnóstico inicial em um PEP, e pelo fato de que quando essa avaliação estiver errada, tal fato pode causar graves implicações terapêuticas e prognósticas para os pacientes, a utilização de critérios diagnósticos e treinamento para a aplicação das escalas são de extrema importância (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PSIQUIATRIA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2012). O aprimoramento e desenvolvimento de entrevistas e instrumentos de avaliação contribuíram sobremaneira para o aumento da confiabilidade do diagnóstico psiquiátrico propiciando uma melhora significativa na qualidade da assistência médica especializada (DEL-BEN et al., 2010). Porém, ainda não existem escalas específicas para realização de diagnóstico e tampouco escalas que produzam predição confiável de risco para o desenvolvimento de um PEP (ASSOCIAÇÃO

BRASILEIRA DE PSIQUIATRIA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2012).

1.2 RELAÇÃO ENTRE CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E ESQUIZOFRENIA

Citocinas são proteínas ou glicoproteínas envolvidas no desenvolvimento, regulação e supressão da resposta inflamatória, além de coordenar tanto a resposta imune inata quanto a adaptativa (MILLER et al., 2011). São produzidas por uma ampla variedade de células imunes e não imunes e conhecidas por nomes diversos, incluindo linfocinas, monoquinas, quimiocinas, interleucinas (IL), interferons (INFs), fatores estimulantes de colônias e de crescimento dentre outras (RAMANI et al., 2015). Elas podem ser classificadas como próinflamatórias (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, INF e fator de necrose tumoral (TNF)- α aumentando a resposta imune frente à infecção e/ou inflamação por meio da promoção de recrutamentos de leucócitos e/ou por ativação de células inflamatórias; ou anti-inflamatórias, como IL-4, IL-10, IL-13, as quais atenuam a resposta inflamatória e imunológica (MANSUR et al., 2012; PEDRINI et al., 2012).

O desencadeamento da resposta inflamatória leva à produção local e sistêmica de diferentes citocinas que podem ter efeitos locais e sistêmicos que explicam alguns sinais das doenças agudas (DEMPSEY; VAIDYA; CHENG, 2003). Quando a barreira hematoencefálica está intacta, apenas algumas células mononucleares, sendo estas linfócitos T e macrófagos, conseguem migrar para o SNC. No entanto, citocinas

próinflamatórias tais como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , liberadas durante episódio de inflamação periférica, podem provocar alterações na estrutura da junção interendotelial da barreira hematoencefálica, aumentando a permeabilidade desta e alterando a estrutura e função cerebral (DIMITROV et al., 2013). Além disso, inflamações periféricas podem aumentar a penetração de células mononucleares, que conduz à ativação inflamatória em cascata no SNC (DIMITROV et al., 2013).

Evidências científicas têm demonstrado um papel importante das citocinas na fisiopatologia da SZ, bem como na sua evolução (GARVER; TAMAS; HOLCOMB, 2003; POTVIN et al., 2008; MILLER et al., 2011). Diante disto, diferentes hipóteses têm sido propostas para explicar o seu papel na fisiopatologia da SZ. Smith e Maes (1995) propuseram a teoria macrófago-linfócito-T em que as citocinas IL-1, IL-2, IL-6 e o TNF- α , produzidas por macrófagos cronicamente ativados e linfócitos T, foram achados imunológicos na SZ e portanto, considerados mediadores importantes da doença. Anos depois, Monji e colaboradores (2009) propuseram a hipótese da micróglia. A micróglia, macrófagos neuronais presentes no SNC, responde rapidamente às mudanças patológicas no ambiente cerebral, estando envolvida na maioria dos processos inflamatórios do SNC (MONJI; KATO; KANBA, 2009; NA; JUNG; KIM, 2014). A micróglia pode contribuir diretamente para degeneração neuronal, por ser fonte de citocinas próinflamatórias, como IL-1 β e TNF- α , e substâncias pró-oxidantes, como subprodutos de óxido nítrico (NOx) (MONJI; KATO; KANBA, 2009). A liberação de citocinas próinflamatórias pode levar à hipofunção NMDA/glutamatérgica, ativando a apoptose, o que conduziria a

diminuição da neurogênese e aumento da neurodegeneração, contribuindo para o desenvolvimento da SZ (NA; JUNG; KIM, 2014). Alterações de marcadores inflamatórios, principalmente citocinas envolvidas em vias *T-helper 1 (Th1)* e *T-helper 2 (Th2)*, consistentemente têm sido evidenciados em pacientes com SZ. Baseado neste achado, Schwarz e colaboradores (2001) propuseram a hipótese Th2, a qual sustenta uma mudança da função imune Th1 para Th2, sendo portanto esta última resposta imunológica predominante na SZ. Porém, uma meta-análise (MILLER et al., 2011), demonstrou notável heterogeneidade de resultados, o que sugere que nenhuma teoria proposta explica completamente o envolvimento de citocinas nesta doença.

Na meta-análise de Miller e colaboradores (2011), vários estudos demonstraram níveis significativamente mais baixos de IL-4, porém aumentados de IL-6 e TNF- α em pacientes com exacerbação aguda da SZ em comparação com controles saudáveis. Indivíduos durante o primeiro ataque psicótico demonstraram níveis mais altos de receptor de IL-1 (IL-1R), receptor solúvel de IL-2 (sIL-2R), IL-6 e TNF- α (UPTHEGROVE; MANZANARES-TESON; BARNES, 2014). Drexhage e colaboradores (2011) sugerem uma resposta Th1/Th2 mista na SZ, com aumento em ambos os tipos de resposta e equilíbrio. Miller e colaboradores (2013) apontam um papel relevante da resposta imunológica alterada na etiopatologia da SZ desde o início do neurodesenvolvimento fetal. Infecções virais, bacterianas e por protozoários no período pré-natal e exposição fetal à respostas imunoinflamatórias resultantes de infecção materna levam a uma maior susceptibilidade para o desenvolvimento de SZ. Aumento do número de monócitos periféricos durante

episódios de agravamento dos sintomas psicóticos foi verificado em pacientes com SZ (DIMITROV; BRAIDA; WALSS-BASS, 2011). Observa-se que não há consenso na predominância de um tipo de resposta imune nesta doença. Porém, é importante ressaltar que alguns desses estudos foram realizados com presença de fatores confundidores, tais como, diferentes subtipos de SZ, comorbidades, duração da doença e pacientes já tratados com antipsicóticos (POTVIN et al., 2008).

1.3 RELAÇÃO ENTRE ESTRESSE OXIDATIVO E ESQUIZOFRENIA

O EO ocorre quando mecanismos antioxidantes de defesa falham em contrabalançar e controlar a formação de radicais altamente reativos denominados espécies reativas de oxigênio e/ou nitrogênio (EROs/ERNs) ou quando há maior produção destas espécies (JIANG et al., 2013). EROs e ERNs são continuamente produzidas como resultado de atividades metabólicas orgânicas e podem exercer vários efeitos fisiológicos e patológicos, por meio de múltiplos mecanismos (KARTALCI et al., 2011). Em níveis adequados, EROs/ERNs são necessárias e benéficas (BOŠKOVIĆ et al., 2013). Elas protegem células de infecções por destruir patógenos invasores em locais de inflamação, desempenham um papel fisiológico como mensageiras secundárias na regulação do funcionamento da célula cardíaca e vascular, estão envolvidas na regulação da concentração de cálcio intracelular, na fosforilação de proteínas e/ou na desfosforilação, e na ativação de fatores de transcrição, tais como, o fator nuclear kappa B (WU, KOSTEN, ZHANG, 2013). No entanto, o excesso destas substâncias é prejudicial ao organismo.

Componentes principais das membranas, como fosfolipídios e ácidos graxos poli-insaturados, são altamente suscetíveis ao ataque de radicais livres e à auto-oxidação, gerando radicais peróxidos dentro das membranas celulares, resultando em estruturas instáveis, alterando a fluidez e permeabilidade destas, bem como das membranas das organelas celulares (KARTALCI et al., 2011; ZHANG et al., 2012a; JIANG et al., 2013; WU, KOSTEN, ZHANG, 2013). Além disto, afetam a viabilidade do DNA, por introduzir mutações e modificar a expressão gênica; levam à perda de grupos sulfidrilas e modificações de aminoácidos que tornam as proteínas não funcionais (WU, KOSTEN, ZHANG, 2013). Diante disto, para proteger os sistemas biológicos da toxicidade das espécies radicalares, EROs e ERNs são eliminadas por sistemas antioxidantes enzimáticos como a superóxido dismutase celular (SOD), glutathione peroxidase (GPx) e catalase (CAT) e não-enzimáticos que incluem glutathione (GSH), ácido ascórbico, α -tocoferol, carotenoides e os flavonoides (STOJKOVIĆ et al., 2012).

Embora o corpo humano tenha uma série de defesas contra o EO, aparentemente, o tecido cerebral possui maior vulnerabilidade a danos oxidativos devido aos níveis relativamente baixos de antioxidantes, altos níveis de ácidos graxos poli-insaturados e aumento da necessidade de oxigênio (SHARMA et al., 2008; STOJKOVIĆ et al., 2012).

É cada vez mais comum nos estudos que levantam hipóteses sobre a fisiopatologia da SZ, correlacionar as lesões causadas por altos níveis de EROs/ERNs e a deficiência de mecanismos oxirredutores *in vivo* (WU, KOSTEN, ZHANG, 2013). Estudos realizados em pacientes com esta

doença demonstraram uma redução significativa nos níveis de enzimas antioxidantes e aumento dos níveis plasmáticos de oxidantes, incluindo NOx e hidroperóxidos lipídicos (LOOH) (ZHANG et al., 2012a; WU et al., 2012; ALBAYRAK et al., 2013; ZHANG; YAO, 2013). Além disso, altos níveis de produtos da peroxidação lipídica (malondialdeído e LOOH) são encontrados no plasma, eritrócitos e no líquido cefalorraquidiano em esquizofrênicos, sugerindo que o EO desempenhe um papel importante nesta doença (ZHANG et al., 2009; ZHANG et al., 2012b). No entanto, existem resultados conflitantes. Por exemplo, a maioria dos estudos apresenta aumento dos níveis de NOx em plaquetas, plasma, soro, eritrócitos e em cérebros de pacientes com SZ. No entanto, outros estudos relatam seus níveis diminuídos (TANELI et al., 2004). Vários fatores podem ser responsáveis por essas discrepâncias, como as diferenças em técnicas de mensuração de parâmetros oxidativos, diferenças em tipo de material testado, amostragem de pacientes em diferentes fases de progressão da doença, exposição ao tratamento com neurolépticos, origem étnica diferente, estilo de vida ou dieta padrão (ZHANG et al., 2012a).

Tem-se sugerido que indivíduos com baixa atividade enzimática de paraoxonases (PON) podem apresentar um risco superior de desenvolver doenças nas quais estejam envolvidos o dano oxidativo, como a peroxidação lipídica (VEIGA et al., 2011).

As PON constituem uma família de três enzimas denominadas PON1, PON2 e PON3 (CAMPS; MARSILLACH; JOVEN, 2009). Possuem papéis multifuncionais em diversas vias bioquímicas, tais como proteção contra o dano oxidativo, contribuição à imunidade inata, detoxificação de moléculas

reativas, bioativação de drogas, modulação no estresse do retículo endoplasmático e regulação da proliferação celular/apoptose (CERUM et al. 2014).

A PON1 é a enzima mais estudada desta família. É sintetizada principalmente no fígado e está associada à lipoproteína de alta densidade (HDL) (MABROUK et al. 2014). Esta enzima tem chamado a atenção de pesquisadores nos últimos anos por estar intimamente associada à capacidade antioxidante da HDL e a relação entre os níveis de atividade desta enzima com o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (MACKNESS et al., 2003).

A PON1 foi descrita inicialmente por hidrolisar uma grande variedade de substratos exógenos, como o *paraoxon*, um inseticida organofosforado, entretanto, atualmente, sabe-se da importância desta enzima na lise de LOOH envolvidos em doenças cardiovasculares, contribuindo para a função antioxidante da HDL, bem como a sua utilização como biomarcador de doenças que envolvem principalmente três situações: a) EO, uma vez que PON1 possui ação antioxidante, prevenindo a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL), diminuindo o estado pró-oxidante de macrófagos e possível formação de células espumosas (AYOTTE et al., 2011; VEIGA et al., 2011); b) inflamação, sendo esta enzima considerada uma proteína de fase aguda negativa a PON1 contribui para a atividade anti-inflamatória da HDL, destruindo lipídeos biologicamente ativos na LDL minimamente oxidada, levando à diminuição da resposta inflamatória em células da parede arterial, reduzindo a quimiotaxia de monócitos e aderência destes às células

endoteliais, sugerindo que a ausência desta enzima pode estar associada com a superexpressão de moléculas de adesão (BIONAZ et al., 2007; AHARONI; AVIRAM; FUHRMAN, 2013); e c) em doenças hepáticas em que evidencia-se perda de função de hepatócitos, visto que a PON1 é sintetizado neste órgão (BIONAZ et al., 2007).

Polimorfismos genéticos na zona codificadora da PON1-192 também influenciam a atividade enzimática antioxidante/anti-inflamatória e estes foram associados a várias patologias, incluindo doença cardíaca coronariana, doença de Parkinson, diabetes tipo 2 e doença inflamatória intestinal (FURLONG et al., 2010; LI et al., 2003, LÜERSEN et al., 2011). Ismaila e colaboradores (2008) verificaram que indivíduos portadores do polimorfismo genético PON1-55/192 são mais suscetíveis à SZ quando comparados aos não portadores.

A atividade enzimática da PON1 tem uma elevada variabilidade entre os humanos, o que está relacionado a vários fatores, tais como genética, idade, uso de drogas, doenças, tabagismo, alcoolismo e exposição a químicos ambientais (AYOTTE et al., 2011; VEIGA et al., 2011). Apesar de todas as evidências científicas acerca da PON1, percebe-se que mais estudos são necessários para uma maior compreensão do papel desta enzima no organismo humano.

1.4 RELAÇÃO ENTRE ANTIPSICÓTICOS E ESTRESSE OXIDATIVO

Em meados do século XX iniciou-se uma profunda transformação no setor da Medicina para o tratamento de doenças mentais. Ela ficou conhecida como a Revolução Farmacológica da Psiquiatria, e deveu-se basicamente à introdução dos medicamentos psicoterapêuticos, capazes de melhorar consideravelmente o estado de muitos pacientes portadores de alterações acentuadas de diversas funções psicológicas e perda do juízo da realidade (WYATT; HENTER, 2001).

Após a elaboração da hipótese dopaminérgica, Henri Laborint, na década de 50, iniciou o uso da clorpromazina com o intuito de que esta pudesse diminuir a ansiedade pré-operatória (GRAEFF; GUIMARÃES, 1999). Ao observar os efeitos desta droga, Laborint notou que os pacientes ficavam em estado peculiar, que passou a ser conhecido como síndrome neuroléptica, caracterizada por indiferença emocional, sem diminuição importante da vigilância (GRAEFF; GUIMARÃES, 1999). Esta observação casual despertou a curiosidade de Laborint, que sugeriu a dois colegas psiquiatras, Jean Delay e Pierre Deniker, o uso experimental da droga em pacientes com doenças mentais (GRAEFF; GUIMARÃES, 1999). A introdução deste fármaco no início da década de 50 revolucionou o tratamento de distúrbios psicóticos e, em particular, da SZ (LOPEZ-MUNOZ; ALAMO, 2009).

O tratamento para SZ está evoluindo e diversificando-se, sobretudo no contexto do desenvolvimento de fármacos antipsicóticos (DAZZAN et al., 2005). Os progressos significativos dos fármacos resultaram

na disponibilidade e uso de várias drogas que refletem duas classes de medicamentos: os antipsicóticos de primeira geração (típicos), e os antipsicóticos de segunda geração (atípicos) (DAZZAN et al., 2005).

Os antipsicóticos de primeira geração, como por exemplo o haloperidol (HAL), possuem grande afinidade com o receptor da dopamina do tipo D2 levando à diminuição da atividade dopaminérgica, tornando-os mais eficazes na redução dos sintomas positivos (alucinações e delírios) (FALKAI, et al., 2006). Estes fármacos são, todavia, pouco eficazes em relação aos sintomas negativos e cognitivos também característicos da doença, possuindo ainda elevadas taxas de efeitos colaterais neurológicos como sintomas extrapiramidais, discinesia tardia, risco moderado de sedação, baixo risco de hipotensão ortostática e taquicardia e baixo risco de efeitos anticolinérgicos e de bloqueio adrenérgico (MIYAMOTO et al., 2005; FALKAI, et al., 2006). Diante destes efeitos, novas drogas foram desenvolvidas sendo classificadas como antipsicóticos de segunda geração, os quais se destacam CLZ, olanzapina (OLZ), quetiapina (QTP), risperidona (RIS) e ziprasidona (ZPS) (PILLAI et al., 2007). Estes, possuem menor afinidade de ocupação para os receptores dopaminérgicos, tendo um alto grau de ocupação nos receptores serotoninérgicos, ou seja, existe uma maior relação de afinidade destes fármacos com os receptores de serotonina (5-HT) em relação aos receptores D2 da dopamina (REINKE et al., 2004). Esta afinidade explica a eficácia na redução dos sintomas negativos, alterações cognitivas, prevenção de recaídas, melhorias na capacidade funcional e qualidade de vida, sendo assim drasticamente menos propensos

a causar sintomas extrapiramidais e discinesia tardia (POLYDORO et al., 2004).

Vários estudos têm documentado associação entre antipsicóticos e EO, mas não fica claro se agentes antipsicóticos podem aumentar ou reduzir o estresse celular (STOJKOVIĆ et al., 2012; ZHANG et al., 2012a; WU, KOSTEN, ZHANG, 2013). A diminuição da atividade da SOD foi encontrada no PEP, e em pacientes cronicamente não medicados (WU, KOSTEN, ZHANG, 2013). Porém, um estudo realizado por Wu e colaboradores (2012) verificou que, pacientes esquizofrênicos em uso de medicação antipsicótica, tiveram maior atividade antioxidante desta enzima quando comparados a pacientes esquizofrênicos no PEP. Estes resultados sugerem que os antipsicóticos podem estar envolvidos na promoção de um mecanismo antioxidante endógeno (WU et al., 2012).

Os efeitos de medicação são diferentes entre os diversos tipos de antipsicóticos (ZHANG et al., 2012a). Estudos demonstraram que a primeira geração de antipsicóticos, incluindo HAL, diminuíram a viabilidade de células neuronais, *in vitro*, causando EO, necrose e apoptose (POLYDORO et al., 2004). Em cérebro de ratos, a administração crônica de HAL diminuiu significativamente a atividade da SOD e CAT e aumentou os níveis de 4-hidroxinonal, um marcador de peroxidação lipídica (LEE et al., 2013). Um dos mecanismos envolvidos na patogênese de efeitos secundários extrapiramidais, discinesia tardia, particularmente em pacientes cronicamente tratados com medicamentos neurolépticos, poderia ser o dano oxidativo induzido por antipsicóticos convencionais como o HAL (STOJKOVIĆ et al.,

2012). Por outro lado, alguns estudos demonstraram que os níveis de antioxidantes não foram significativamente afetados pelo tratamento com antipsicóticos atípicos, como a CLZ, OLZ, QTP, RIS e ZPS (LI et al., 2011; RAFFA et al., 2009; WU, KOSTEN, ZHANG, 2013). Entretanto, muitos antidepressivos são conhecidos por diminuir o EO (HERKEN et al., 2007; KOTAN et al., 2011). Embora, os mecanismos exatos de como estes medicamentos poderiam diminuir esta condição biológica, ainda não tinham sido totalmente revelados. Especula-se que estes antidepressivos poderiam agir suprimindo diversas citocinas pró-inflamatórias, a produção de EROs/ERNs ou aumentando enzimas antioxidantes (LEE et al., 2013). Antidepressivos tricíclicos demonstraram papéis benéficos no EO por meio de diversos mecanismos. Por exemplo, a amitriptilina suprimiu a síntese de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β e TNF- α (VISMARI et al., 2012). Já a clomipramina e a imipramina reduziram significativamente a produção de NOx por atenuação da expressão da óxido nítrico sintase induzida (iNOS). Estas drogas também diminuíram os níveis citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1 β e TNF- α (HWANG et al., 2008).

Apesar de décadas de intensa pesquisa, os tratamentos atuais para SZ não só possuem eficácia limitada, mas também, muitas vezes, estão associados a sérios efeitos colaterais (SHUNGU, 2012). Diante disto, novas estratégias neuroprotetoras que visam limitar o EO estão sendo cada vez mais estudadas em transtornos neuropsiquiátricos, incluindo a SZ (SHUNGU, 2012).

Diante do exposto, a presente pesquisa objetivou avaliar, no plasma de pacientes durante o PEP, a atividade enzimática funcional da PON1

e os níveis de citocinas frente a um PEP e, paralelamente, analisar o potencial antioxidante, *in vitro*, de 6 antipsicóticos CLZ, HAL, OLZ, QTP, RIS, ZPS para tratamento da SZ.

2 OBJETIVOS

2.1 ARTIGO 1: LOWERED PARAOXONASE 1 (PON1) ACTIVITY IS ASSOCIATED WITH INCREASED CYTOKINE LEVELS IN DRUG NAÏVE FIRST EPISODE PSYCHOSIS

2.1.1 Objetivo Geral

Avaliar, no plasma de pacientes durante o PEP e controles, a atividade enzimática funcional da PON1 e o níveis de citocinas frente a um PEP.

2.1.2 Objetivo Específicos

Correlacionar os resultados da PON1 com as citocinas próinflamatórias IL-6 e TNF alfa;

Correlacionar os resultados da PON1 com as citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10.

2.2 ARTIGO 2: CLOZAPINE AND OLANZAPINE ARE BETTER ANTIOXIDANTS THAN HALOPERIDOL, QUETIAPINE, RISPERIDONE AND ZIPRASIDONE IN VITRO MODELS

2.2.1 Objetivo Geral

Analisar o potencial antioxidante, *in vitro*, de 6 antipsicóticos CLZ, HAL, OLZ, QTP, RIS, ZPS utilizados para tratamento de episódio psicótico na SZ.

2.2.2 Objetivo Específicos

Identificar uma provável capacidade antioxidante nos testes, *in vitro*, 2,2 -difetil-1-picril-hidrazil (DPPH*) e 2,2-azino-bis-3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS+) da CLZ, HAL, OLZ, QTP, RIS e ZPS;

Verificar uma possível ação antioxidante dos antipsicóticos em um meio complexo contendo polimorfonucleares neutrófilos por meio do teste do *burst* respiratório.

Correlacionar as estruturas químicas dos antipsicóticos com a atividade antioxidante dos mesmos.

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo caso-controle. Este trabalho avaliou 51 pacientes durante o PEP, recrutados a partir de uma unidade de emergência, e 61 controles saudáveis. Os participantes tinham entre 16 e 40 anos.

Foram coletadas amostras de sangue por punção de veia periférica em tubo contendo o anticoagulante heparina. Foi coletado aproximadamente 10 mL de sangue de cada sujeito de pesquisa.

Foram excluídos pacientes e controles com condições médicas crônicas ou agudas associadas a um desequilíbrio no sistema imunológico ou redox, incluindo infecções virais (por exemplo, HIV), reações alérgicas, gravidez, puerpério, doenças reumáticas e utilização de antioxidantes e medicamentos com efeitos imunomoduladores, tais como não-esteroides, anti-inflamatórios, imunossupressores.

3.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA

3.2.1 Definição de Casos e Inclusão na Pesquisa

Os pacientes foram recrutados no Programa de SZ da Universidade Federal de São Paulo – PROESQ. Todos os indivíduos que concordaram em participar da pesquisa foram submetidos a uma avaliação

clínica inicial que consistiu na aplicação de critérios diagnósticos DSM-IV – SCID I (FIRST et al., 1996).

Para a caracterização clínica da amostra, foram colhidos dados sócio-demográficos e relativos à doença. A partir da entrevista com pacientes e familiares e revisão do prontuário foram obtidos dados como: idade de início da doença, número de internações e histórico das medicações utilizadas.

A duração média da psicose não tratada (DUP) foi de 250 dias sendo que a DUP foi definida como a tempo entre o início do primeiro sintoma psicótico e a admissão hospitalar. Todos os pacientes preencheram os critérios para uma das seguintes opções de diagnóstico, de acordo com os critérios do DSM-IV: SZ (64,6%), transtorno esquizofreniforme (18,8%), transtorno psicótico breve (10,4%) e distúrbio psicótico não especificado de outro modo (6,3%).

A avaliação teve duração estimada de 30 minutos. Os indivíduos que preencheram critérios para SZ segundo SCID, primeira edição, foram convidados a fazer uma avaliação complementar que consistiu de:

- PANSS - Instrumento desenhado para avaliar sintomas positivos, negativos e de psicopatologia geral em pacientes esquizofrênicos. Instrumento traduzido e validado Brasil por Vessoni, 1993.
- Escala Calgary de Depressão: Avalia a sintomatologia depressiva atual. Instrumento traduzido e validado no Brasil por Bressan et al., 1998.

- Entrevista estruturada para avaliar o uso pregresso e atual de drogas. Módulo de uso de drogas do Índice de Gravidade de Adição, adaptado pelos pesquisadores.

- Impressão Clínica Global para Gravidade da doença (CGI-S):
Avaliar a gravidade da doença

- AGF: Avaliar o nível de comprometimento funcional dos pacientes.

O tempo total dessa avaliação complementar foi de 1h. Dessa forma, o tempo total de avaliação dos pacientes foi de 1h e 30 minutos. Para todos os instrumentos mencionados acima foi realizado treinamento da aplicação para os entrevistadores. Foi realizado estudo de confiabilidade entre entrevistadores por meio de vídeos para as escalas clínicas.

Os critérios de exclusão foram: idade (apenas participantes entre 16 e 40 anos de idade foram selecionados), história prévia de exposição a medicação antipsicótica e intoxicação aguda. Também foram excluídos pacientes com episódios psicóticos devido a uma condição médica geral, induzida por substância psicóticas ou deficiência intelectual, e os pacientes com diagnósticos de transtornos depressivos bipolares ou grandes com características psicóticas.

3.2.2 Definição de Controle e Inclusão na Pesquisa

Como critérios de inclusão, os pacientes não poderiam apresentar diagnóstico psiquiátrico atual ou progresso e história de transtorno psicótico ou transtorno mental grave em parentes de primeiro grau.

Os critérios de exclusão foram ter diagnóstico psiquiátrico atual ou progresso, ter história familiar de transtorno psicótico grave ou transtorno mental grave na família, ser incapaz de fornecer consentimento livre e esclarecido, ser portador de qualquer doença clínica crônica de natureza inflamatória ou tumoral.

O diagnóstico psiquiátrico atual ou progresso foi avaliado pela SCID-I. A história familiar de doença psiquiátrica foi avaliada por um questionário elaborado pelos pesquisadores a partir das perguntas de rastreio da SCID-I.

Após confirmação do perfil do indivíduo como controle ele foi submetido a uma avaliação clínica complementar descrita abaixo:

- Escala Calgary de Depressão: Avalia sintomatologia depressiva atual. Instrumento traduzido e validado no Brasil por Bressan et al., 1998.
- Entrevista estruturada para avaliar o uso progresso e atual de drogas. Módulo de uso de drogas do Índice de Gravidade de Adição, adaptado pelos pesquisadores.

O tempo de aplicação dessa segunda parte foi de 30 min. Dessa forma o tempo total da avaliação clínica para os indivíduos foi de 1 hora.

3.3 AVALIAÇÃO LABORATORIAL

3.3.1 *Determinação da Atividade da Paraoxonase 1*

A atividade total da PON1 foi determinada pela taxa de hidrólise do fenilacetato (fenol), baseado na metodologia descrita por Richter, Jarvink e Furlong (2008). A taxa de hidrólise de fenilacetato foi determinada em uma leitora de microplacas, marca Perkin Elmer®, modelo EnSpire (Waltham, MA, EUA) no comprimento de onda de 270 nm, medidos durante 4 minutos (16 leituras com intervalo de 15 segundos entre as leituras) com a temperatura mantida a 25°. A atividade foi expressa em U/mL com base no coeficiente de extinção molar do fenilacetato que equivale a 1,31mmol/Lcm⁻¹.

3.3.2 *Determinação de Marcadores Inflamatórios*

Os marcadores inflamatórios foram examinados por meio de citometria de fluxo pela Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo.

Todas as amostras de citocinas foram descongeladas e mensuradas no mesmo dia em um único ensaio usando o mesmo lote de reagentes. Níveis de IL-10, IL-4, IL-6 e TNF- α foram mensurados por citometria de fluxo usando a matriz de citometria grânulo Kit humano Th1/Th2/Th17 (BD Biosciences), conforme as instruções do fabricante pelo citômetro FACS Canto II (BD Biosciences). A sensibilidade e desempenho geral do equipamento foram verificados por meio dos grânulos de configuração e rastreamento (BD

Biosciences) antes da aquisição de dados. Os resultados quantitativos foram gerados usando software de matriz v1.0.1 FCAP (Soft Fluxo Inc.).

3.3.3 Produção de Produtos de Espécies Reativas de Oxigênio por Neutrófilos

O princípio deste método se baseia que neutrófilos são capazes de destruir microrganismos invasores por meio de produção de EROs (HAMPTON et al., 1998; WANG et al., 2008; DRUMMOND et al., 2011). Após um contato com a superfície celular dos neutrófilos o agente invasor desencadeia uma cascata de sinalização intracelular causando a ativação de enzimas envolvidas na geração de substâncias oxidantes (LEWANDOWSKI, 2006). A produção de substâncias oxidantes acontece por meio do aumento no consumo de oxigênio durante a fagocitose, denominado “burst” oxidativo (HAMPTON et al., 1998). O oxigênio é utilizado, principalmente, pela enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase, que reduz o oxigênio a radical superóxido (WANG et al., 2008). Este último sofre dismutação, por meio da superóxido dismutase, gerando peróxido de hidrogênio que serve como substrato para as mieloperoxidases (WANG et al., 2008). Estas enzimas oxidam o peróxido de hidrogênio formando os radicais livres que levam ao dano oxidativo (WANG et al., 2008). Quando os neutrófilos são estimulados, as EROs produzidas podem oxidar o luminol transferindo estas espécies químicas a um estado de excitação eletrônica, que resulta na emissão de luz (PARIJ et al., 1998; MASUDA et. al., 2001).

A produção de EROs por neutrófilos (Burst Respiratório) foi avaliada por quimiluminescência de acordo com uma adaptação do método descrito por Freitas et al. (2008) e Huber, Krotz-fahning, Hock (2006). Este experimento foi conduzido em uma leitora de microplacas Victor X-3, Perkin Elmer®, (Waltham, MA, EUA) em comprimento de onda 300-620 nm, durante 60 min (uma leitura/min), sob uma temperatura de 30 ± 1 ° C.

Os neutrófilos humanos foram isolados por centrifugação e induzido por Forbol-12-miristato-13-acetato na presença de 100mM de CLZ, HAL, OLZ, QTP, RIS, ZPS ou PBS (grupo controle). O meio de reação foi composto por 200 μ l de neutrófilos ($2,5 \times 10^6$ células/ml), 50 μ l de luminol 20mM, 10 μ l das soluções das drogas de teste e 50 μ l de PMA 5mM. Os resultados foram expressos em contagem por minuto (c.p.m.).

*3.3.4 Redução do Radical Livre DPPH**

O teste de DPPH* é um método direto para se determinar a atividade antioxidante de um composto, por meio da doação de hidrogênio. Esse método consiste em avaliar a capacidade antioxidante via atividade sequestradora do radical livre DPPH*. O radical DPPH* possui coloração púrpura, absorvendo em um comprimento de onda máximo de aproximadamente 517 nm. Por ação de um antioxidante, o DPPH* é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com consequente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância (CHANDRASEKAR et al., 2006).

O doseamento da eliminação de radicais livres DPPH• foi conduzido de acordo com Blois (1958) modificado. Os antipsicóticos CLZ, HAL, OLZ, QTP, RIS, ZPS foram adicionados a 1 mL de tampão contendo 0,1M de acetato (pH 5,5), 1 mL de etanol e 0,5 mL de solução de DPPH• 250µM. A redução do radical DPPH• foi determinada pela mudança na absorbância medida a 517 nm. O controle positivo foi preparado na ausência de medicamentos, a fim de determinar os elétrons livres do DPPH•, considerado 100% de radicais livres na solução e utilizado para calcular a capacidade de hidrogênio doado (%) dos fármacos avaliados. Os resultados foram expressos como percentagem de atividade pela seguinte equação:

$$\% \text{ de atividade} = [1 - (\text{absorbância da amostra} / \text{absorbância do controle})] \times 100.$$

3.3.5 Capacidade de Eliminação de Radicais Livres ABTS+

Neste ensaio, o ABTS é oxidado, por meio da retirada de um elétron, pelo persulfato de potássio, formando o radical catiônico ABTS+. Este último possui coloração verde intensa com absorção máxima em 734 nm. Por ação de um antioxidante ocorre a doação de um elétron que reage com o ABTS+ reduzindo a coloração pela formação do ABTS de cor verde clara ou incolor (MAGALHÃES et al., 2009).

A capacidade para eliminar os radicais livres ABTS+ foi realizada de acordo com Sánchez-González, Jiménez-Escrig e Saura-Calixto (2005) com algumas modificações. Aos antipsicóticos CLZ, HAL, OLZ, QTP, RIS, ZPS foram adicionados 7mM de ABTS+ com persulfato de potássio

2,45mM. A redução do radical ABTS+ foi determinada pela mudança na absorbância medida a 730 nm. O controle positivo foi preparado na ausência de medicamentos, e foi considerado 100% de radicais livres na solução, o qual foi utilizado para calcular a capacidade de eliminação de drogas. Os resultados foram expressos como percentagem de atividade pela seguinte equação:

$$\% \text{ de atividade} = [1 - (\text{absorbância da amostra} / \text{absorbância do controle})] \times 100.$$

3.4 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo foi realizado em parceria com a Universidade Federal de São Paulo. Diante disto, o trabalho foi submetido ao Comitê de Ética da Universidade Federal de São Paulo e aprovado conforme número 1.222.250 - CEP. 0729/15 (ANEXO A).

Todos os participantes, após serem informados sobre a proposta dos projetos e sobre os procedimentos aos quais foram submetidos, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido com o objetivo de respeitar a Declaração de Helsinque.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

3.5.1 Artigo 1: Lowered paraoxonase 1 (PON1) activity is associated with increased cytokine levels in drug naïve first episode psychosis

Diferenças entre as características sócio-demográficas e clínicas entre pacientes durante o PEP e controle foram realizadas utilizando

análise de variância (ANOVAs) e análises em tabelas de contingências (teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher). A análise do modelo linear geral multivariado (GLM) foi usada para examinar os efeitos de variáveis explanatórias, incluindo a atividade da PON1, diagnóstico (PEP versus controle), idade e gênero, e níveis séricos das citocinas. Os valores da PON1 foram divididos em três grupos (mediana, q25 e q75), ou seja, aqueles com atividade elevada ($> 250\text{U/mL}$, $n=38$), média (entre 199 e 249 U/mL , $n = 39$) e baixa ($< 197\text{U/mL}$, $n=39$) da PON1. As concentrações das citocinas sofreram transformação logarítmica para a análise estatística. Correlação entre as variáveis foram avaliadas por meio do teste de Spearman. Os dados foram analisados pelo SPSS, versão 19. Resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p<0.05$.

3.5.2 *Artigo 2: Clozapine and Olanzapine are Better Antioxidants than Haloperidol, Quetiapine, Risperidone and Ziprasidone in Vitro Models*

Inicialmente, uma análise exploratória foi realizada com dados do burst respiratório para avaliar a distribuição Gaussiana (teste de Shapiro-Wilk) e a homogeneidade das variâncias (teste de Levene). Na ausência da distribuição normal e homogeneidade das variâncias, os dados foram analisados por meio do teste não paramétrico de Kruskal Wallis complementado com *post hoc* Dunn. Os resultados foram apresentados por meio de mediana, mínimo e máximo. *In vitro*, as concentrações da CLZ, QTP e ZPS que levou à 50% de inibição nos testes de DPPH[•] e ABTS⁺ foram consideradas a média da concentração inibitória (IC50). O IC50 foi determinado

pelo GraphPad Prism® software, versão 3.02, usando uma curva hiperbólica. Os resultados da atividade antioxidante foram apresentados em média \pm erro padrão médio. Resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0.05$.

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

4.1 ARTIGO 1: LOWERED PARAOXONASE 1 (PON1) ACTIVITY IS ASSOCIATED WITH INCREASED CYTOKINE LEVELS IN DRUG NAÏVE FIRST EPISODE PSYCHOSIS

4.2 ARTIGO 2: CLOZAPINE AND OLANZAPINE ARE BETTER ANTIOXIDANTS THAN HALOPERIDOL, QUETIAPINE, RISPERIDONE AND ZIPRASIDONE IN VITRO MODELS

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No primeiro artigo concluímos que o PEP é caracterizado pela redução da atividade anti-inflamatória/antioxidante da PON1 e que existe uma relação inversa entre a diminuição desta atividade e o aumento nos níveis de algumas citocinas, incluindo IL-6, IL-4 e IL-10. Supõe-se que esta redução de atividade possa desempenhar um papel na resposta imunoinflamatória e que o aumento dos níveis de citocinas também possa modular a atividade da PON1.

Verificamos no segundo artigo que antipsicóticos atípicos, principalmente CLO e OLZ, possuem, *in vitro*, atividade antioxidante.

Em função dos resultados apresentados em ambos os artigos e pelo fato do EO e as citocinas, segundo a literatura consultada, desempenharem papel fundamental na etiopatologia da SZ, embora não possamos afirmar, é razoável que se pense em uma hipótese em que pacientes que fazem uso de antipsicóticos atípicos (principalmente CLO e OLZ) possam ter aumento da atividade antioxidante (PON1 aí incluída) e, por conseguinte, esta elevação contribuiria para modulação das citocinas levando a um mecanismo neuroprotetor dos antipsicóticos nestes pacientes. Em suma, a importância destes dois artigos para a prática clínica é que durante um PEP, há uma inter-relação entre biomarcadores inflamatórios e EO e que há a possibilidade da medicação utilizada exercer mais do que os efeitos terapêuticos já consagrados.

REFERÊNCIAS

ADDINGTON, P.; ADDINGTON, J. SCHUSSEF, B. A depression rating scale for schizophrenia. **Schizophr. Res.**, v. 3, p. 247-251, 1990.

AKIL, M.; WEINBERGER, D. Neuropathology and the neurodevelopmental model. In HARRISON, P. J.; ROBERTS, G. W. **The neuropathology of schizophrenia. Progress and interpretation**. New York: Oxford University Press, 2000.

ALBAYRAK, Y. et al. Reduced total antioxidant level and increased oxidative stress in patients with deficit schizophrenia: a preliminary study. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 45, p. 144–149, 2013.

AHARONI, S.; AVIRAM, M.; FUHRMAN, B. Paraoxonase 1 (PON1) reduces macrophage inflammatory responses. **Atheroscler.**, v. 228, p. 353-361, 2013.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION^a. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders**. 5. ed. Washington, DC: American Psychiatric Association, 2013.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION^b. **Schizophrenia spectrun and other psychotic disorder**. 5. ed. Washington, DC: American Psychiatric Association, p. 87-122, 2013.

AMORIM, P. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 22, n. 3, p. 106-115, 2000.

ARNOLD, S. E.; RUSCHEINSKY, D. D.; HAN, LY. Further evidence of abnormal cytoarchitecture of the entorhinal cortex in schizophrenia using spatial point pattern analyses. **Biol. Psychiatry**, v. 15, p. 639-647, 1997.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PSIQUIATRIA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. **Projeto diretrizes: primeiro episódio psicótico (PEP): diagnóstico e diagnóstico diferencial**, p. 1-36, 2012.

AYOTTE, P. et al. Relation between methylmercury exposure and plasma paraoxonase activity in inuit adults from Nunavik. **Environ. Health Perspect.**, v. 119, n. 8, p. 1077–1083, 2011.

BASTOS, O. C. F. **Contribuição ao estudo clínico da esquizofrenia**. Tese para professor titular. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, 1981.

BIONAZ, M. et al. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. **Dairy Sci. Technol.**, v. 90, p. 1740–1750, 2007.

BITANIHIRWEA, B. K. Y.; WOOB, T. W. Oxidative stress in schizophrenia: An integrated approach. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v. 35, p. 878–893, 2011.

BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 181, p. 1199-1200, 1958.

BOŠKOVIĆ, M. et al. Oxidative stress in schizophrenia patients treated with long-acting haloperidol decanoate. **Psychiatr. Res.**, v. 210, p. 761–768, 2013.

BRESSAN, R. A. Validity study of the Brazilian version of the Calgary depression rating scale for schizophrenia. **Schizophr. Res.**, v. 32, p. 41-50, 1998.

BRESSAN, R. A. A depressão na esquizofrenia. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 22, p. 27-30, 2000.

BRESSAN, R. A.; PILOWSKY, L. S. Imaging the glutamatergic system in vivo – relevance to schizophrenia. **Eur. J. Nucl. Med.**, v. 27, p. 1723-1731, 2000.

BRESSAN, R. A.; PILOWSKY, L. S. Hipótese glutamatérgica da esquizofrenia. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 25, n. 3, p. 177-83, 2003.

BROWN, G. W.; BIRLEY, J.; WING, J. Influence of family life on the course of schizophrenia: A replication. **Br. J. Psychiatry**, v. 21, p. 241-258, 1992.

BROWN, A. S.; DERKITS, E. J. Prenatal Infection and Schizophrenia: A review of epidemiologic and translational studies. **Am. J. Psychiatry**, v. 167, p. 261-280, 2010.

BUKA, S. L. et al. Maternal exposure to herpes simplex virus and risk of psychosis among adult offspring. **Biol. Psychiatry**, v. 63, p. 809-815, 2008.

BYRNE, M. et al. Obstetric conditions and risk of first admission with schizophrenia CAMPS, J.; MARSILLAC, H. J.; JOVEN J. The paraoxonases: role in human disease and methodological difficulties in measurement. **Clin. Rev. Clin. Lab. Science**, v. 46, p. 83-106, 2009.

CANNON, T. D. et al. The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 55, p. 67-74, 1998.

CARDNO, A. G. et al. Heritability estimates to psychosis disorders: the Maudsley twin psychosis series. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 56, n. 2, p. 162-168, 1999.

CERON, J. J.; TECLES, F.; TVARIJONAVICIUTE, A. Serum paraoxonase 1 (PON1) measurement: an update. **BMC Vet. Res.**, v. 10, n. 74, p. 1-11, 2014.

CHANDRASEKAR, D. et al. Determination of DPPH free radical scavenging activity by reversed-phase HPLC: A sensitive screening method for polyherbal formulations. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 40, p. 460-464, 2006.

CHEW, L. J.; FUSAR, P. P.; SCHMITZ, T. Oligodendroglial alterations and the role of microglia in white matter injury: relevance to schizophrenia. **Dev. Neurosci.**, v. 35, p. 102-129, 2013.

CHITTIPROL, S. et al. Oxidative stress and neopterin abnormalities in schizophrenia: a longitudinal study. **J. Psychiatr. Res.**, v. 44, p. 310-313, 2010.

DAZZAN, P. et al. Different effects of typical and atypical antipsychotics on grey matter in first episode psychosis: the AESOP study. **Neuropsychopharmacol.**, v. 30, n. 4, p. 765-774, 2005.

DEL-BEN, C. M. et al. Diagnóstico diferencial de primeiro episódio psicótico: importância da abordagem otimizada nas emergências psiquiátricas. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 32, S. II, p. S78-S86, 2010.

DEMPSEY, P. W.; VAIDYA, S. A.; CHENG, G. The art of war: innate and adaptive immune responses. **Cell Mol Life Sci.**, v. 60, p. 2604-2621, 2003.

DREXHAGE, R. C. et al. An activated set point of T-cell and monocyte inflammatory networks in recent-onset schizophrenia patients involves both pro-and anti-inflammatory forces. **Int. J. Neuropsychopharmacol.**, v. 14, n. 6, p. 746, 2011.

DIMITROV, D. H.; BRAIDA, N.; WALSS-BASS, C. The link between immune system dysregulation and schizophrenia. **Psychiatr. Times**, v. 28, n. 10, p. 23–27, 2011.

DIMITROV, D. H. Differential correlations between inflammatory cytokines and psychopathology in veterans with schizophrenia: Potential role for IL-17 pathway. **Schizophr. Res.**, v. 151, p. 29–35, 2013.

FALKAI, P. et al. Diretrizes da Federação Mundial das Sociedades de Psiquiatria Biológica para o Tratamento Biológico da Esquizofrenia Parte 1: Tratamento agudo. **Rev. Psiquiatr. Clín.**, v. 33, suppl. 1, p. 65-100, 2006.

FIRST, M. B. et al. **Structured clinical Interview for DSM-IV axis I disorders – Patient edition (SCID I/P, Version 2.0)**. American Psychiatric Association, Washington DC, 1996.

FREITAS, M. et al. Isolation and activation of human neutrophils in vitro. The importance of the anticoagulant used during blood collection. **Clin. Biochem.**, v. 41, n. 7-8, p. 570-575, 2008.

FURLONG, C. E. et al. Human PON1, a biomarker of risk of disease and exposure. **Chem. Biol. Interact.**, v. 187, p. 355-361. 2010.

GARVER, D. L.; TAMAS, R. L.; HOLCOMB, J. A. Elevated interleukin-6 in the cerebrospinal fluid of a previously delineated schizophrenia subtype. **Neuropsychopharmacology**, v. 28, p. 1515-1520, 2003

GOFF, D. C.; COYLE, J. T. The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. **Am. J. Psychiatry**, v. 158, p. 1367-1377, 2001.

GONÇALVES, D. M.; STEIN, A. T.; KAPCZINSKI, F. Avaliação de desempenho do self-reporting questionnaire como instrumento de rastreamento psiquiátrico: um estudo comparativo com o structured clinical interview for DSM-IV-TR. **Cad. Saúde Pública**, v. 24, n. 2, p. 380-390, 2008.

GOUVEA, E. S. et al. Primeiro episódio psicótico: atendimento de emergência. **Rev. Debates Psiquiatr.**, v. 4, n. 6, p. 16-23, 2014.

GRAEFF, F. G.; GUIMARÃES, F. S. Medicamentos antipsicóticos. In GRAEFF, F. G.; GUIMARÃES F. S.; ZUARDI, A. V. **Fundamentos de psicofarmacologia**. São Paulo: Atheneu, 1999.

HAMPTON, M. B. et al. Inside the neutrophils phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. **Blood**, v. 92, p. 3007- 3017, 1998.

HARRISON, P. J. 1999. The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. **Brain**, v. 122, p. 593-624, 1999.

HERKEN, H. et al. Adenosine deaminase, nitric oxide, superoxide dismutase, and xanthine oxidase in patients with major depression: impact of antidepressant treatment. **Arch. Med. Res.**, v. 38, p. 247–252, 2007.

HOLMES, D. S. **Psicologia dos Transtornos Mentais**. 2^a ed. São Paulo: Artmed, 2001.

HWANG, J. et al. Inhibition of glial inflammatory activation and neurotoxicity by tricyclic antidepressants. **Neuropharmacol.**, v. 55, p. 826–34, 2008.

ISMAILA, K. C. et al. Paraoxonase-1 55/192 genotypes in schizophrenic patients and their relatives in Turkish population. **Psychiatr. Genet.**, v. 18, n. 6, p. 289–94, 2008.

JABLENSKY, A. The diagnostic concept of schizophrenia: its history, evolution, and future prospects. **Dialogues Clin. Neurosci.**, v. 12, n. 3, p. 2010.

JIANG, Z. et al. Social isolation exacerbates schizophrenia-like. Phenotypes via oxidative stress in cortical interneurons. **Biol. Psychiatr.**, v. 73, p. 1024-1034, 2013.

KARTALCI, S. et al. Acute and chronic effects of electroconvulsive treatment on oxidative parameters in schizophrenia patients. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 35, p. 1689-1694, 2011.

KAY, S. R.; FISZBEIN, A.; OPLER, L. A. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. **Schizophr. Bull.**, n. 13, v. 2, p. 261-76, 1987.

KOTAN, V. O et al. Effects of long-term antidepressant treatment on oxidative status in major depressive disorder: a 24-week follow-up study. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 35, p. 1284–90, 2011.

KRINGLEN, E. Twin studies in schizophrenia with special. **Am. J. Med. Genet.**, v. 97, p. 4-11, 2000.

LARUELLE, M. et al. Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 93, p. 9235-9240, 1996.

LEE, S. et al. Oxidative/nitrosative stress and antidepressants: targets for novel antidepressants. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 46, p. 224–235, 2013.

LEWANDOWSKI, E.C. Update on Cardiac Biomarkers. **J. Am. Soc. Clin. Pathol.**, v. 37, n. 10, p. 598-605. 2006.

LEWIS, D. A.; LEVITT, P. Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. **Annu. Rev. Neurosci.**, v. 25, p. 409-432, 2002.

LEWIS, S. W. Computerised tomography in schizophrenia – 15 years on. **Br. J. Psychiatry**, Suppl. 9, p. 16-24, 1990.

Li. H. L.; Liu, D. P.; Liang, C. C. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. **J. Mol. Med.**, v. 81, n. 12, p. 766-779, 2003.

LI, X. F. et al. Reduced plasma total antioxidant status in first-episode drug-naive patients with schizophrenia. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 35, p. 1064–1067, 2011.

LOPEZ-MUNOZ, F.; ALAMO, C. Monoaminergic neurotransmission: the history of the discovery of antidepressants from 1950s until today. **Curr. Pharm. Des.**, v. 15, n. 14, p. 1563-1586, 2009.

LÜERSEN K. et al. Paraoxonase 1 polymorphism Q192R affects the pro-inflammatory cytokine TNF-alpha in healthy males. **BMC Res. Notes**, v. 4, p. 1-6, 2011.

MABROUK, H. et al. Paraoxonase 1 activity and lipid profile in schizophrenic patients. **Asian J. Psychiatr.**, v. 9, p. 36–40, 2014.

MACKNESS, B. et al. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the caerphilly prospective study. **Circ.**, v. 107, p. 2775-2779, 2003.

MAGALHÃES, L. M. et al. Automatic flow injection based methodologies for determination os scavenging capacity against biologically relevant reactive species of oxygen and nitrogen. **Talanta**, n. 78, p. 1219-1226, 2009.

MANSUR, R. B. et al. Cytokines in schizophrenia: Possible role of anti-inflammatory medications in clinical and preclinical stages. **Psychiatry Clin. Neurosci.**, v. 66, p. 247–260, 2012.

MASUDA, M. et al. Chlorination of guanosine and others nucleosides by hypochlorous acid and myeloperoxidase of actived human neutrophils: catalysis by nicotine and trimethylamine. **J. Biol. Chem.**, v. 276, p. 4486-4496, 2001.

MILLER, B. J. et al. Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects. **Biol. Psychiatry**, v. 70, p. 663–671, 2011.

MILLER, B. J. et al. Prenatal inflammation and neurodevelopment in schizophrenia: a review of human studies. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 42, p. 92-100, 2013.

MIYAMOTO, S., et al., Treatments for schizophrenia: a critical review of pharmacology and mechanisms of action of antipsychotic drugs. **Mol. Psychiatry**, 10, n. 1, p. 79-104, 2005.

MONJI, A.; KATO, T.; KANBA, S. Cytokines and schizophrenia: Microglia hypothesis of schizophrenia. **Psychiatry and clinical neurosciences**, v. 63, n. 3, p. 257–265, 2009.

NA, K. S.; JUNG, A, H. Y.; KIM, Y. K. Role of pro-inflammatory cytokines in the neuroinflammation and neurogenesis of schizophrenia. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 48, p. 277–286, 2014.

OLGIATI, P. et al. Schizophrenia: genetics, prevention and rehabilitation. **Acta Neuropsychiatr.**, v. 21, p. 109-120, 2009.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Classificação de transtornos mentais e de comportamento da CID-10**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1993.

PARIJ, N. et al. Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the luminol and lucigenin amplified chemiluminescence of human neutrophils. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 352, p. 299-305, 1998.

PEDRINI, M. et al. Similarities in serum oxidative stress markers and inflammatory cytokines in patients with overt schizophrenia at early and late stages of chronicity. **J. Psychiatr. Res.**, v. 46, p. 819-824, 2012.

PILLAI A., et al. Long-term antipsychotic treatments and crossover studies in rats: Differential effects of typical and atypical agents on the expression of antioxidant enzymes and membrane lipid peroxidation in rat brain. **J. Psychiatr. Res.**, v. 41, p. 372–386, 2007.

POLYDORO, M. et al. Haloperidol and clozapine induced oxidative stress in the rat brain. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 78, p. 751–756, 2004.

POTVIN, S. et al. Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: A systematic quantitative review. **Biol. Psychiatry**, v. 63, p. 801– 808, 2008.

RAFFA, M. et al. Decreased glutathione levels and antioxidant enzyme activities in untreated and treated schizophrenic patients. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 33, p. 1178–1183, 2009

RAHMOUNE, H. et al. Explorando o componente inflamatório da Esquizofrenia. **Rev. Psiq. Clín.**, v. 40, n. 1, p. 28-34, 2013.

RAMANI T. et al. Cytokines: the good, the bad, and the deadly. **Int. J. Toxicology**, v. 34, n. 4, p. 355-365, 2015.

REINKE, A. et al. Haloperidol and clozapine, but not olanzapine, induces oxidative stress in rat brain. **Neurosci. Lett.**, v. 372, p. 157–160, 2004.

RIBEIRO, S. M. R., et al. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 21, n. 3, p. 133-149, 2005.

RICHTER, R. J.; JARVIK, G. P.; FURLONG, C. E. Determination of paraoxonase 1 status without the use of toxic organophosphate substrates. **Circ. Cardiovasc. Genet.**, v. 1, p. 147-152, 2008.

SÁNCHEZ-GONZÁLES, I.; JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; SAURACALIXTO, F. In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter). **Food Chem.**, v. 90, p.133-139, 2005.

SCHWARZ, M. J. et al. The Th2-hypothesis of schizophrenia: a strategy to identify a subgroup of schizophrenia caused by immune mechanisms. **Med. Hypotheses**, v. 56, p. 483– 486, 2001.

SEELEY, R. R.; STEPHENS, T. D.; TATE, P. **Anatomia e Fisiologia**. Loures: Lusociência, 2003.

STEVENS, J. R. Neuropathologies of schizophrenia. In: GATTAZ, W. F.; HÄFNER, H. **Search for the causes of schizophrenia: balance of the century**. Darmstadt: Steinkopff, 1999.

SHARMA A. et al. Plasma lipid peroxidation and antioxidant status of Parkinson's disease patients in the Indian population. **Parkinsonism. Relat. Disord.**, v. 14, p. 52-57, 2008.

SHUNGU, D. C. N-acetylcysteine for the treatment of glutathione deficiency and oxidative stress in schizophrenia. **Biol. Psychiatry.**, v. 71, p. 937-938, 2012.

SILVA, R. C. B. Esquizofrenia: uma revisão. **Psicologia USP**. v. 17, n. 4, p. 263-285, 2006.

SMITH, R. S.; MAES, M. The macrophage-T-lymphocyte theory of schizophrenia: Additional evidence. **Med. Hypotheses**, v. 45, p. 135–141, 1995.

STOJKOVIĆ, T. et al. Risperidone reverses phencyclidine induced decrease in glutathione levels and alterations of antioxidant defense in rat brain. X. Y. Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 39, p. 192–199, 2012.

SULLIVAN, P. F.; KENDLER, K. S.; NEALE, M. C. Schizophrenia as a complex trait. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 60, p. 1185-1192, 2003.

TANELI, F. et al. Serum nitric oxide metabolite levels and the effect of antipsychotic therapy in schizophrenia. **Arch. Med. Res.**, v. 35, p. 401-405, 2004.

UPTHEGROVE, R.; MANZANARES-TESON, N.; BARNES, N. M. Cytokine function in medication-naive first episode psychosis: a systematic review and meta-analysis. **Schizophr Res.**, v. 155, p. 101–108, 2014.

VALLADA FILHO, H.; BUSATTO FILHO, G. Esquizofrenia. In ALMEIDA, P.; DRACU, L.; LARANJEIRA R. **Manual de psiquiatria**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

VEIGA, L. et al. Q192R polymorphism of the paraoxanase-1 gene as a risk factor for obesity in Portuguese women. **Eur. J. Endocrinol.**, v. 164, n. 2, p. 213-218, 2011.

VESSONI, A. L. N. **Adaptação e Estudo da Confiabilidade da Escala de Avaliação das Síndromes Positiva e Negativa para a Esquizofrenia no Brasil**. São Paulo, Tese de mestrado Escola Paulista de Medicina, 1993.

VISMARI, L. et al. A possible role to nitric oxide in the anti-inflammatory effects of amitriptyline. **Immunopharmacol. Immunotoxicol.**, v. 34, p. 578–85, 2012.

WANG, C. et al. Helicobacter pylori neutrophil-activating promotes myeloperoxidase release from human neutrophils. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 377, n. 1, p. 52-56, 2008.

WEINBERGER, D. R. et al. Prefrontal Neurons and the genetics of schizophrenia. **Biol. Psychiatry**, v. 50, p. 825-844.

WYATT, R. J.; HENTER, I. Rationale for the study of early intervention. **Schizophr. Res.**, v. 51, pp. 69-76, 2001.

WU, Z. et al. Elevated plasma superoxide dismutase in first-episode and drug naive patients with schizophrenia: inverse association with positive symptoms. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 36, p. 34-38, 2012.

WU, J. Q.; KOSTEN, T. R.; ZHANG, X. Y. Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 46, p. 200–206, 2013.

ZHANG, X. Y. et al. The novel oxidative stress marker thioredoxin is increased in first-episode schizophrenic patients. **Schizophr. Res.**, v. 113, p. 151–157, 2009.

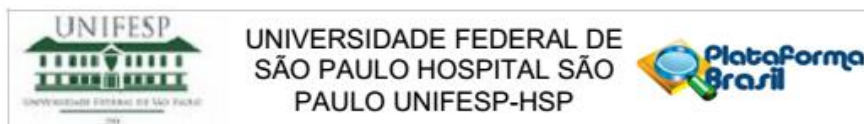
ZHANG^a, X. Y. et al. Effects of risperidone and haloperidol on superoxide dismutase and nitric oxide in schizophrenia. **Neuropharmacol.**, v. 62, p. 1928-1934, 2012.

ZHANG^b, X. Y. et al. Plasma total antioxidant status and cognitive impairments in schizophrenia. **Schizophr. Res.**, v. 139, p. 66–72, 2012.

ZHANG, X. Y.; YAO, J. K. Oxidative stress and therapeutic implications in psychiatric disorders. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 46, p. 197–199, 2013.

ZUBIN, J.; SPRING, B. Vulnerability – A new view of schizophrenia. **J. Abnormal Psychol.**, v. 86, p. 103-129, 1997.

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



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.

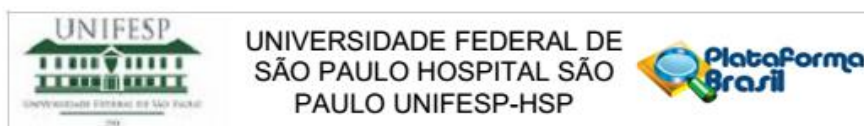
Avaliação dos Riscos e Benefícios:

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 Bolucatu, 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: 1.222.250

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

Alem 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	E_tica 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_21Jul.doc	20/07/2015 23:06:49		Aceito
Outros	Correções e inadequações apontadas.docx	06/08/2015 21:45:48		Aceito
Outros	Declaração.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: SAO PAULO
 Telefone: (11)5571-1062 Fax: (11)5539-7162 E-mail: secretaria.cepunifesp@gmail.com