



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

CARLOS EDUARDO DE SOUZA MENEZES

**Reposicionamento do ácido alfa-lipóico na esquizofrenia:
ensaio clínico aberto**

FORTALEZA
2018

CARLOS EDUARDO DE SOUZA MENEZES

**Reposicionamento do ácido alfa-lipóico na esquizofrenia:
ensaio clínico aberto**

Tese submetida à coordenação do curso de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial a obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Danielle Macêdo Gaspar

**FORTALEZA
2018**

CARLOS EDUARDO DE SOUZA MENEZES

**Reposicionamento do ácido alfa-lipóico na esquizofrenia:
ensaio clínico aberto**

Tese submetida à coordenação do curso de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Danielle Macêdo Gaspar - Orientadora
Universidade Federal do Ceará – UFC

Profa. Dra. Silvania Maria Mendes Vasconcelos
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Jaime Eduardo Cecilio Hallak
Universidade de São Paulo - USPRP

Prof. Dr. David Freitas de Lucena
Universidade Federal do Ceará – UFC

Profa. Dra. Héli da Arrais Costa Vieira
Universidade de Fortaleza - UNIFOR

Suplentes:

Prof. Dr. José Eduardo Honório Ribeiro Junior
Unichristus – Centro Universitário

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M51r Menezes, Carlos Eduardo de Souza.
Reposicionamento do ácido alfa-lipóico na esquizofrenia: Ensaio clínico aberto / Carlos Eduardo de Souza Menezes. – 2019.
109 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, , Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Daniellle Macedo Gaspar .

1. Esquizofrenia. 2. Ácido alfa-lipóico. 3. Reposicionamento. 4. Antioxidante. I. Título.

CDD

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que me ajudaram na realização deste trabalho, em especial:

Aos meus pais **Saturnino Francisco Neto** e **Antonia Zilma de Souza**, que estavam presentes em espírito nos momentos felizes e árduos dessa jornada. Os senhores estarão nas tomadas de decisões de todos os meus passos, como profissional e pai.

À Profa. Dra. **Danielle Macêdo Gaspar**, pelos ensinamentos, confiança e pelas orientações sobre a vida e o fazer acadêmico. Tive o prazer de compartilhar de suas ideias e perspectivas de uma verdadeira neurocientista.

À Profa. Dra. **Silvânia Maria Mendes Vasconcelos**, por abrir as portas do Laboratório de Neuropsicofarmacologia para o meu trabalho científico e convívio entre grandes e diversos pesquisadores. Obrigado por estar presente no início e final dessa minha jornada.

Ao Prof. Dr. **David Freitas de Lucena**, pelos incentivos na continuidade de estudos em neurociências, além de compartilhar opiniões sobre estratégias terapêuticas no Hospital de Saúde Mental Prof. Frota Pinto. Obrigado por fazer parte banca de defesa e pelos seus comentários.

Ao Profa. Dr. **Jaime Eduardo Cecilio**, pelas inúmeras opiniões que ajudaram a tornar esse trabalho mais concreto e adequado ao rigor científico. Obrigado por fazer parte da banca de defesa e pela disponibilidade de diálogo apesar da distância.

À Profa. Dra. **Hélida Arrais Costa Vieira**, pela colaboração nos ajustes da metodologia dos instrumentos psicométricos, por compartilhar e militar em defesa das neurociências no espaço da graduação do curso de Psicologia Obrigado por fazer parte da banca de qualificação, e de defesa.

A minha esposa e companheira **Elyene Sousa Vasconcelos**, por todo amor, apóio e compreensão em muitos momentos de ansiedade e angustia percorrido em todas as etapas desta dissertação. Sua presença reconfortante e apóio incondicional foi meu “porto seguro” fundamental nessa jornada.

Aos meus colegas José Eduardo Ribeiro, pela dedicação nos experimentos e companheirismo, fundamentais no êxito desse trabalho.

À técnica do Laboratório, **Vilani Rodrigues Bastos**, pelo apoio logístico e ensinamentos práticos.

À CAPES pelo apoio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente ajudaram na realização dessa conquista, meu sincero.
MUITO OBRIGADO!!!

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.

α	= Alfa
β	= Beta
\pm	= Mais ou menos
$>$	= Maior que
$<$	= Menor que
%	= Percentagem
SNC	= Sistema Nervoso Central
5-HT	= Serotonina
D ₁	= Receptor Dopaminérgico
5-HTT	= Transportador de Serotonina
NMDA	= Receptor glutamatérgico
Sod	= Superóxido dismutase
ISRS	= Inibidores seletivos da recaptação da serotonina
ACTH	= Hormônio adrenocorticotrófico
TAG	= Transtorno de Ansiedade Generalizada
TEPT	= Transtorno de Estresse Pós-trauma
GABA	= Ácido γ amino butírico
QV	= Qualidade de vida
HP	= Hipocampo
ACh	= Acetilcolina
AChE	= Acetilcolinesterase
BChE	= Butirilcolinesterase
ALA	= Ácido α -lipóico
TBARS	= Ácido Tiobarbitúrico
Cat	= Catalase
MDA	= Malondialdeído
GSH	= Glutathiona
ROS	= Species Reative Oxygen

BPRS

= Escala de avaliação breve psiquiátrica

SAS

= Escala de avaliação de sintomas extrapiramidais

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características da amostra de pacientes;

Tabela 2: Relato de Medicamentos / Indivíduo (Antipsicóticos e outros)

Tabela 3: BPRS: Média dos Escores dos sintomas específicos nos momentos Pré-ALA e Pós-ALA;

Tabela 4: Resultados: Avaliação Neuropsicológica;

Tabela 5: Circunferência Abdominal / Índice de Massa Corporea / Parâmetros laboratoriais / Marcadores de Estresse Oxidativo;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fase de migração dos neurônios e formação das camadas do córtex cerebral

Figura 2: Vias de projeções dopaminérgicas, a partir da síntese na área tegumentar ventral;

Figura 3: Vias dopaminérgicas e suas relações com os principais grupos de sintomas da esquizofrenia;

Figura 4: Interação da transmissão dopaminérgica, serotoninérgica e glutamatérgica no córtex pré-frontal;

Figura 5: Danos metabólicos relacionados a instabilidade das espécies reativas de oxigênio (ROS) em diferentes estruturas celulares;

Figura 6: Metabolismo da Glutathiona;

Figura 7: Metabolismo do Nitrito/Nitrato;

Figura 8: Reações de desaminação, pela ação (NO_2^-) e (NO_3^-) na molécula de DNA;

Figura 9: Reação de metabolização do TBARS/MDA final;

Figura 10: Estruturas Moleculares: Ácido α -Lipoico e Ácido Dihidrolipoico;

Figura 11: Ação do ácido lipóico sobre a peroxidação lipídica;

Figura 12: Áreas do córtex pré-frontal. Apresentando atividades hipofuncionais, nos indivíduos com esquizofrenia;

Figura 13: Teste do span dígitos: Alça fonológica: Memória de trabalho

Figura 14: Blocos de Corsi – Esboço viso-espacial: Memória de trabalho;

Figura 15: Teste de Trihas: Flexibilidade mental;

Figura 16: Linha do tempo da pesquisa: execução de procedimentos metodológicos.

Figura 17: Escores totais (BPRS), referente a presença de sintomas psiquiátricos variados em diferentes momentos. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a média \pm erro padrão da média. # $p < 0,005$ em relação ao momento Pré-ALA.

Figura 18. Escores parciais (BPRS), referente a presença de sintomas positivos, negativos ou desorganizados, depressivos e excitação ou hostilidade no grupo analisado. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a média \pm erro padrão da média. # $p < 0,005$ em relação ao momento Pré-ALA.

Figura 19: Escores totais (BPRS), referente a presença global de sintomas psiquiátricos variados em diferentes momentos em cada indivíduo. Cada barra representa a persistência dos sintomas no momento inicial (1º visita), e no final do estudo (5º visita).

Figura 20. Escores parciais (BPRS), referente à presença de sintomas positivos e negativos de cada indivíduo analisado. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a persistência dos sintomas no momento inicial (1º visita), e no final do estudo (5º visita).

Figura 21. Escores parciais (BPRS), referentes à presença de sintomas depressivos e excitação de cada indivíduo analisado. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a persistência dos sintomas no momento inicial (1º visita), e no final do estudo (5º visita).

Figura 22: Evolução referente a presença de sintomas extrapiramidais durante as avaliações clínicas. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso contínuo de ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra vertical representa a média \pm erro padrão da média. # $p < 0,005$ em relação ao momento Pré-ALA.

Figura 23. Escores brutos do teste de Dígitos, referente ao processamento de memória de trabalho, subtipo alça-fonológica. Atividade do córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-

ALA). Cada barra representa a média \pm erro padrão da média. # $p < 0,005$ em relação ao momento Pré-ALA

Figura 24. Escores bruto, em diferentes momentos, do teste Blocos de Corsi, referente ao processamento de memória de trabalho, subtipo esboço visuo-espacial. Representa a atividade do córtex pré-frontal dorsolateral direito. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a média \pm erro padrão da média. # $p < 0,005$ em relação ao momento Pré-ALA.

Figura 25: Média do número de respostas nos testes de fluência verbal; categoria animais e FAS. Número de respostas coletadas em diferentes momentos, no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA).

Figuras 26: Tempo de execução nos testes de atenção seletiva (Trilha A, B); referente ao processamento de tomadas de decisão. Atividade do córtex pré-frontal cingulado anterior e orbitofrontal direito. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a média \pm erro padrão da média. # $p < 0,005$ em relação ao momento Pré-ALA.

Figuras 27: Número de erros de execução no teste de atenção seletiva (Trilha A, B); referente ao processamento de tomadas de decisão. Atividade do córtex pré-frontal cingulado anterior e orbitofrontal direito. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a média \pm erro padrão da média. # $p < 0,005$ em relação ao momento

Figuras 28: Número de evocações corretas no teste de memória verbal de Rey; referente a capacidade de aprendizagem auditiva imediata. Atividade do córtex pré-frontal esquerdo. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA).

Figura 29. Níveis séricos de MDA / mL, marcador da atividade do TBARS em diferentes momentos. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a média \pm erro padrão da média. # $p < 0,005$ em relação ao momento Pré-ALA.

Figura 30. Níveis séricos de vitamina B₁₂, IL-1 β , IL-4 e IFN- γ em pacientes em diferentes momentos. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA).

Figura 31: Níveis de GSH e Ácido fólico em pacientes em diferentes momentos. Níveis no momento basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra vertical representa a média \pm erro padrão da média.

Figura 32: Níveis de proteína C-reativa (Hs-PCR) em pacientes em diferentes momentos. Níveis no momento basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra vertical representa a média \pm erro padrão da média.

SUMARIO

1.Introdução.....	1
1.1.Aspectos Gerais da Esquizofrenia.....	1
1.2.Neurofisiopatologia da Esquizofrenia.....	1
1.3. Genética.....	2
1.4.Teorias Neuroquímicas.....	5
1.5.Sistema Dopaminérgico.....	5
1.6.Sistema Glutamatérgico/Gabaérgico.....	8
1.7.Sistema Serotoninérgico.....	10
2.Estresse oxidativo e transtornos psiquiátricos.....	12
2.1.Ácido fólico.....	16
2.2.Glutationa.....	17
2.3.Nitrito e Nitrato.....	20
2.4.TBARS: Ácido Tiobarbitúrico / MDA.....	22
3.Ácido alfa-lipóico.....	23
3.1. Estresse oxidativo e vias imuno-inflamatórias na esquizofrenia.....	26
4. Neuropsicologia na esquizofrenia.....	29
5. Tratamento farmacológico.....	36
5.1. Psiquiatria translacional: Evidências Experimentais que embasaram o estudo clínico do ALA.....	39

6. Relevância e justificativa.....	40
7. Objetivos.....	41
7.1. Geral	41
7. 2. Específicos	41
8. Método	42
8.1. Definição do tamanho da amostra	42
8.2. Aspectos Éticos.....	42
8.3. Condução do estudo.....	42
8.4. Droga teste	46
Escala de avaliação psiquiátrica: BPRS / SAS.....	47
8.5. Análise do estresse oxidativo – dano lipídico	48
8.6. Ensaio de nitrito	49
8.7. Medições de peroxidação lipídica (LPO)	50
9. Cronograma de execução: coleta de dados.....	51
10. Análise estatística	51
11. Resultados	53
11.1. Avaliação pelas Escalas Psiquiatricas	53
11.2. Resultados: Testagem Neuropsicologicos	56
11.3. Marcadores de Estresse Oxidativo.....	62
12. Discussão	78
13. Conclusão	72
14. Referencias	73
ANEXOS.....	80

Resumo

REPOSICIONAMENTO DO ÁCIDO ALFA-LIPÓICO NA ESQUIZOFRENIA: ENSAIO CLÍNICO ABERTO

Evidências de pesquisas experimentais anteriores demonstraram a forte relação entre desequilíbrio oxidativo e a presença de diversos sintomas da esquizofrenia. As propriedades antioxidantes do ácido alfa-lipóico (ALA), utilizado como uma proposta de terapia adjuvante para a esquizofrenia, produziram resultados positivos nessas mesmas pesquisas. O objetivo deste trabalho clínico foi demonstrar o reposicionamento do ALA no tratamento dos sintomas psicóticos, além de promover um estudo bidirecional dentro de uma perspectiva translacional. Nesse ensaio clínico, registramos a evolução de onze pacientes com diagnóstico de esquizofrenia e curso crônico da doença, que fizeram uso de ALA (100mg/Kg) combinado com antipsicótico atípico previamente prescrito, durante quatro meses ininterruptos. Em intervalos regulares, os sintomas típicos da esquizofrenia foram avaliados através de escalas de quantificação de sintomas (BPRS) e de efeitos extrapiramidais (SAS). Foram comparados os desempenhos cognitivos em diferentes momentos (Pré-ALA e Pós-ALA) através de testes neuropsicológicos. Alterações oxidativas (Glutathiona, Nitrito, TBARS/MDA) foram medidas para evidências de peroxidação lipídica. Observamos redução significativa dos sintomas negativos ou desorganizados e dos sintomas de excitação ou agressividade. Houve redução significativa dos efeitos extrapiramidais após o uso de ALA. O desempenho da memória de trabalho teve significativa melhora no momento Pós-ALA. Os níveis de TBARS/MDA tiveram significativa redução associada à ação antioxidante. Os resultados desse estudo reforçam a ação terapêutica do (ALA) para pacientes esquizofrênicos, assim como a metodologia de pesquisa transversal para novos medicamentos envolvidos no tratamento de transtornos psiquiátricos.

Palavras-Chaves: Esquizofrenia; Ácido alfa-lipóico, Reposicionamento, Antioxidante.

ABSTRACT

REPOSITIONING OF ALPHA-LIPOIC ACID IN SCHIZOPHRENIA: OPEN CLINICAL TRIAL

Evidence from previous experimental research has demonstrated the strong relationship between oxidative imbalance and the presence of various symptoms of schizophrenia. The antioxidant properties of alpha-lipoic acid (ALA), used as an adjuvant therapy for schizophrenia, produced positive results in these same studies. The objective of this clinical study was to demonstrate the repositioning of ALA in the treatment of psychotic symptoms, as well as to promote a two-way study from a translational perspective. In this clinical trial, we recorded the evolution of eleven patients diagnosed with schizophrenia and chronic disease who used ALA (100mg / kg) combined with previously prescribed atypical antipsychotic for four consecutive months. At regular intervals, symptoms typical of schizophrenia were assessed using symptom quantification scales (BPRS) and extrapyramidal effects (SAS). We compared cognitive performance at different times (Pre-ALA and Post-ALA) through neuropsychological tests. Oxidative alterations (Glutathione, Nitrite, TBARS / MDA) were measured for evidence of lipid peroxidation. We observed a significant reduction of the negative or disorganized symptoms and of the symptoms of excitation or aggressiveness. There was a significant reduction of extrapyramidal effects after the use of ALA. The performance of working memory was significantly improved at the post-ALA stage. The TBARS / MDA levels had a significant reduction associated with antioxidant action. The results of this study reinforce the therapeutic action of ALA for schizophrenic patients, as well as the transversal research methodology for new drugs involved in the treatment of psychiatric disorders.

Keywords: Schizophrenia; Alpha-lipoic acid, Repositioning, Antioxi

1. Introdução

1.1. Aspectos gerais da esquizofrenia

Esquizofrenia é um transtorno mental que afeta cerca de 1% da população mundial (Perala et al., 2007), aproximadamente 24 milhões de pessoas em todo o mundo, principalmente na faixa entre os 15-35 anos (WHO, 2010). Evidências mostram que a prevalência entre homens e mulheres ocorre em iguais proporções, apesar de nas mulheres o início dos sintomas ocorrer mais tardiamente, além de ter um melhor curso da evolução das desordens. Uma doença psiquiátrica caracterizada por distorções fundamentais do pensamento, da sensopercepção, e por afeto inadequado ou embotado (CID-10, 1993). Quando utilizados critérios de diagnósticos mais estritos, a incidência e a prevalência da esquizofrenia costumam ser as mesmas em diferentes culturas (Mueser e McGurk, 2004).

Esta patologia apresenta diversos aspectos etiopatogênicos, podendo ser genéticos, ambientais, neurodesenvolvimentais, neurodegenerativos, estruturais e bioquímicos.

Apesar de já existirem relato de quadros psicóticos desde a antiguidade, o termo nosológico que caracteriza a Esquizofrenia teve início com Kraepelin, no final do século XIX. Este autor enfatiza o início e o curso do quadro, sendo a deterioração clínica progressiva, em pacientes jovens, característica do transtorno, determinando o ele chamou de demências precoces (Kraepelin, 1919). Para Bleuler (1911) trata-se de um modelo transversal voltado para as principais características dos sintomas, ou seja, a cisão ou “quebra” da mente, com a construção de outra realidade. Já a abordagem de

Shneider (1958) enfatizou a análise dos sintomas psicóticos segundo uma hierarquia de predominância denominada por ele de “primeira ou segunda ordem”. Essas concepções serviram como base para a elaboração dos manuais de classificação e diagnóstico dos transtornos mentais CID-10 (Classificação internacional de doenças) (CID 10, WHO, 1992) e o DSM-V (Diagnostic and statistical manual of mental disorder) (APA,2014). Ambos os sistemas definem objetivamente os sintomas e déficits da esquizofrenia de maneira similar. No entanto, o DSM-V inclui a necessidade da disfunção ocupacional em seus critérios e estabelece o período de 6 meses de sintomas para o diagnóstico, diferentemente do CID-10.

Atualmente, acredita-se que diversas etiologias ainda não esclarecidas converjam para um fenótipo caracterizado por sintomas positivos (delírios e alucinações), negativos (isolamento social, embotamento afetivo, anedonia) e disfunção cognitiva (déficits das funções executivas) (Balu & Coyle, 2011). Uma remissão completa dos sintomas raramente ocorre e cerca de 20% dos casos não respondem ao tratamento com antipsicóticos (Kane et al., 1988). Em virtude da elevada persistência dos sintomas, há uma contínua busca por tratamentos adjuvantes.

1.2. Neurofisiopatologia da Esquizofrenia

O processo etiológico e fisiopatológico da esquizofrenia e de outras psicoses funcionais não estão esclarecidos. As principais áreas de investigação em esquizofrenia são neuroanatomia, a neuroquímica e a neurofisiologia pesquisas experimentais e clínicas. Os principais modelos etiológicos da esquizofrenia foram elaborados segundo pesquisas que se baseiam na interação entre múltiplos genes de suscetibilidade e fatores de riscos ambientais (biológicos e psicossociais), principalmente, envolvendo a neurotransmissão dopaminérgica e glutamatérgica nas vias mesolímbicas e

mesocorticais e os circuitos envolvendo o córtex pré-frontal, o sistema límbico, os núcleos da base e o tálamo (Mueser e McGurk, 2004, Simpson, 1997; Molina et al., 2005).

Diferentes abordagens científicas, como estudos psicofarmacológicos, genéticos, post mortem, de neuroimagem, com modelos animais, e neuroendocrinológicos e mais recentemente a hipótese inflamatória tem sido utilizadas na investigação da esquizofrenia. Todavia, a etiologia e a fisiopatologia dessa síndrome ainda carecem de muitos estudos para serem mais bem compreendidos e esclarecidos a fim de alcançar tratamentos e, até mesmo prevenções mais eficazes.

Nesse transtorno observa-se uma falhas na substância branca dos neurônios intericiais das camadas 5-6. A densidade dos neurônios gabaérgicos na área dorsolateral do córtex pre-frontal mostrou-se alterada em indivíduos esquizofrênicos. Houve ativação de resposta inflamatória pela microglia nas mesmas camadas. (Figura 1) (Duchatel et al, 2019)

1.3. Genética

Estudos com gêmeos, crianças adotadas, e famílias que tem algum membro esquizofrênico, têm proposto haver um componente genético significativo relacionado à esquizofrenia, além de fatores culturais e ambientais. Estes estudos apontam riscos maiores de desenvolver a doença em parentes de primeiro grau de esquizofrênicos (15% de probabilidade) e concordância de 20-50% em gêmeos monozigóticos. Já em estudos de adoção, em que os pais biológicos eram esquizofrênicos, verificou-se certa influencia dos fatores ambientais, sendo que as crianças adotadas teriam menores chances em desenvolver a doença do que se estivessem com seus pais biológicos e, além disso, foi

observado também que há alguns fatores que já são inerentes à vulnerabilidade para a esquizofrenia (Wong e Van Tol, 2003).

Algumas anormalidades, tanto na expressão de mRNA quanto na de proteínas, têm sido observados em estudos *post mortem* em cérebros de esquizofrênicos. Dos genes incluem-se aqueles envolvidos na função sináptica, em sistemas de neurotransmissores, interferindo na transdução do sinal neuroquímico, e na fase de migração celular do desenvolvimento neuronal, caracterizando déficits na formação das camadas corticais do encéfalo. (Mirnics et al., 2000 Hakak et al., 2001). Entretanto a compreensão da complexidade da regulação gênica nos diferentes sistemas de neurotransmissão, envolvidos na esquizofrenia, reflete um desafio a ser desvendado. Estudos genéticos mostram que no sistema dopaminérgico (DA) há uma relação entre a expressão dos genes de receptores ou de transportadores de DA, como alvos terapêuticos da esquizofrenia. (Coon et al., 1994; Perisco et al., 1995). Além disso, uma variação no COMT (catecol-o-metiltransferase) tem sido descrita como estando associada a um risco aumentado na esquizofrenia. O gene COMT está localizado na região do cromossomo 22q11-13, na qual foram descritas conexões com psicoses (como a esquizofrenia). Dentre os cromossomos que têm sido associados à esquizofrenia e a outras psicoses estão: 5q, 11q, 18q, 19q e 22q (Wong e Van Tol, 2003).

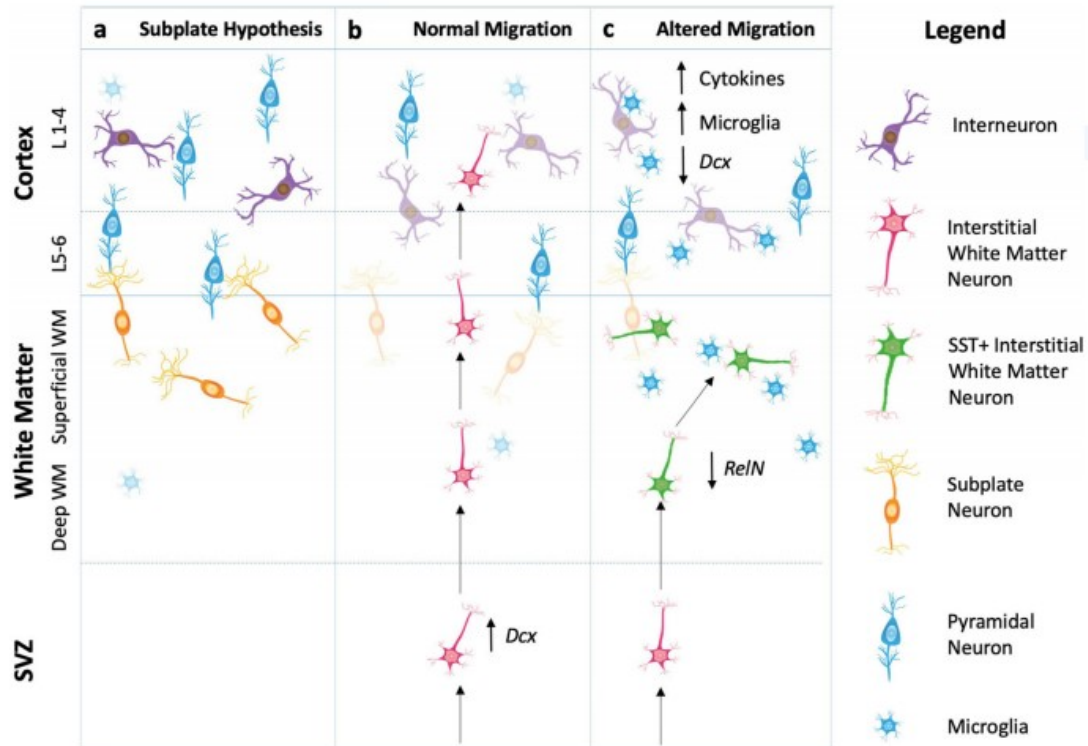


Figura. 1: Fase de migração dos neurônios e formação das camadas do córtex cerebral. Hipótese do neurodesenvolvimento da esquizofrenia. Fonte: Duchatel et al, 2019

1.4. Teorias Neuroquímicas

As formulações das teorias neuroquímicas para a esquizofrenia adotaram um modelo fisiopatológico em que alterações em um sistema neurotransmissor específico seriam responsáveis pelo quadro clínico dos pacientes. Através desses modelos, observamos que fármacos que induzem sintomas psicóticos (como anfetamina, LSD e fenciclidina) tem considerável valor preditivo na busca fármacos com ação antipsicótico (antagonistas dopaminérgicos e serotoninérgicos, agonistas glutamatérgico). (Yang et, 2017)

A hipótese de alterações disfuncionais nos sistemas dopaminérgico e glutamatérgico tem sido a principal teoria de fundamentação psicofarmacológica, nas

últimas décadas. Apesar das pesquisas mais recentes demonstrarem a necessidade de modelos explicativos dos sintomas das psicoses com uma maior complexidade, essa teoria persiste como um forte fator de associação entre a hipofunção da neurotransmissão desses sistemas e os diferentes sintomas da esquizofrenia. (Homes et al, 2015)

1.5. Sistema Dopaminérgico

Os receptores Ds podem ser divididos em duas famílias: famílias D₁ (D₁ e D₅) e D₂ (D₂, D₃ e D₄), baseado em similaridades estruturais e farmacológicas (Meador-Woodruff, 199). Cada receptor apresenta diferenças isoformas, e também funções diferentes. Os receptores D₁, através do acoplamento à proteína Gs (porção excitatória da proteína G), estão envolvidos na estimulação da fosfolipase C (PLC), da adenilase ciclase e da síntese de adenosina monofosfato ciclaca (cAMP); na produção de fosfato isositol; mobilização de Ca²⁺; inibição da bomba de Na⁺/K⁺-ATPase; ativação de liberação de AA e estimulação de efluxo de K⁺. Tem-se sugerido que o receptor D₅ também está envolvido na modulação da função hipotalâmica e em algumas formas de controle motor, além de interagir funcionalmente com receptores GABA_A. (Yang et al, 2017). Receptores da família D₂, através de acoplamento à proteína Gi (porção inibitória da proteína G), inibem adenilato ciclase e, conseqüentemente, a síntese de cAMP; modulam a hidrólise de fosfoinositídeo; regulam a atividade de diferentes canais iônicos e correntes de K⁺; ativam a proteína cinase ativada por mitogênese (MAPK) e, em sinergismo com os receptores D₁, causam inibição de Na⁺/K⁺-ATPase e ativação da liberação de AA (Homes et al, 2015, Sidhu e Niznik, 2000).

O subtipo D₁ é o receptor D mais abundante no cérebro, presente em altas densidades em regiões neocorticais, límbicas e nos gânglios basais (Hall et al., 1994).

D₅ está presente em maior densidade no hipocampo e hipotálamo, e em menor densidade no estriado (Sibley, 1994). O segundo subtipo mais abundante no cérebro humano é o D₂ (Hall et al., 1994). Há alta densidade destes receptores nos gânglios basais, e também estão presentes em regiões extraestriatais, com menor densidade (Nakata et al., 2017). O subtipo D₃ é expresso predominantemente em áreas límbicas, incluindo tubérculo olfatório, núcleo accumbens e hipotálamo. Já D₄ é altamente expresso no córtex frontal, mesencéfalo, amígdala, medula e hipotálamo, com níveis menores no estriado e tubérculo olfatório (Sibley, 1994).

As principais vias dopaminérgicas são a nigro-estriatal, a mesocorticolímbicas e a tuberoinfundibular. (Cravhxck e Goldman, 2000). A via nigro-estriatal projeta-se da substância negra (A9) para o estriado e estão envolvidos, primariamente, no controle da atividade motora. Os neurônios DAs mesolímbicos projetam da área tegmentar ventral (A10) e para o núcleo accumbens, tubérculo olfatório, septo e amígdala. Os mesocorticais projetam-se de A10 e A8 para os córtices frontal, entorrinal e piriforme, e cingulado anterior. O sistema mesocorticolímbico possui um importante papel na regulação da função emocional e cognitiva. A via tuberoinfundibulares originam-se no hipotálamo e projetam-se para a glândula pituitária, estando envolvida no controle endócrino (Wilson et al, 1998).

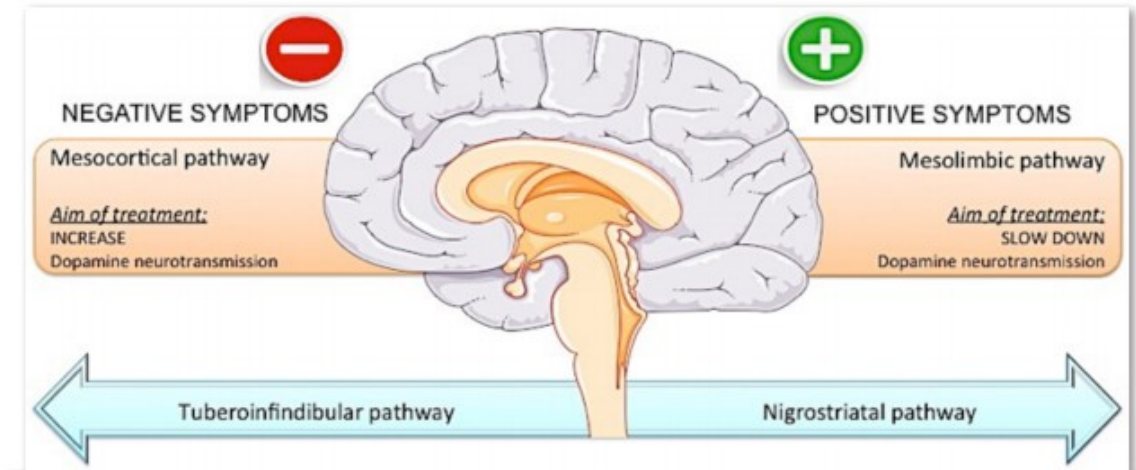


Figura 2: Vias de projeções dopaminérgicas, a partir da síntese na área tegumentar. Hiperativação da via mesolímbica dopaminérgica induz positivo sintomas de esquizofrenia via aumento da estimulação do receptor D2 nas áreas límbicas, hipoativação da via mesocortical dopaminérgica causa sintomas negativos e cognitivos com diminuição da ativação do receptor D1 nas áreas corticais. ventral. Fonte: [Aricioglu et al, 2016](#).

A hipótese dopaminérgica se baseia na ideia de que a esquizofrenia está associada a um estado de hiperatividade dopaminérgica, principalmente na via mesolímbica. As evidências que sustentam tal hipótese mostram que fármacos que aumentam a atividade dopaminérgica, como anfetaminas, são capazes de induzir os sintomas positivos da doença em pessoas previamente saudáveis. Além disso, a eficácia terapêutica dos antipsicóticos, incluindo os atípicos, está diretamente relacionada à ocupação de receptores dopaminérgicos do tipo D₂. O efeito terapêutico dos antipsicóticos estaria associado ao bloqueio dopaminérgico da via mesolímbica, enquanto os efeitos extrapiramidais estariam relacionados ao bloqueio D₂ no corpo estriado da via nigro-estriatal. Por outro lado, afirmam-se que os sintomas negativos estariam associados a um estado hipodopaminérgico no córtex frontal e não seriam tratados a partir do bloqueio D₂ promovido por antipsicóticos. A hipótese

dopaminérgica ganhou novo impulso com a descoberta da clozapina, um antipsicótico mais específico, com maior afinidade por receptores D₄ do que D₂, ao contrário dos demais antipsicóticos, assim como a maior distribuição do receptor D₄ nas regiões mesolímbica. (Nakata et al., 2017).

1.6. Sistema glutamatérgica/GABAérgica

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do SNC. A chamada hipótese glutamatérgica surgiu a partir da evidência de níveis de glutamato diminuídos em esquizofrênicos, mas esse resultado não foi consistentemente replicado. No entanto, a hipótese ganhou um novo impulso quando se descobriu que o fármaco psicominético fenciclidina (PCP) bloqueava o canal iônico do receptor NMDA, um dos receptores glutamatérgico. O PCP, ao contrário dos fármacos dopaminérgicos, gerava tanto os sintomas positivos da doença como os negativos. Mais tarde, observou-se que outros antagonistas do receptor NMDA (como Ketamina e MK-801) tinham efeitos semelhantes em humanos. Outro ponto importante é que antagonistas glutamatérgico exacerbam ou reativam a sintomatologia prévia dos pacientes em vez de acrescentar novos sintomas psicóticos, como observados em outros psicomiméticos. (Yang et al, 2017).

O modelo mais desenvolvido da hipótese glutamatérgica foi proposto por Olney e Farber, 2005. Esse modelo leva em conta os circuitos neuronais nos quais o glutamato ativa receptores NMDA de neurônios GABAérgicos, que, por sua vez mantêm um tônus inibitório sobre as vias excitatórias que inervam outras áreas corticais e subcorticais, principalmente do sistema límbico.

O bloqueio dos receptores NMDA desse circuito diminui a inibição GABAérgica sobre essas vias excitatórias, o que leva a uma hiperestimulação da via mesolímbica. Desse modo, alterações primárias nos neurônios GABAérgicos seriam equivalentes ao estado de hipofunção NMDA, levando às mesmas disfunções. Um achado relevante nesse aspecto é a diminuição de neurônios GABAérgicos no córtex cerebral de esquizofrênicos.

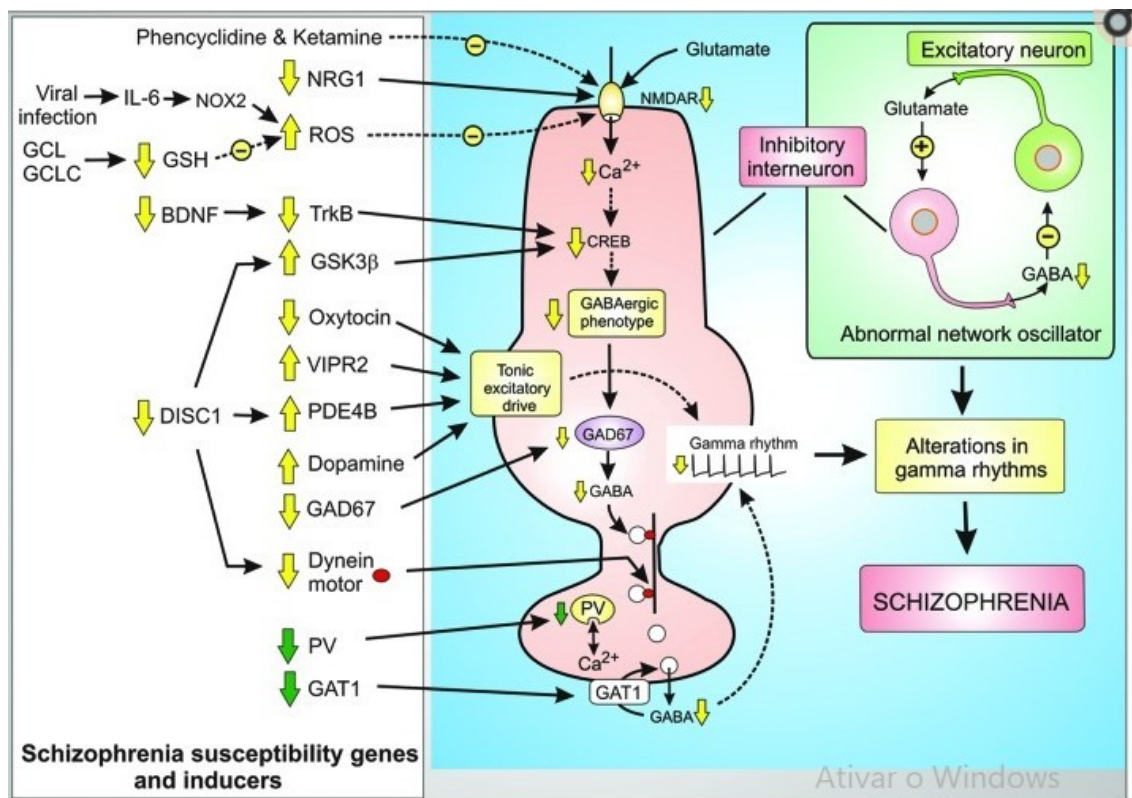


Figura 3: Alterações fenotípicas das vias dopaminérgicas, pela resposta dos interneurônios gabaérgicos atuando inibindo a atividade dos receptores NMDA. Apresentando relações com os principais grupos de sintomas da esquizofrenia. Fonte: Berridge, 2013.

Sherman e colaboradores (1999) mostraram liberação de glutamato diminuída em sinaptossomas do córtex temporal de esquizofrênicos. Concordam com esses achados, Tsai e colaboradores observaram níveis de glutamato diminuídos no hipocampo e no córtex frontal de esquizofrênicos. Além disso, o precursor de glutamato

NAAG (N-acetilaspargilglutamato) estava aumentado, e a atividade da enzima que o converte em glutamato (NAALADase), diminuída. (Berridge, 2013)

Estudos de PET em pacientes sem tratamento relacionaram sintomas positivos com alterações funcionais dos córtices cingulado anterior e hipocampal exatamente nas áreas de maior densidade de receptores NMDA. Essas regiões cerebrais estão associadas com os sintomas psicóticos induzidos pelo antagonista NMDA, como a Ketamina tanto em pacientes, como em voluntários normais não afetados. (Kirino et al, 2017; Egerton et al, 2017)

1.7. Sistema serotoninérgico

Um dos primeiros modelos farmacológicos de sintomas psicóticos foi o LSD. Mais tarde, foi evidenciado que esse fármaco interage com o sistema serotoninérgico e que a Reserpina (um dos primeiros antipsicóticos) leva a uma depleção de serotonina, assim como de dopamina e noradrenalina. Além de possuírem ação antagonista sobre os receptores dopaminérgicos, muitos antipsicóticos também são antagonistas dos receptores 5-HT.

As interações entre os sistemas serotoninérgicos e dopaminérgicos ocorrem em várias regiões anatômicas e por diferentes subtipos de receptores. Observa-se, de uma forma geral, que o sistema serotoninérgico opõe-se ao dopaminérgico, ou seja, a inibição da atividade serotoninérgica está associada ao aumento da atividade dopaminérgica, principalmente nas regiões da via mesolímbica do córtex. Alguns antipsicóticos atípicos, como a Clozapina, Olanzapina e a Risperidona, têm uma relação antagonista dos receptores 5-HT/D₂ bem mais favorável aos receptores 5-HT₂. Essa interação promoveria, ao mesmo tempo, um bloqueio D₂ pós-sináptico e um aumento da

atividade dopaminérgica sináptica, o que preveniria o bloqueio dopaminérgico excessivo responsável pelos efeitos extrapiramidais. Simultaneamente, provocaria um estado hipodopaminérgico no córtex frontal, por ativação de receptores D₁. Há evidências similares para o controle estriatal da função dopaminérgica límbica e cortical (Ashby et al., 1990; Hamon et al., 1990), porém, é preciso considerar possíveis interações da serotonina com influências diretas nos sistemas colinérgicos e GABAérgicos. Assim, alguns efeitos da serotonina sobre o sistema dopaminérgica podem ser mediados, indiretamente, através de sua modulação por estes outros sistemas (Kapur e Remington, 1996).

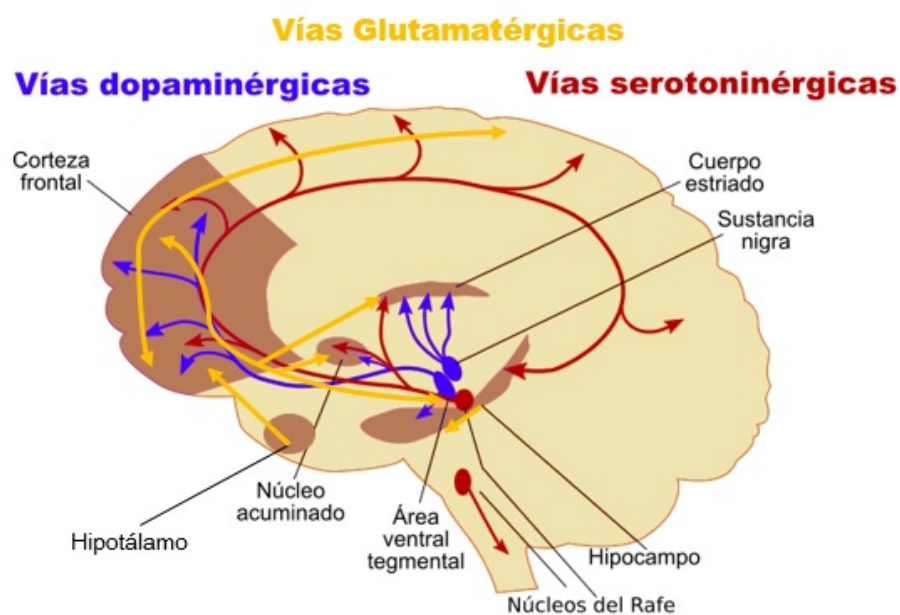


Figura 4: Interação downregulation da transmissão dopaminérgica, serotoninérgica e glutamatérgica no córtex pré-frontal. Fonte: Ashby et al., 1990

2. Estresse oxidativo e os transtornos psiquiátricos

Diversos relatos científicos demonstraram que danos tissulares podem ser causados por espécies ativas como resultado de um acúmulo delas (Massuda et al, 2013; Meng et al, 2015; Lenaz, B, 2001, Araujo et al, 2011). O estresse oxidativo desempenha um importante papel em várias condições clínicas, como o câncer, diabetes, aterosclerose, lesões por Parkinson, de Alzheimer e esclerose lateral amiotrófica. A presença dos radicais livres em materiais biológicos foi descoberta há menos de 50 anos e logo associada à indução de danos celulares, mutagênicos e carcinogênese. Nas últimas décadas têm surgido também, evidências de correlações entre as espécies ativas de oxigênio/nitrogênio e alguns transtornos neuropsiquiátricos, como a esquizofrenia e a mania.

Os radicais livres são espécies altamente reativas que possuem um ou mais elétrons desemparelhados no seu orbital mais externo. São exemplos de radicais livres o superóxido (O_2^-); a hidroxila (OH^-); o peróxido (RO_2^-), o alcoxil (RO^-) e o óxido nítrico (NO^-).

No organismo humano são produzidos radicais livres de carbono, enxofre, nitrogênio e oxigênio, entretanto os que ganham mais destaque, devido à reatividade e aos danos que podem causar, são os radicais derivados do oxigênio. O termo espécies ativas ou reativas de oxigênio (ROS) inclui não somente radicais livres, mas também espécies não radicais derivados do oxigênio, como, por exemplo, o peróxido de hidrogênio.

A ciência dos radicais livres ganhou maior repercussão, quando os cientistas McCord e Fridovich (1969), descobriram a importância das enzimas superóxido dismutase (Sod), glutatona, peroxidase (GPx), catalase (Cat) e glutatona-S-transferase (GST) na participação do processo de defesa antioxidantes das membranas celulares.

Na célula, as ROS são produzidas como consequência do metabolismo normal. As principais fontes endógenas são a cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, a degradação de ácidos graxos nos peroxissomos, os mecanismos de detoxificação mediados complexo enzimático citocromo P450, o processo fagocitose e a oxidação de pequenas moléculas como hidroquinonas, ferredoxinas reduzidas e catecolaminas, entre outras.

No transporte de elétrons ao longo da cadeia respiratória, as ROS podem ser geradas durante episódios de erros no processo de redução univalente do oxigênio. Cerca de 96% do oxigênio consumido pelas células é reduzido por quatro elétrons para formar água. No entanto, em torno de 4% das vezes o oxigênio pode receber apenas um, dois ou três elétrons, gerando radicais superóxidos (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH^\cdot), respectivamente, tornando o meio tóxico.

Em condições normais, as ROS produzidas em uma célula reagem com as defesas enzimáticas e/ou não enzimáticas, produzindo redução das espécies reativas. Entretanto, quando ocorre um desequilíbrio entre os compostos oxidantes e antioxidantes do organismo, estabelece-se uma condição denominada **estresse oxidativo**, em que os radicais livres em excesso começam a produzir danos na estrutura lipídica das membranas celulares, proteínas, DNA e carboidratos. O dano causado pelas ROS aos lipídeos é o mais estudado e é chamado de peroxidação lipídica. Na presença de ROS, os lipídeos reagem com o oxigênio para produzir radicais alquila e peroxila, que se

propagam por uma cadeia de radicais livres e formam hidroperóxidos e produtos primários. A peroxidação lipídica resulta em uma mistura complexa de hidroperóxidos e produtos secundários de oxidação, incluindo peróxidos cíclicos com o malondialdeído (MDA) e o 4-hidroxi-2-trans-nonenal (HNE). Os produtos de reação com o ácido tiobarbitúrico (TBARS), que incluem o MDA, têm sido um marcador de estresse oxidativo amplamente utilizado.

Um dos efeitos primários da peroxidação lipídica é a modificação da estrutura e a diminuição da fluidez da membrana celular, resultando na alteração das suas propriedades fisiológicas. A destruição da membrana celular causa a perda da função das organelas, podendo levar à morte celular.

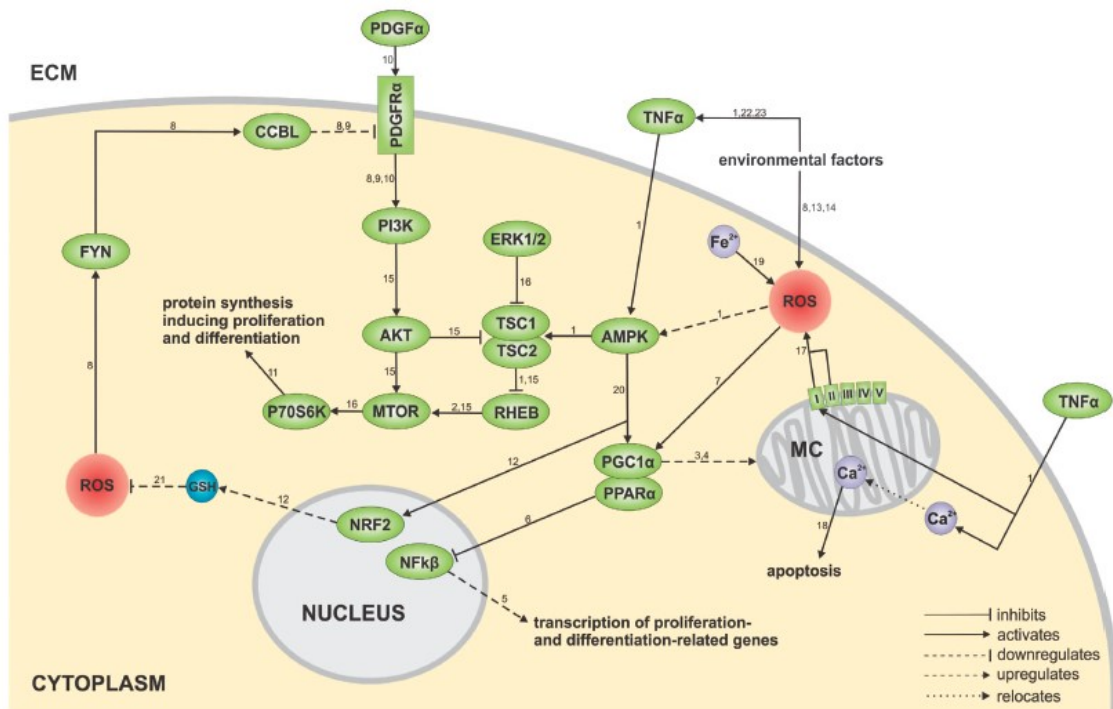


Figura 5: Danos metabólicos relacionados a instabilidade das espécies reativas de oxigênio (ROS) em diferentes estruturas celulares. Fonte Maas et al., 2017

O cérebro, que consome grande quantidade de oxigênio, é particularmente suscetível ao estresse oxidativo. O metabolismo de alguns dos principais

neurotransmissores, como a dopamina, envolvida na neuroquímica dos sintomas da esquizofrenia, gera ROS capazes de consumir as defesas antioxidantes, que são baixas em muitas regiões do cérebro.

Mudanças nas concentrações de enzimas antioxidantes (Sod, GPx, Cat e GST) e metabólitos marcadores do estresse oxidativo (TBARS) foram comprovadas em diversas pesquisas. Um estudo realizado por Gama et al (2006), que quando comparados a controles, pacientes com diagnósticos de esquizofrenia apresentam maiores níveis séricos de TBARS. Esses danos eram maiores nos pacientes que faziam uso de clozapina, quando comparados aos pacientes com uso de haloperidol. Entretanto, os níveis das enzimas de defesa dos ao estresse oxidativo, Sod, não apresentaram diferenças entre os pacientes e controles. Esse achado ratificou os níveis de TBARS, como um importante marcador de estresse oxidativo. Uma meta-análise publicada por Zhang et al (2010) incluiu 16 que mediram TBARS e confirmando os resultados em pacientes com esquizofrenia. Uma maior peroxidação lipídica também foi observada em pacientes post-mortem. Wang et al, 2006, realizaram um estudo que encontrou aumento dos produtos da peroxidação lipídica em pacientes com esquizofrenia e transtorno do humor bipolar. (Selek et al, 2008)

Para evitar a produção em excesso, bem como a neutralização dos radicais livres, o organismo lança mão dos antioxidantes que são definidos, como qualquer substância que, quando presente em baixa concentração, em comparação com as de um substrato oxidável, atrasa, evita danos oxidativo ou remove a molécula em questão. O termo “substrato oxidável” inclui todas as moléculas encontradas in vivo (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Os antioxidantes contemplam as defesas enzimáticas e não-enzimáticas; no campo destas últimas podemos considerar as vitaminas A, C e E; glutathione (GSH); ácido α -lipóico; carotenoides; elementos traços como cobre, zinco e selênio; coenzima Q₁₀ (CoQ₁₀); cofatores como ácido fólico, ácido úrico, albumina e vitaminas B₁, B₂, B₆ e B₁₂ (Veja-Lopez et al, 2004).

2.1. Ácido fólico

O folato, também conhecido como vitamina B₉, é uma vitamina hidrossolúvel encontrada naturalmente em vegetais de folhas verdes, legumes, frutas cítricas, fígado e outras carnes (Kim, 2007). O termo folato é usado para designar compostos com estrutura química semelhante ao ácido fólico, porém na forma de poliglutamato (com 2 a 8 resíduos de ácido glutâmico) que estão presentes naturalmente nos alimentos (Taulaulikar e Arulkumar, 2011).

O ácido fólico (F) (forma monoglutamato) é a forma sintética, mais oxidada e que possui maior estabilidade, usada em suplementos vitamínicos, na terapêutica e na fortificação de alimentos (Eichholzer, Tonz e Zimmermann, 2006; Taulaulikar e Arulkumar, 2011). Quimicamente, consiste de um anel de pteridina, uma molécula de ácido p-aminobenzóico e uma molécula de ácido glutâmico (também chamado de ácido pteroilglutâmico) (Kim, 2001; Green, 2010).

O folato de ocorrência natural é bastante instável, sofrendo rápida oxidação em baixo PH e altas temperaturas e parte importante pode ser perdida durante a cocção, estocagem, processamentos e preparação dos alimentos. Já a maior estabilidade do ácido fólico (AF) permite uma maior resistência durante o processamento e cozimento e maior facilidade de estocagem sendo estável por meses ou mesmo anos.

Tanto o folato quanto o ácido fólico são absorvidos nos enterócitos, nas suas formas reduzidas (poliglutamato) e retidos nas células pelo processo de remetilação da homocisteína, gerando metionina e tetraidrofolato numa reação dependente de vitamina B₁₂ (coenzima), vitamina B₂ e da enzima metionina adenosil transferase, a S-adenosilmetionina (SAM) (Green, 2010), um doador universal de grupamentos metil, envolvida na metilação de DNA, RNA e proteínas, incluindo metilação de histonas. (Selhub, 2002; Kim, 2005).

É importante destacar a dependência da vitamina B₁₂, vitamina B₂ e metionina sintase no processo de remetilação da homocisteína a metionina. Desse modo, a deficiência de B₁₂ impede a conversão do folato na sua forma reduzida impedindo o aproveitamento desta vitamina.

O aumento dos níveis de homocisteína no tecido endotelial está associada a ativação de respostas pró-inflamatórias, peroxidação lipídica e danos a expressão de RNA e DNA de diferentes tecidos.

2.2. Glutathiona (GSH)

A glutathiona (GSH, L- γ -glutamyl-L-cistenylicina) é um tripeptídeo, contendo cisteína, existe no organismo em suas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG), e são o tiol não protéico mais abundante nas células dos mamíferos. Possuem atuação diretamente ou indiretamente em muitos processos biológicos importantes, incluindo a síntese de proteínas, metabolismo e proteção celular. Déficits no metabolismo e síntese da glutathiona estão associados a algumas doenças, como certos tipos de câncer, bem como outras doenças relacionadas ao estresse oxidativo (Fendi et al., 2016)

Mudanças na concentração deste tripeptídeo podem ser um indicador útil em certas desordens fisiológicas como anemias, causadas por infecções ou seguidas pela administração de algumas drogas oxidantes, no monitoramento da eficácia de alguns tratamentos usando N-acetil-L-cisteína (NAC) durante o metabolismo do paracetamol, no tratamento com artrite reumatoide e na investigação do estresse oxidativo do miocárdio. Além disso, foi reportado o abaixamento dos níveis de GSH em hemácias e plasma de pessoas infectadas como o vírus da imunodeficiência (HIV-1) associado à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). Os pesquisadores sugerem que a diminuição observada nos níveis de GSH correlacionava com a progressão da AIDS devido ao tratamento com drogas oxidantes como o NAC, inibindo a replicação do vírus (DO et al., 2009)

Trata-se também de um importante sistema de defesa enzimático contra o aumento de radicais livres, envolve a enzima glutathiona peroxidase (GSH-Px), encontrada em muitos tecidos de origem animal. Essa enzima, descrita inicialmente por Mills em 1957, é um dos meios de controle do organismo dos níveis de peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos, oriundos do ataque de espécies radicalares. A enzima GSH-Px possui uma característica importante, apresentando um resíduo de cisteína contendo selênio covalentemente ligado ao restante da enzima. O selênio foi caracterizado como um componente essencial da enzima em 1973 e a forma do selênio na enzima, presente em fígado de rato, foi identificada em 1978 como uma selenocisteína. A deficiência de selênio no organismo apresenta uma diminuição na atividade da GSH-Px em sua forma reduzida, e tem sido associada com alterações no metabolismo celular. Neste sentido, um controle dos níveis de glutathiona (GSH) torna-

se importante, já que níveis normais de GSH em células de mamíferos estão na faixa de 0,5 a 10 mmol/L.

Outra enzima que age conjuntamente com a glutathiona peroxidase é a enzima glutathiona redutase (GR). Esta enzima não age diretamente na remoção de espécies radicalares, porém é responsável pela regeneração da glutathiona à sua forma reduzida (GSH) na presença de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH), tendo como objetivo impedir a paralisação do ciclo metabólico da glutathiona. Assim, alguns trabalhos têm sido desenvolvidos para determinação destas enzimas tanto em tecidos como no plasma sanguíneo (Leonard, Reddy., 2004)

No nosso estudo os níveis de GSH foram de fundamental importância, como marcadores da ação antioxidante do ALA nos pacientes com esquizofrenia, e no controle da cascata neuroinflamatória, proveniente da peroxidação lipídica.

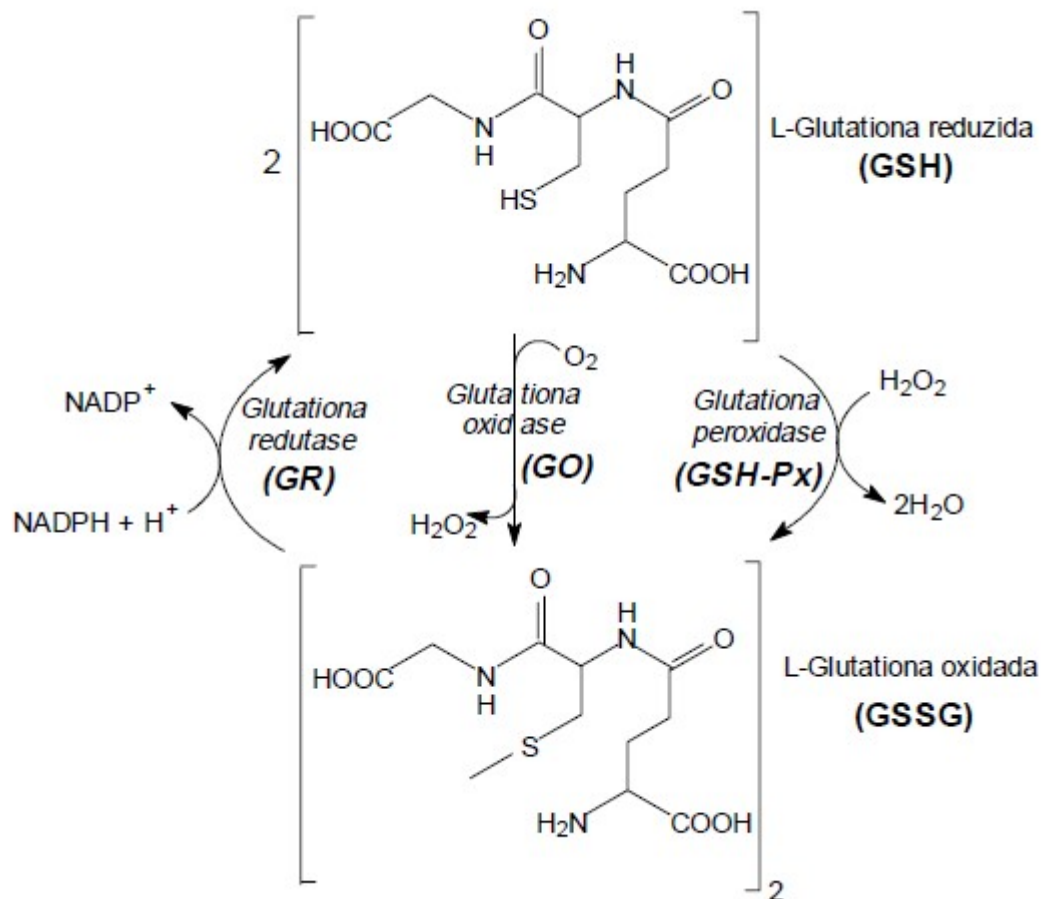


Figura 6: Metabolismo da Glutaciona. Interconversão de glutaciona nas suas formas reduzidas (GSH) e oxidada (GSSG) pela ação das enzimas glutaciona peroxidase (GSH-Px), glutaciona oxidase (GO) e glutaciona reductase (GR). Fonte:

2.3. Nitrito e Nitratos

Nitritos e Nitratos são compostos iônicos que se encontram na natureza fazendo parte do ciclo do nitrogênio. O nitrato (NO_3^-) é a forma estável das estruturas oxidadas do nitrogênio, e apesar de sua baixa reatividade química pode ser reduzido por ação microbiológica. O nitrito (NO_2^-), é o oxidado com facilidade por processos químicos ou biológicos a nitrato, ou reduzido originando diversos compostos (Khatounian, 2001).

O nitrito é empregado como aditivo alimentar (nitrito de potássio ou nitrito de sódio), especialmente em carnes curadas. O nitrato e nitrito são empregados principalmente na indústria de fertilizantes e de alimentos atuando como agentes conservantes. Nesse caso, o nitrato atua como reserva para o nitrito, transformando-se lentamente em nitrito pela ação de bactérias nitrato-redutoras (Farias et al., 2001).

O nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) são espécies reativas de nitrogênios, e a reação com os ácidos gástricos pode produzir ácido nitroso (HNO_2). Esse ácido pode gerar danos ao DNA promovendo a desaminação de bases nitrogenadas com o grupo $-\text{NH}_2$ livres, como a citosina, adenina e guanina, formando uracila, hipoxantina e xantina, respectivamente (Halliwell et al., 1999)

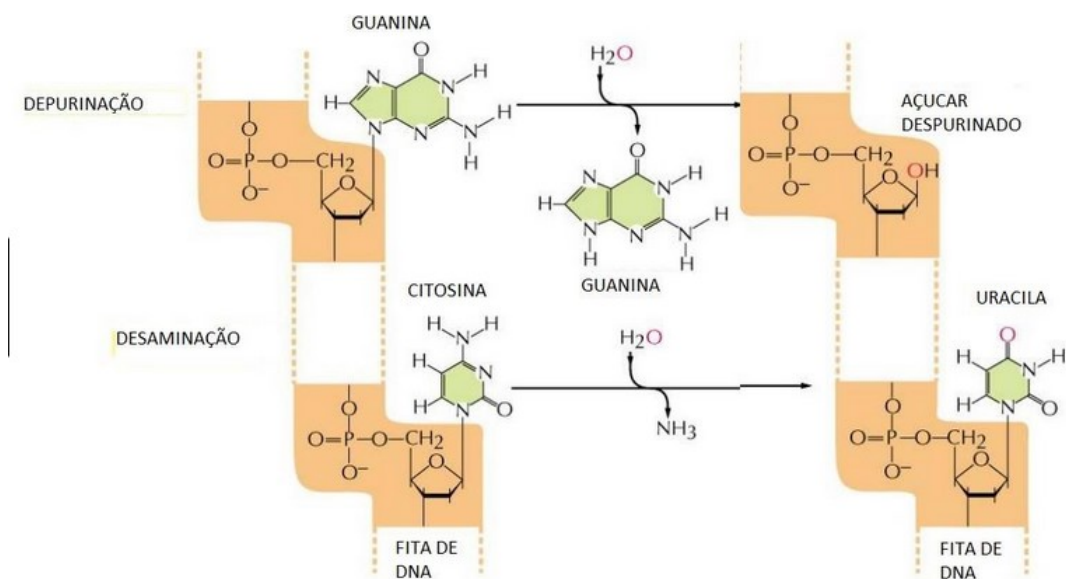


Figura 8. Reações de desaminação, pela ação (NO_2^-) e (NO_3^-) na molécula de DNA. Fonte: (Goutefongea, 1991).

2.4. TBARS: Ácido tiobarbitúrico / MDA

Os compostos produzidos pela peroxidação lipídica atuam como biomarcadores e métodos de quantificação do processo de estresse oxidativo. Existem dois métodos básicos para a avaliação de peroxidação lipídica: através da avaliação de hidroperóxidos (produtos primários da reação) e avaliação de produtos de degradação secundários como o malondialdeído (MDA), produtos oxidativo do ácido Tiobarbitúrico (TBARS) (Halliwell e Chirico, 1993).

Além de outros compostos de várias naturezas, a peroxidação lipídica dá origem a aldeídos insaturados que podem sofrer clivagem gerando cadeias menores de aldeídos, algumas vezes associados a outros grupamentos químicos. Alguns destes aldeídos voláteis são encontrados comumente em óleos já utilizados para frituras e em alimentos fritos, assim como são responsáveis pelo odor dos locais onde se realizam frituras.

Dentre estes aldeídos originários da peroxidação lipídica encontra-se o malondialdeído (MDA) que tem sido objeto de grande interesse apesar de sua origem

complexa e ainda não totalmente esclarecida. O MDA tem sido amplamente utilizado como marcador para estresse oxidativo (Draper e Hadley, 1990), inclusive em afecções cardíacas relacionadas ao tabagismo (Tangiverdi et al., 2006).

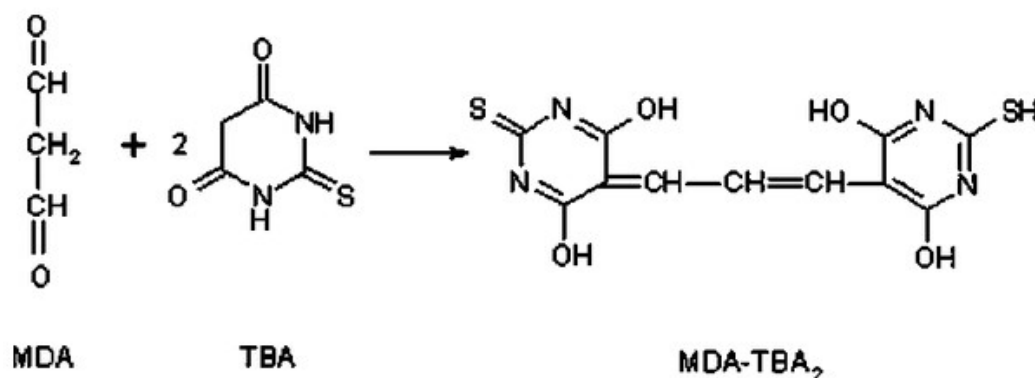


Figura 9. Reação de metabolização do TBARS final. Aumento dos níveis séricos de MDA é indicativo de processo de estresse oxidativo, com peroxidação lipídica. Fonte: Ligor et al., 2012

2.5 Estresse oxidativo e vias imuno-inflamatórias na esquizofrenia

As primeiras observações do envolvimento do sistema imunológico na esquizofrenia incluíam relatos de associação entre infecções e quadro de psicose, apontando um aumento do risco de desenvolvimento de psicose após internações hospitalares para tratamento de graves quadros infecciosos, ocorridos em pacientes com o vírus da imunodeficiência adquirida – HIV. (Yolken; Torrey, 2008). Adicionalmente, diversas doenças autoimunes cursam com maior incidência de quadros psicóticos, incluindo lúpus eritematoso sistêmico, esclerose múltipla e síndrome de Guillain-Barré. Em 2011, Benros e colaboradores mostraram uma significativa relação dose-resposta entre doença autoimune, números de infecções graves e risco de esquizofrenia. Esse estudo indicou um efeito sinérgico entre doenças autoimunes e infecções graves, apontando maior risco de desenvolvimento de surtos psicóticos quando a infecção ocorria temporalmente mais próximos ao início da esquizofrenia.

Foram observados também que infecções no período pré-natal estão associadas a maior risco relativo de sintomas de esquizofrenia posteriormente, incluindo estudos coortes prospectivos desde o nascimento (Brown; Derlits, 2010; Brown, 2012). Essa associação foi encontrada com diferentes agentes infecciosos, entre eles, os vírus influenza, *Toxoplasma gondii* e *Herpes simplex* tipo 2 (Buka et al., 2001; Babulas et al., 2006; Brown, 2006; Amminger et al., 2007; Mortensen et al., 2007; Pedersen et al., 2011). A explicação para esses achados veio através do modelo de ativação das micróglia e liberação de citocinas pró-inflamatórias (Kirkpatrick; Miller, 2013; Mondelli; Howes, 2014), mediadores de respostas imunes, neurodesenvolvimento e funcionamento sináptico.

Diversas evidências sugerem que há também um desequilíbrio no sistema imunológico no processo fisiopatogênese da esquizofrenia (Muller, J. Schwarz, 2010). O sistema imunológico tem a função de defender o organismo humano contra microrganismos, estando estruturada por linhas de defesa compostas por componentes celulares e humorais (Aguilar et al, 2010; Strous; Shoenfeld, 2006). Neste contexto, monócitos/macrófagos, granulócitos, células natural killer (NK) integram o componente celular da primeira linha de defesa celular, ou imunidade inata, enquanto que proteínas de fase aguda e sistemas complementares representam o componente humoral. O componente celular formado pelos linfócitos T e B representariam uma segunda linha de defesa do sistema imunológico dotada de uma resposta mais adaptativa e uma memória imune extremamente seletiva. As células T possuem funções de citotoxicidade, regulação e memória antigênica, enquanto que as células B têm por função produzir anticorpos altamente (Arolt; Bayer; Rothermundt, 2001; Strous; Shoenfeld, 2006). O sistema imune adaptativo também possui células T auxiliares Th1 e Th2, relacionadas

com a produção de interleucinas (IL-2, IL-4, IL-6 e IL-10), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interferon- γ (IFN- γ) (Aguiar et al, 2010).

As citocinas regulam todos os componentes celulares do sistema imune inato e adaptativo. Assim, dependendo da sua atividade biológica, as citocinas podem ser classificadas como pró-inflamatórias quando relacionadas a um perfil de respostas imune Th1 (IL-2, IFN- γ) ou anti-inflamatórias se estiver relacionadas a um perfil de resposta imune Th2 (IL-4, IL-10). (Muller et al, 2013).

As micróglias, células de origem monocíticas, é o macrófago do SNC relacionada ao sistema imune. Estas células quando são ativadas, em resposta a estímulos inflamatórios, secretam citocinas e prostaglandinas (Khandaker et al, 2015).

Há evidências de que um desequilíbrio nos sistemas Th1 e Th2 da resposta imune, bem como um aumento nos níveis de citocinas parecem desempenhar um papel importante na esquizofrenia (Aguiar et al, 2010). De fato, indivíduos com doenças autoimunes e infecções graves têm níveis persistentes ou agudamente elevados de biomarcadores inflamatórios em seu plasma, e em tais indivíduos foi encontrado um risco aumentado de esquizofrenia em estudos prospectivo com 3,6 milhões de indivíduos (Maes, 2013).

Diversos estudos realizados no soro e no plasma de pacientes esquizofrênicos descrevem níveis aumentados de IL-1 β , IL-6, IL-9 e TNF- α , sendo estes portanto, importantes marcadores imunológicos de atividade pró-inflamatória (Meyer; Schwarz, Muller, 2011). Também foram encontrados níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1 β , IL-6 e IL-2, no fluido cerebral-espinhal de pacientes com esquizofrenia (Kunz et al, 2011; Maes et al, 2002; Yang et al, 2002). Outras

pesquisas analisaram o papel de marcadores anti-inflamatórios e imunossupressores na esquizofrenia e encontraram níveis reduzidos de IL-4 durante episódios agudos da doença (Kim et al., 2004; O'Brien; Scully; Dinan, 2008). Foram encontrados também níveis aumentados de citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-8, IL-10) no soro de pacientes esquizofrênicos (Graver; Tamas; Holcomb, 2003).

O excesso de uma ativação anti-inflamatório nos indivíduos portadores de esquizofrenia, apesar de limitar a hiperatividade de marcadores pró-inflamatórios, também pode estar relacionado com os sintomas negativos e os déficits cognitivos desse transtorno (Meyer; Schwarz; Muller, 2011).

A ativação da micróglia também pode ser visualizada in vivo através de exames de PET (Tomografia por Emissão de Pósitrons) com o radioisótopo PK 1195. Dois estudos, recentemente, encontraram maior ligação desse ligante nos cérebros de pacientes com esquizofrenia nos primeiros surtos, sugerindo que as células da micróglia também estão mais ativadas nesses pacientes (Van Berckel et al., 2008; Doorduyn et al., 2009).

3. Ácido alfa-lipóico

O ácido α -lipóico ou ácido lipóico (ALA) de fórmula molecular $C_8H_{14}O_2S$ é um composto dissulfídico sintetizado no fígado. Participa de vários complexos enzimáticos fundamentais para o metabolismo dos carboidratos, sendo um co-fator essencial nos complexos desidrogenase envolvidos na regulação do metabolismo deste nutriente, especialmente o da piruvato desidrogenase e α -cetoglutanato desidrogenase.

Existe naturalmente, uma forma de isômero (R) biologicamente ativo, e o (S), o qual é encontrado em quantidade mínima nos tecidos. O ALA é naturalmente

sintetizado por humanos e outros animais. Para exercer sua ação antioxidante, eliminação dos radicais livres, é necessário que assuma a sua forma reduzida (ácido dihidrolipóico) reação catalisada pela dihidropolina dehidrogenase (Figura 10).

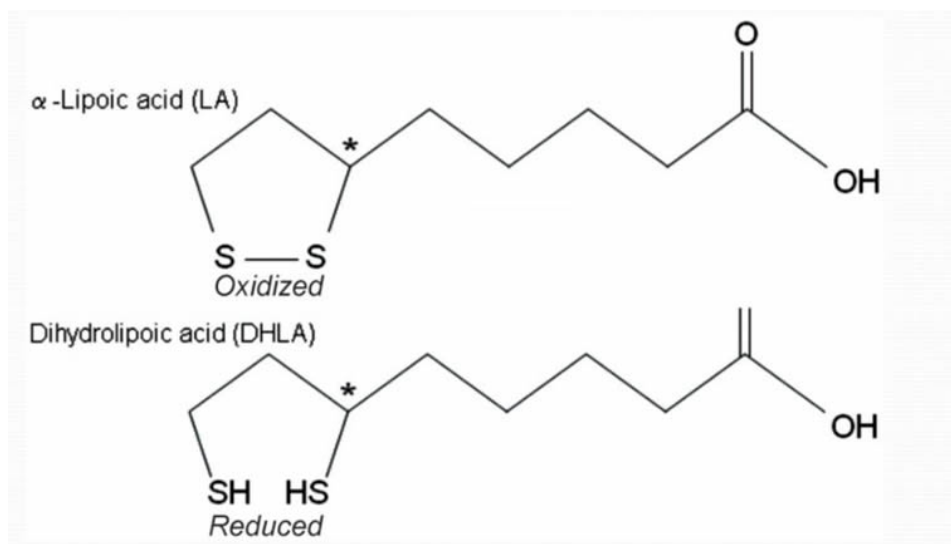


Figura 10: Estruturas Moleculares: Ácido α -Lipoico e Ácido Dihidrolipóico

Fonte: Barrington et al, 2011

O ALA é solúvel em lipídeos e em água e esta característica o torna altamente efetivo na redução dos radicais livres, tanto os peróxidos nas membranas, quanto aqueles dispersos no citoplasma celular (EVANS & GOLDFINE, 2000). Há evidências que tanto o ALA, como a sua forma reduzida (ácido dihidrolipóico) são antioxidantes ideais, devido às suas características de exterminarem os radicais livres, interagindo com outros antioxidantes, como as vitaminas C, E e Glutathiona (GSH), aumentando a capacidade seguramente de regeneração metabólica com boa disponibilidade (Packer et al, 2001).

Estudos sugerem que o ALA produz seus efeitos através da remoção de radicais hidroxilas e da inibição da oxidação de lipídios e proteínas (Bist; Bhatt, 2009). Além

disso, funciona como um quelante de metais contribuindo para a redução dos níveis de estresse oxidativo. (Ferreira; Militão; Freitas, 2009).

Análises complementares do ALA também mostraram uma atividade anti-inflamatória dessa substância, associada a capacidade de evitar os danos ocasionados pelas espécies reativas oxigênio, produzidas durante as doenças neurodegenerativas (Maczurek et al, 2008; Araújo et al., 2010; Silva, 2013). A inibição da migração das células T na cascata inflamatória, é o principal mecanismo dessa intervenção. A hipótese mais sólida desse mecanismo está relacionada ao aumento da concentração da molécula de AMPc pelo ALA, e conseguinte inibição da resposta imune (ativação dos linfócitos T e migração celular). Isso acontece pela inibição de NF- κ B, um fator de transcrição sensível a alterações de reações oxi-redução, e que regula a expressão de citocinas, TNF- α , além de interferir na adesão vascular 1 (VCAM1) e adesão endotelial de monócitos, promovendo uma redução da resposta inflamatória (Schillace *et al*, 2007; Kunt *et al*, 1999).

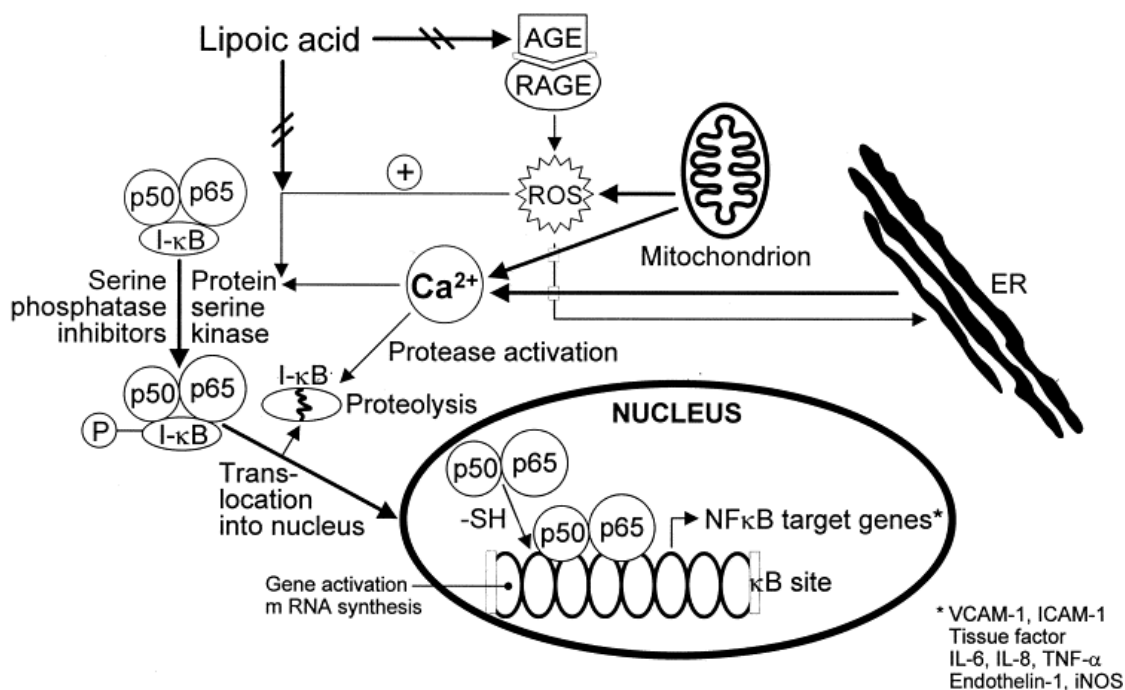


Figura 11: Ação do ácido lipóico sobre a peroxidação lipídica. Fonte: Packer et al, 2001

Recentemente, tem despertado atenção da comunidade científica, a sua ação terapêutica em doenças do sistema nervoso central (SNC). Nos últimos anos, observou-se a publicação de inúmeros relatos de pesquisa, utilizando o ALA como agente terapêutico, em transtornos neuropsiquiátricos, como: demências de Alzheimer (Benčekroun et al, 2016; Marinelli et al, 2017) e Parkinson (Zhang et al, 2014; Zhao et al, 2017); esclerose múltipla (Khilili et al, 2017; Sanadgol, 2017) Acidente Vascular Cerebral (AVC) (Manolescu et al, 2014) e Depressão (Oliveira et al, 2017).

O estresse oxidativo tem sido relacionado com diversos transtornos psiquiátricos, entre eles, a esquizofrenia, o transtorno do humor bipolar e a depressão, tendo um papel fundamental na fisiopatologia desses transtornos.

Há cada vez mais evidências de que o estresse oxidativo desempenha um papel importante na injúria neuronal, e na fisiopatologia da esquizofrenia (Bitanibirwe, Woo,

2011; Boskovic et al, 2011; Ciobica et al, 2011; O'Donnell et al, 2012; Wu, Zhang, 2012, Keschavan, 2011).

4. Neuropsicologia na esquizofrenia

O prejuízo das funções cognitivas é uma característica da esquizofrenia, já descrita por Kraepelin e Bleuler nas primeiras concepções da doença (Bozikas, et al, 2006) Esses prejuízos podem ser encontrados de formas leves até graves e variam significativamente entre os pacientes (Reicheberg et al, 2009). Diversas funções se encontram prejudicadas em pacientes com esquizofrenia, dentre elas, podemos citar: as chamadas funções executivas que incluem a memória de trabalho, atenção seletiva e a tomada de decisão, além da velocidade de processamento e a memória de aprendizagem verbal (Ekerholm et al, 2012).

De uma maneira geral e sucinta podemos citar e definir as principais funções cognitivas afetadas nos sintomas da esquizofrenia, sendo elas:

Memória de trabalho: capacidade de guardar e manipular temporariamente informações necessárias para tarefas cognitivas complexas como compreensão da linguagem, aprendizagem e raciocínio. Habilidade relacionada ao processamento pelo córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo (estímulos verbais), direito (estímulos visuo-espaciais).

Funções executivas: habilidade de resolver problemas, utilizar conceitos abstratos e gerenciar habilidades cognitivas, como a capacidade de alternar entre demandas concorrentes. Habilidades de maior integração e associação de estímulos, relacionadas ao córtex pré-frontal.

Velocidade psicomotora: quantidade de tempo que um indivíduo leva para processar um sinal, preparar uma resposta e executar essa resposta. Habilidade funcional das estruturas do tronco-encefálico e colículos superiores e inferiores.

Pacientes esquizofrênicos, como um grupo, têm desempenho insatisfatório na maioria dos testes neuropsicológicos, em comparação a indivíduos saudáveis. Esse mau desempenho é provavelmente devido, em parte, aos diferentes grupos de sintomas da psicose, levando à baixa motivação, distração decorrente da dificuldade de integrações de estímulos e tomadas de decisão, mas não de forma homogênea. Uma abordagem para identificar os prejuízos cognitivos específicos associados à esquizofrenia é examinar os diferentes déficits associados à doença (Fuente et al., 2014)

As funções executivas correspondem a um conjunto de habilidades que, de forma integrada permite ao indivíduo direcionar comportamentos e metas, avaliar a eficiência e a adequação desses comportamentos, abandonar estratégias ineficazes em prol de outras mais eficientes e, desse modo, resolver problemas imediatos, de médio e de longo prazo. Essas funções são requisitadas sempre que se formulam planos de ação e que uma sequência apropriada de respostas deve ser selecionada e esquematizada (Robbins, 1996).

Barkley (2001) prioriza as funções executivas nos processos de controle inibitório, os quais poderiam ocorrer em três níveis distintos: inibição de respostas prepotentes, interrupção de respostas em curso e/ou controle de inferência de distratores. Os processos inibitórios contribuem para a atuação eficaz de outras funções executivas: memória de trabalho; fala internalizada; autorregulação; reconstituição.

O desempenho das funções executivas depende da integração de diferentes circuitos subcorticais do córtex pré-frontal, associado a diferentes análises cognitivas complexas. Alterações hipofuncionais nesses circuitos estão associados à prejuízos na esquizofrenia; circuitos:

Circuito dorsolateral: origina-se no córtex pré-frontal dorsolateral projeta-se para a o núcleo caudado, que recebe sinais do córtex parietal e da área pré-motora e tem conexões com as porções dorsolaterais do globo pálido e substancia negra reticulada rostral. O circuito continua para a região parvocelular dos núcleos talâmico dorsolateral e ventral anterior. Do tálamo, por sua vez, são emitidas projeções de volta para o córtex pré-frontal dorsolateral. A região pré-frontal dorsolateral é uma área de convergência multimodal, estando interconectada com outras áreas de associação cortical e relacionada a processos cognitivos de esclarecimento de metas, planejamento, solução de problemas, fluência verbal, categorização, memória operacional, monitorização da aprendizagem e da atenção, flexibilidade cognitiva, capacidade de abstração, autorregulação, julgamento, tomada de decisão, foco e sustentação da atenção (Fuente et al., 2014).

Circuito orbitofrontal: origina-se no córtex pré-frontal lateral inferior e ventral anterior. Projeta-se para o núcleo caudado ventromedial, o qual também recebe sinais de outras áreas de associações corticais—incluindo giro temporal superior (auditivo) e o giro temporal inferior (visual) – e de regiões do tronco encefálico (formação reticular). O circuito continua para o globo pálido dorsomedial e para a porção rostromedial da substancia negra reticulada. Projeta-se para a região magnocelular dos núcleos ventral anterior e dorsomedial do tálamo e, então, retorna para o córtex orbitofrontal. O córtex orbitofrontal é fortemente interconectado com áreas de processamento cognitivo e

emocional. Sua parte mais posterior e medial é considerada uma das regiões corticais para mediação autonômica, de processos mais primitivos formando uma rede com outras estruturas subcorticais mais antigas, como as áreas córtex límbico: ínsula, amígdala e hipotálamo. Esse circuito tem sido associado a aspectos do comportamento social, como empatia, cumprimento de regras sociais, controle inibitório e automonitoração. Seu comprometimento está geralmente associado a comportamentos de risco e alterações da personalidade caracterizadas por redução da sensibilidade às normas sociais, infantilização e baixa tolerância à frustração (Fuente et al., 2014).

Circuito do cíngulo anterior (ventrolateral): origina-se no cíngulo anterior e se projeta para o estriado ventral (nucleus accumbens e tubérculo olfatório), o qual recebe sinais adicionais do córtex de associação paralímbico, incluindo o polo temporal anterior, a amígdala, o hipocampo inferior e a córtex entorrinal. O circuito continua para o pálido ventral e para a substância negra rostradorsal, e daí para núcleo talâmico dorsomedial, de onde retorna ao cíngulo anterior. Esse circuito é importante para a motivação, a monitoração de comportamentos, o controle executivo da atenção, a seleção e controle de respostas. Comprometimento nesse circuito pode levar a dificuldades na realização de atividades que requerem manutenção de respostas e controle da atenção, como apatia, dificuldade de controlar a atenção e desinibição de respostas instintivas (Fuente et al., 2014).

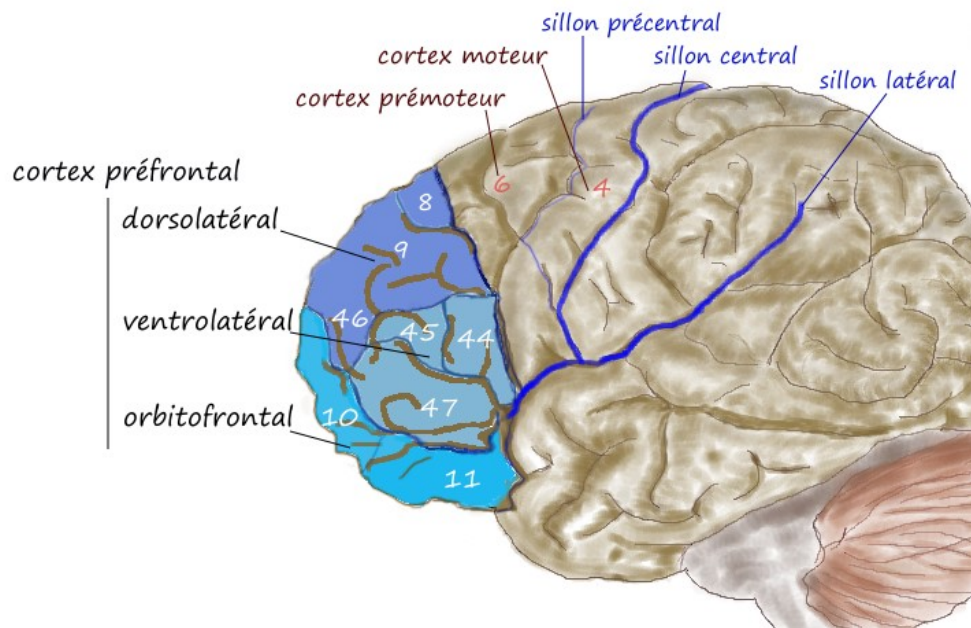


Figura 12: Áreas do córtex pré-frontal. Apresentando atividades hipofuncionais, nos indivíduos com esquizofrenia. Fonte (Pancrat, 2012)

O estudo das funções cognitivas e as relações com as suas respectivas áreas cerebrais é um campo de atuação da neuropsicologia. As complexas funções do cérebro podem ser divididas em processos simples e mais gerais, para serem estudadas mais isoladamente. Atualmente, diferentes instrumentos de quantificação psicométrica são utilizados em processos de avaliação dessas funções neurocognitiva. O exame neuropsicológico consiste na aplicação de testes objetivos para diversas funções cognitivas, de modo a permitir uma análise quantitativa (comparando o desempenho com o grupo normativo) e qualitativo (avaliando o modo pelo qual a resposta do examinando foi fornecida, seja ela verbal ou graficamente).

O estudo de Barret (2009) identificou prejuízos cognitivos na memória verbal, nas funções executivas e na linguagem presentes já no primeiro episódio psicótico (Barret et al, 2009) esses achados foram confirmados em outros estudos. (Hutton et al, 1998; Zhou et al, 2012). Durante o curso da doença, esses prejuízos parecem estáveis, e

algumas pesquisas clínicas com medicação antipsicóticas não foram capazes de melhorar significativamente a performance cognitiva dos pacientes.

Há evidências, de que pessoas com esquizofrenia têm desempenho consistentemente pobre em tarefas que requerem atenção constante ou vigilância (Nuechterlein et al, 1992). Outros estudos documentam déficits na memória, incluindo memória explícita e verbal (Gold et al, 1994; Saykin et al., 1991). A memória de trabalho, a qual permite que informações relevantes à tarefa seja mantida ativa por breves períodos, tem recebido muita atenção. Indivíduos com esquizofrenia têm dificuldade para manter a memória de trabalho (Goldman-Rakic, 1994; Park e Holzman, 1992). Déficits nesse âmbito podem explicar a desorganização e deterioração funcional observada no espectro de esquizofrenia. Essa habilidade estaria associada a capacidade de reter informações *online*, de fundamental importância para a organização do pensamento em ações futuras.

Indivíduos em primeiro surto apresentam pior performance cognitiva, comparados com pródromos e controles concluindo que o prejuízo cognitivo está presente mesmo antes do diagnóstico de esquizofrenia.

A questão de se os déficits cognitivos observados na esquizofrenia são primários ou secundários aos sintomas e fatores relacionados pode ser tratada mais completamente pelos estudos de parentes não-psicóticos de pacientes esquizofrênicos. Diversos estudos observaram que os parentes de primeiro grau de afetados demonstram muitos dos déficits cognitivos observados na esquizofrenia, embora esses indivíduos não apresentem psicose manifestada. (Asarnow et al, 1991; Balogh e Merritt, 1981., Braff, 1981., Green et al., 1997., Nuechterlein., 1983). Esses déficits incluem prejuízos em

diferentes dimensões de atenção, compreensão da linguagem, fluência verbal, memória verbal e memória de trabalho verbal.

Estudos de familiares de primeiro grau de pacientes com esquizofrenia, têm confirmado essa hereditariedade e têm contribuído para identificação de um padrão de prejuízo relacionado ao risco genético da esquizofrenia.

Na meta-análise publicada Snitz et al (2006) foram incluído 58 estudos e 43 testes psicológicos. Os resultados encontrados apontam prejuízos em diversos testes com tamanhos de efeito médio e pequeno. As diferenças com maiores tamanhos com efeito foram em testes que medem atenção, fluência verbal e funções executivas, principalmente, na memória de trabalho. Na revisão publicada por Sitskoorn et al (2004), 37 estudos foram incluídos e os resultados com maiores tamanhos de efeitos foram os de memória verbal e funções executivas. Segundo essas as revisões, os déficits cognitivos podem ser consideradas endofenótipos da esquizofrenia.

5. TRATAMENTO FARMACOLÓGICO DA ESQUIZOFRENIA

Sendo a esquizofrenia (EQZ) uma doença crônica, recorrente e remittente associada a limitações significativas no funcionamento social e profissional, esta implica que o seu tratamento consiste numa abordagem multi-modal incluindo medicação psicotrópica e intervenções psicossociais. A finalidade deste tratamento consiste em melhorar a qualidade de vida das pessoas atingidas com esta doença, reduzindo a mortalidade dos distúrbios e diminuindo a frequência e gravidade dos episódios psicóticos.

Os fármacos psicotrópicos utilizados no tratamento da EQZ foram introduzidos na prática clínica na década de 1950. O cirurgião francês Henri Laborit utilizava uma

mistura de drogas, que denominava “coquetel lítico”, para abrandar reações neurovegetativas de pacientes submetidos a cirurgias prolongadas realizadas a baixas temperaturas. Desta mistura participava o composto anti-histaminico prometazina. Ao observar os efeitos do seu análogo químico, clorpromazina, Laborit notou que os pacientes ficavam em estado peculiar, caracterizada por uma significativa redução da agitação motora e do taquipsiquismo. Essa observação despertou o interesse dos psiquiatras Jean Delay e Pierre Deniker, o uso experimental da droga em pacientes mentais. Surpreendentemente, muitos desses pacientes apresentaram melhora considerável, e puderam mesmo retornar ao convívio social (Silva, 2006).

Os medicamentos antipsicóticos são a primeira linha farmacoterapêutica para o tratamento da esquizofrenia (Molteni et al., 2009). Esses medicamentos são importantes para o tratamento do transtorno, podendo não só inferir nas manifestações agudas da doença, mas também na normalização das funções do cérebro. Além representar uma importante ferramenta terapêutica, a descoberta clínica dos primeiros antipsicóticos representou uma melhor compreensão dos sintomas. Os progressos resultaram na disponibilidade e uso de vários fármacos classificados em duas categorias de antipsicóticos: os antipsicóticos típicos ou de primeira geração e os antipsicóticos atípicos ou de segunda geração. São tipos de antipsicóticos de primeira geração as fenotiazinas (clorpromazina, levomepromazina, promazina, pericyazine, pipotiazine, flufenazina, proclorperazina, perfenazina e trifluoperazina), as butirofenonas (haloperidol e benperidol), difenilbutilpiperidinas (pimozida), thioxantenes (flupentixol e zuclopentixol) e benzamidas (sulpirida). São antipsicóticos de segunda geração: amisulpirida, clozapina, aripiprazol, olanzapina, risperidona, quetiapina, ziprasidona, sertindol, zotepina (Stahl, 2016).

Os antipsicóticos típicos e atípicos parecem ser igualmente eficazes para o tratamento dos sintomas positivos, via inibição do sistema mesolímbico dopaminérgico. São diferentes no que se refere á ocorrência de efeitos colaterais neurológicos. Entretanto, os atípicos parecem ser mais eficazes nos sintomas negativos e de deterioração cognitiva (Keefe et al., 2007). Possuindo uma maior ação seletiva sobre os receptores dopaminérgicos e serotoninérgicos.

Todos os antipsicóticos clinicamente disponíveis são antagonistas dos receptores D₂ de dopamina. Esta redução na neurotransmissão dopaminérgica é atualmente atendida através de antagonistas D₂ ou agonistas parciais D₂. Esta ação é direcionada para as diferentes vias de transmissão dopaminérgica do córtex: via nigro-estriatal; túbero-hipofisaria; mesolímbica-mesocortical).

Os antipsicóticos atípicos mais recentes oferecem um melhor perfil de efeitos colaterais neurológicos do que os antipsicóticos típicos. O bloqueio excessivo de D₂ aumenta o risco de efeitos neurológicos motores, como rigidez muscular, bradicinesia, tremor, acatisia, atrasa o processo do pensamento (bradifrenia) e interfere nas vias de recompensa central, resultando em queixas do paciente de anedonia. Esses efeitos adversos, provenientes da redução dopaminérgica excessiva, foram analisadas em intervalos contínuos ao longo do uso combinado proposto no nosso estudo: (antipsicótico + ALA).

Na psicose aguda, a sedação pode ser desejável, mas o uso de um medicamento antipsicótico sedativo pode interferir na função cognitiva do paciente e em sua reintegração social (Goodman e Gilman, 2015).

A maioria dos fármacos antipsicóticos apresenta benefícios antidepressivos limitados como agentes de monoterapia. No entanto, os agentes antipsicóticos atípicos são eficazes como terapia adjuvante na depressão resistente ao tratamento. Sua eficácia clínica pode estar relacionada com o fato de quase todos os antipsicóticos atípicos serem potentes antagonistas de 5-HT_{2A}, especificamente no córtex pré-frontal (Stahl, 2016). Há evidências de que o sistema serotoninérgico se opõe ao sistema dopaminérgico, ou seja, a inibição da atividade serotoninérgica está associada ao aumento da atividade dopaminérgica (Stahl, 2016).

Pacientes que fazem uso de antipsicóticos atípicos têm uma prevalência duas vezes maior de síndrome metabólica, diabetes tipo 2 e taxas de mortalidade relacionada a problemas cardiovasculares duas vezes maiores do que a população geral. As diretrizes consensuais recomendam a determinação de momento basal de glicose, lipídeos, peso, pressão arterial e, quando possível, circunferência de cintura e histórico pessoal e familiar de doenças metabólicas. A clozapina e a olanzapina têm o maior risco metabólico (Goodman e Gilman, 2015).

5.1. Psiquiatria translacional: Evidências Experimentais que embasaram o estudo clínico do ALA

Esse trabalho científico representou com sucesso, o primeiro estudo dentro da perspectiva translacional, ou seja, a utilização de uma metodologia bidirecional que possibilita o confronto entre os resultados obtidos nas ciências básicas e nas pesquisas clínicas. Ambas as etapas realizadas pelo nosso grupo de pesquisadores no NPDM.

Em relato de estudo experimental anterior, foram observadas evidências de melhora no desempenho cognitivo em animais submetidos a diferentes esquemas de

tratamento com ALA, no modelo de indução dos sintomas de esquizofrenia com a ketamina. As habilidades de memória de trabalho, foram medido através do labirinto Y, e de atenção seletiva, obtidas através do teste de inibição pré-pulso. O estudo revelou que o tratamento adjuvante de ALA com a Clozapina conseguiu reverter alguns parâmetros de déficits cognitivos induzidos pelo uso da ketamina. (Vasconcelos et al., 2015).

6. Relevância e justificativa

Estudos promissores estão sendo realizado com a utilização de suplementos alimentares, como o ômega-3 e outras substâncias antioxidantes como a Melatonina, em paciente com alto risco para o desenvolvimento de esquizofrenia. Em pesquisas com animais, há relatos de melhora dos sintomas com o uso do ômega 3, entretanto as evidências encontradas em pesquisas clínicas ainda não estão claras. Permanecem expectativas do possível uso no tratamento dos sintomas, ou como neuroprotetor do desenvolvimento.

A prática de reposicionamento farmacológico consiste na utilização de um fármaco, previamente já conhecido e com ação terapêutica específica comprovada, utilizada para o tratamento de outras doenças. (Chong, 2007; Calixto e Silva, 2014)

Para ocorrer a introdução de um novo medicamento no mercado, diversas etapas são requeridas. De maneira geral o processo se divide em quatro estágios principais: a descoberta de um novo composto (ou molécula), testes pré-clínicos, ensaios clínicos e finalmente uma revisão por uma agência reguladora. O processo desde a descoberta até as fases finais de regulação pode durar 15 anos. Segundo dados da *Pharmaceutical Research and Manufactures of América*, apenas 5 em cada 10.000 novas entidades

químicas identificadas conseguem transpor com sucesso os dois primeiros estágios (Kaitin, 2009).

Toda essa problemática, tem impulsionado a indústria farmacêutica a explorar diferentes estratégias para o desenvolvimento de novos fármacos.

Nesse enfoque “o reposicionamento de fármacos” tem surgido como uma nova abordagem para o estabelecimento de estratégias terapêuticas medicamentosas. Essa metodologia diminui o tempo de pesquisa, estudos clínicos e consequentemente os gastos: visto que a farmacologia e toxicologia desses medicamentos já são conhecidas (Wilson, 2006; Jannuzzi, 2012).

Os laboratórios de Neuropsicofarmacologia e de Psiquiatria Translacional, do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Novos Medicamentos (NPDM), da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará (UFC), têm contribuído com a realização de pesquisas experimentais sobre o uso do ALA em diferentes transtornos psiquiátricos (Macedo et al., 2012, Oliveira et al., 2017; Sampaio et al, 2017)

A partir de resultados pré-clínicos encorajadores, conforme supracitado, nosso grupo de pesquisa resolveu investir no presente estudo piloto com o reposicionamento do fármaco ALA, visto que é uma medicação de baixo e poucos efeitos colaterais. Portanto, neste estudo obtivemos as primeiras evidências clínicas do uso terapêutico prolongado do ALA em pacientes com esquizofrenia, assim como pudemos fazer comparações com as evidências encontradas nos estudos experimentais anteriores.

7. Objetivos

7.1. Geral

Verificar os efeitos da terapia adjuvante com ALA em sintomas negativos, positivos e cognitivos de pacientes com diagnóstico de esquizofrenia crônica, bem como avaliar alterações oxidativas, inflamatórias, metabólicas e efeitos colaterais.

7.2. Específicos

- Realizar avaliação psiquiátrica de pacientes com esquizofrenia crônica antes e após do tratamento adjuvante com ALA;
- Avaliar e quantificar o desempenho das funções cognitivas presentes em déficits funcionais nos indivíduos com diagnóstico de esquizofrenia antes e após o tratamento adjuvante com ALA.
- Avaliar efeitos colaterais das medicações antipsicóticas, como sintomas extrapiramidais (acinesia e acatisia) e discinesia tardia antes e após o tratamento adjuvante com ALA;
- Quantificar alterações nas enzimas hepáticas, hemograma, vitamina B₁₂ e ácido fólico decorrentes da terapia adjuvante com ALA.
- Avaliar e quantificar as alterações dos parâmetros clínicos (IMC, circunferência abdominal) e laboratoriais (perfil lipídico, glicemia de jejum, hemoglobina glicosilada) que estão relacionados a presença de síndrome metabólica antes e após a terapia adjuvante com ALA.
- Comparar as defesas antioxidantes, parâmetros de estresse oxidativo, e inflamatórios a saber, níveis plasmáticos de glutathiona reduzida (GSH), peroxidação lipídica (TBARS/MDA e Nitrito) e parâmetros inflamatórios antes e depois do tratamento com ALA.

8. MÉTODO

8.1. Definição do tamanho da amostra

Tratou-se de um estudo piloto com nove pacientes nos permitiu conhecer o tamanho do efeito da terapia adjuvante com ácido alfa-lipóico, dado que poderá ser utilizado para cálculos de tamanho de amostra em futuros ensaios clínicos randomizados. Um ensaio clínico randomizado e aberto com aferições periódicas em 4 meses contínuos.

8.2. Aspectos Éticos

O presente estudo foi realizado no laboratório de Psiquiatria Translacional integrante do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Novos Medicamentos – NPDM. A pesquisa teve início após a aprovação no comitê de ética e pesquisa humana, e tem como registro CAAE: 48288315.2.0000.5054. Foram seguidas as orientações determinadas pela resolução Nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde, referente a estruturação de pesquisas com seres humanos.

Após a explicação da equipe de pesquisadores e a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) pelos pacientes teve início o processo de coleta de informações de distribuição gratuita do fármaco testado: ácido α -lipóico (ALA).

8.3. Condução do estudo

Os pacientes da pesquisa foram recrutados de diferentes unidades da rede de assistência a saúde mental pública. Todos eles estavam e permanecem até hoje em acompanhamento ambulatorial para transtornos psicóticos. Participaram desse estudo usuários em atendimento do CAPS Geral (2 pacientes), do ambulatório de esquizofrenia do serviço de psiquiatria do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) (7

pacientes), e do ambulatório de transtornos psicóticos do Hospital Mental Frota Pinto (2 pacientes).

Para admissão como participante nesse estudo foram obedecidos os seguintes critérios de inclusão:

- Ser portador de esquizofrenia pelos critérios DSM-IV e CID-10
- Ter entre 18 e 45 anos
- Ter sintomas da doença, a despeito da terapia com antipsicóticos.

Utilizamos para critérios de exclusão de participação no estudo, as seguintes características presentes nos indivíduos:

- Analfabetismo
- História de epilepsia precedendo o diagnóstico de Esquizofrenia;
- História de tumor cerebral;
- Presença de doença grave hepática, renal ou cardíaca;
- Psicose alcoólica ou tóxica;
- Dependência/abuso de substâncias psicoativas;
- Situação potencial de gravidez e (ou) lactação;
- Outros diagnósticos psiquiátricos;
- Sorologia positiva para o vírus HIV;
- Uso de ácido valpróico (relativo);

Ao iniciar o estudo (**T0**), foram aplicadas as Escala Breve de Avaliação Psiquiátrica (*Brief Psychiatric Rating Scale-BPRS*) (Overall & Gorham, 1962), a Escala SAS (*Simpson Angus Scale for Assessment of Extrapiramidal Symptoms*, Simpson & Angus, 1970) e uma bateria de testes neuropsicológicos detalhados na próxima seção. Coletamos sangue venoso periférico para a dosagem já mencionada nos objetivos e detalhadas, perfil lipídico, enzimas hepáticas e glicemia de jejum. Na ocasião, medimos também o peso e a circunferência abdominal dos pacientes.

Após T0, o paciente foi orientado a tomar, diariamente, via oral, uma cápsula de 100mg de ácido alfa-lipóico, por 16 semanas. As medicações antipsicóticas do paciente, qual seja, foram mantidas conforme uso prévio. Ao completar quatro (T1), oito (T2), doze (T3) e dezesseis (T4) semanas de tratamento, os pacientes foram reavaliados. Nessas ocasiões, aplicamos novamente as escalas BPRS e SAS.

Avaliação Neuropsicológica

Realizamos uma sessão de testagem das funções cognitivas de cada paciente, no início do estudo (T0) e no último retorno (T4). Cada sessão terá duração de aproximadamente 45 minutos. Serão aplicados os testes descritos abaixo cada um com duração máxima de 4 minutos. Vale ressaltar que os testes não trarão incômodos ou constrangimentos aos pacientes.

Teste de aprendizagem verbal (*California Verbal Learning Test*, Delis et al., 1987): Avalia a memória e aprendizagem verbal. Provê uma avaliação de estratégias e processos envolvidos no aprendizado e recordação de material verbal, avalia a funcionalidade do lobo temporal esquerdo. Consiste de uma lista de 16 palavras relacionadas, não-agrupadas (lista A), apresentadas em 5 tentativas. Imediatamente, uma segunda lista de 16 palavras (lista B) é apresentada para interferência. Após recordação livre da lista B, ocorre uma recordação livre da lista A, seguida de recordação com dica. Depois de um intervalo de 25 minutos é feita novamente recordação livre da lista A e, em seguida, a recordação com dica. Uma última apresentação de palavras para reconhecimento da lista A é apresentada.

Subteste dígitos (*Wechsler Digit Span Test*) (Wechsler, 1987): Avalia a capacidade de atenção, controle mental, capacidade de reter e manipular informações na esfera verbal (funcionalidade do lobo frontal). Possui duas etapas: dígitos diretos e dígitos inversos. Na primeira é dito ao sujeito uma sequência de números e ele deve repeti-la logo em seguida. São séries de números em aumento progressivo, com duas tentativas cada, e o sujeito deve repeti-las

na mesma ordem após única apresentação. Na segunda etapa, a apresentação dos dígitos é semelhante à anterior, porém o sujeito deve repeti-la na ordem inversa (por ex.: se a sequência é 1 2 3, ele deve dizer: 3 2 1) (Figura 13)

Digit span test

	Column 1	Column 2	
Forward test	(3) 2-6-5	(3) 2-8-1	
	(4) 1-5-2-3	(4) 1-9-5-2	
	(5) 2-4-7-6-1	(5) 5-2-1-4-3	
	(6) 4-2-1-9-3-7	(6) 8-5-3-1-4-7	
	(7) 3-6-4-8-5-2-9	(7) 6-8-1-4-7-2-5	
	(8) 7-5-8-2-9-6-1-3	(8) 2-8-5-9-7-3-1-4	
	(9) 5-8-6-4-2-7-3-9-1	(9) 4-2-5-8-1-3-9-7-6	
	Backward test	(2) 2-1	(2) 2-8
		(3) 5-8-4	(3) 3-2-8
(4) 4-8-9-1		(4) 2-9-4-1	
(5) 6-8-7-2-1		(5) 3-5-9-7-6	
(6) 5-8-1-7-4-6		(6) 4-3-1-9-2-5	
(7) 8-5-3-6-7-2-9		(7) 5-3-2-4-1-6-8	
(8) 1-7-4-3-8-9-5-2		(8) 6-8-4-7-5-3-9-2	
Maximal digit number for forward test () + Maximal digit number for backward test () = Total score ()			

Figura 13: Teste do span dígitos: Alça fonológica: Memória de trabalho
Fonte: Kim, Jang et al 2008

Subteste Blocos de Corsi (Corsi, 1972): Avalia a capacidade de atenção, controle mental, capacidade de reter e manipular informações no âmbito viso-espacial, análoga ao teste de dígitos. Possui duas etapas: estímulos diretos e inversos. Na primeira é feita uma sequência de toque em diferentes blocos dispostos num tabuleiro. São sequências de toques com aumentos progressivos, com duas tentativas cada, e o sujeito deve repeti-las na mesma ordem após a apresentação. Na segunda etapa, a apresentação dos toques nos blocos deve ser seguida com a ordem inversa pelo sujeito analisado, análoga a forma do dígito (Figura 14).

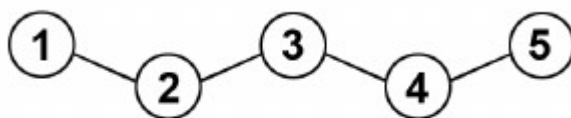


Figura 14: Blocos de Corsi – Esboço viso-espacial: Memória de trabalho
Fonte: Livraria do Psicólogo, 2010

Teste de fluência verbal (Verbal Fluency) (Isaacs & Kennie, 1973): Avalia o desempenho relativo à fluência verbal, avalia a funcionalidade do lobo frontal esquerdo (Linguagem).

Teste de Trilhas (Trail Making Test) (Partington & Leiter, 1949): avalia o desempenho da atenção rápida, sequenciamento e flexibilidade mental, funcionalidade do lobo parietal direito. Possui duas etapas. Na primeira fase, pede-se ao sujeito que ligue o mais rápido possível os números espalhados pela folha de avaliação na ordem correta da sequência numérica. Na segunda fase do teste pede-se ao sujeito que ligue o mais rápido possível agora não só a sequência de números, mas também uma sequência de letras intercalando as letras e os números na ordem correta. (Figura 15)

a. Part A



a. Part B

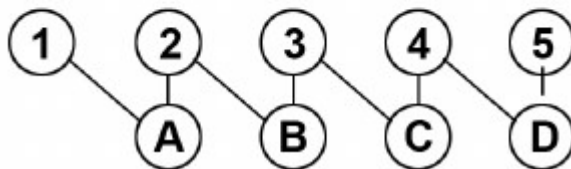


Figura 15: Teste de Trihas: Flexibilidade mental
Fonte: Kim et al, 2014

Teste de Aprendizagem Auditivo-Verbal de Rey (Rey, 1958): avalia componentes da aprendizagem verbal que recrutam a ativação de áreas pré-frontais e temporais direito. Consiste de uma lista de 15 substantivos (lista A) que é lida em voz alta para o examinado com o intervalo de um segundo entre cada palavra, por 5 vezes consecutivas (A1 a A5). Cada uma das tentativas é seguida por uma fase de evocação espontânea. Depois da quinta tentativa é introduzida uma lista de interferência, também composta de 15 substantivos (lista B), e lida para o examinado, sendo seguida de evocação da mesma (tentativa B1). Logo após a tentativa B1, é pedido ao sujeito que recorde as palavras da lista A, sem que ela seja, nesse momento, reapresentada (tentativa A6). Após um intervalo de 20 minutos, que deve ser preenchido com outras atividades que não demandem raciocínio verbal, pede-se ao sujeito que se lembre das palavras da lista A (tentativa A7) sem que a lista seja lida para ele. No nosso estudo calculamos a curva de aprendizagem relacionada à **memória de trabalho (A1 a A5)**. Analisamos também o **índice de interferência proativa (B1/A1)** que se trata da capacidade do sujeito em resistir ao efeito de distratores proativos (interferência de um conteúdo anteriormente aprendido sobre a aprendizagem de um novo conteúdo).

8.4. Droga teste

No nosso estudo, utilizamos o ácido Thiocactic 600 HR, um composto natural, sintetizado nas mitocôndrias, usado para tratar a dor neuropática diabética (Vallianou et al., 2009). A ALA e a sua forma reduzida, o ácido diidrolipóico (DHHLA), são poderosos antioxidantes (Packer et al., 1996) com efeitos anti-inflamatórios (Scumpia et al., 2014).

8.5. Avaliação metabólica: Análises Laboratoriais

Ao iniciar o estudo (**T0**), todos os indivíduos **foram submetidos a aferições dos parâmetros clínicos pela equipe médica do estudo: pressão arterial, IMC (índice de**

massa corporal), circunferência abdominal, e serão novamente repetidas ao completar quatro (T1), oito (T2) e doze (T3) e dezesseis semanas de tratamento (T4).

No início do estudo (T0) e no último retorno dos pacientes (T4), houve a coleta de amostras de sangue, por venopunção periférica em pacientes submetidos a jejum de 12 h, utilizando-se sistema de coleta a vácuo.

Para a determinação do hemograma completo, folato eritrocitário e vitamina B1 o sangue foi coletado (5 ml) em tubos contendo solução a 10% de Ácido Etileno Diamino Tetra Acético (EDTA), enquanto que para as demais quantificações serão utilizados tubos sem anticoagulante para a obtenção do soro. As amostras sem anticoagulante (10 ml) serão mantidas a temperatura ambiente e aproximadamente dez minutos da coleta serão centrifugadas, por quinze minutos a 3.000 rpm, para obtenção do soro. Posteriormente, este será aliquotado e armazenado a -80°C, em tubos plásticos do tipo eppendorfs, até a realização das análises. As condições serão controladas, padronizadas e pré-otimizadas para assegurar a reprodutibilidade dos testes.

Foram realizados os seguintes exames: hemograma, glicemia de jejum, AST, ALT, hemoglobina A1C, 25OHD (método imunológico-quimioluminescente direto; com parâmetros de deficiente: menor que 10,0 ng/mL, insuficiência: 10,0-30,0 ng/mL, suficiência: 30,0-100,0 ng/mL e elevado: maior que 100,0ng/mL), colesterol total, HDL, LDL, triglicérides, insulina, vitamina B12, tiamina (vit B1) e folato eritrocitário.

As dosagens sanguíneas do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e leptina serão realizadas de acordo com o manual do fabricante pela técnica de ensaio imunoenzimático (ELISA) com kits DuoSet® da R&D systems no laboratório de Neuropsicofarmacologia e Psiquiatria translacional do NPDM.

Análises das defesas antioxidantes e parâmetros de estresse oxidativos, a saber, níveis de glutathiona reduzida (GSH) (Kuloglu et al., 2002), peroxidação lipídica (Kuloglu et al., 2002) e de Nitrito (Green & Goldman, 1981) foram realizadas em amostras sanguíneas por técnicas de espectrofotometria padronizadas no laboratório de Neuropsicofarmacologia e Psiquiatria translacional do NPDM.

8.6. Escala de avaliação psiquiátrica: BPRS / SAS

A escala de avaliação breve psiquiátrica (BPRS) foi desenvolvida para estudos farmacológicos em pacientes com altos índices de psicopatologia. Assim, seu uso é limitado quando se trata de pacientes com sintomas mais leves. Utilizamos a BPRS com 18 itens, na tradução feita por Zuardi para o português (Zuardi, 1994). A escala de um a sete leva a uma diminuição da probabilidade de números de respondedores, favorecendo aqueles com escores mais altos de psicopatologia. Na versão original, pessoas sem psicopatologia, por exemplo, apresentam pelo menos 18 pontos na BPRS. Quando se usa uma escala indicando ausência de psicopatologia pelo valor mínimo “zero”, a probabilidade de resposta fica menos influenciada pelo nível inicial de psicopatologia. Bech e colaboradores (1986) propuseram alguns pontos de corte para a pontuação: de 0 a 9 pontos haveria uma ausência de síndrome, de 10 à 19 haveria uma “síndrome menor”, e com 20 ou mais pontos haveria uma “síndrome maior”.

A BPRS avalia as medidas extraídas somente a partir da gravidade do sintoma observado pelo entrevistador ou relatado pelo entrevistado. Ela não é capaz de avaliar construtos intrapsíquicos (processos mentais complexos) ou funções adaptativas, tais como as relações interpessoais e habilidades vocacionais (Alves, 2003) que requerem o acréscimo de outras escalas.

Diversos estudos psiquiátricos utilizaram a BPRS como um marcador da evolução clínica dos sintomas psiquiátricos em indivíduos com esquizofrenia (Kay et al, 1998; Addington et al, 1992; Fassino et al, 2003). Em nosso estudo, a BPRS possibilitou o registro da latência ou persistência dos sintomas positivos e negativos dos indivíduos analisados.

A Escala de Simpson-Angus (SAS) avalia efeitos extrapiramidais agudos, ela é composta por 10 itens que avaliam de 0 à 4. O escore final é obtido a partir da média aritmética do escore dos 10, onde um valor < 3 é considerado normal, 3-5 efeitos extrapiramidais mínimos; 6-11 efeitos extrapiramidais clinicamente significativos e valores > 12 denotam severos efeitos extrapiramidais (Simpson e Angus, 1970). Trata-se de um importante instrumento psicométrico, para análises de possíveis efeitos motores extrapiramidais da via nigro-estriatal dopaminérgica pelo uso de antipsicóticos (Frederico et al., 2008; Lima et al., 2001).

8.7. Análise do estresse oxidativo – dano lipídico

A avaliação da peroxidação lipídica foi realizada no soro dos pacientes, através do método TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúricas) usando TBARS Assay Kit (Cayman Chemical, Amy Arbor) de acordo com as instruções do fabricante. Nesse método, a quantificação dos produtos da peroxidação lipídica é realizada pela formação de substâncias plasmáticas que reagem ao ácido tiobarbitúrico, o que consiste na análise dos produtos finais da peroxidação lipídica (peróxidos lipídicos, malondialdeído e demais aldeídos de baixo peso molecular) que ao reagirem com o ácido tiobarbitúrico (TBA), formam bases de Schiff. A mudança na coloração reflete a concentração dos produtos da peroxidação que foi determinada por eletroespectrofotometria. a 535nm. Os resultados foram expressos em μM de MDA.

Determinação dos níveis reduzidos de glutathiona (GSH)

Os níveis reduzidos de glutathiona (GSH) foram avaliados para estimar as defesas endógenas contra o estresse oxidativo. O método baseou-se na reação do reagente de Ellman (DTNB) com grupos tiol livres (Sedlak e Lindsay, 1968). As amostras de soro foram incubadas a 37°C durante 10min com tampão fosfato de potássio 20mM (KH₂PO₄, K₂HPO₄, EDTA 2mM, Azida sódica 0,8mM, pH 7,7) e NADPH 5mM. Em seguida foram adicionados 40 mM de glutathiona reduzida (GSH), e 40U glutathiona redutase (GR). A reação foi iniciada pela adição do tert-butilhidroperóxido. O nível de GSH foi determinado por absorvância a 412 nm e expresso como ng de GSH / mL.

8.8. Ensaio de nitrito

Os métodos empregados foram descritos em detalhes em outro lugar (Green et al., 1981). O ensaio baseou-se na reação de Griess para determinar a produção de NO. Em resumo, 100 µl do sobrenadante foram incubados com 100 µl do reagente de Griess que consistiam em partes iguais (1: 1: 1: 1) de sulfanilamida a 1% dissolvidas em H₃PO₄ a 1%, 0,1% de N- (1-naftil) dihidroclorato de tiilenodiamina e água destilada à temperatura ambiente durante 10 min. A absorvância foi medida a 560 nm num leitor de microplacas.

O teor de nitrito foi determinado a partir de uma curva de nitrito padrão gerada pelo uso de NaNO₂ (variando de 0,75 a 100 mM) como padrão e foi expresso como nM/mL.

8.9. Medições de peroxidação lipídica (LPO).

A formação de peróxidos lipídicos foi analisada pela medição de substâncias reagentes com ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos homogeneizados (Draper et al., 1993) como índice de produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). A peroxidação lipídica foi avaliada pela absorvância a 532 nm e expressa como mmol de malonaldeído (MDA) / mL.

Determinação dos níveis de IL-1 β , IFN e IL-4.

Os níveis de citocinas foram determinados em cada amostra por imunoenaios enzimáticos realizados em duplicados de acordo com as instruções do fabricante (sistemas de P & D, Minneapolis, MN, EUA). Os resultados foram expressos em pg / mL.

9. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO: COLETA DE DADOS

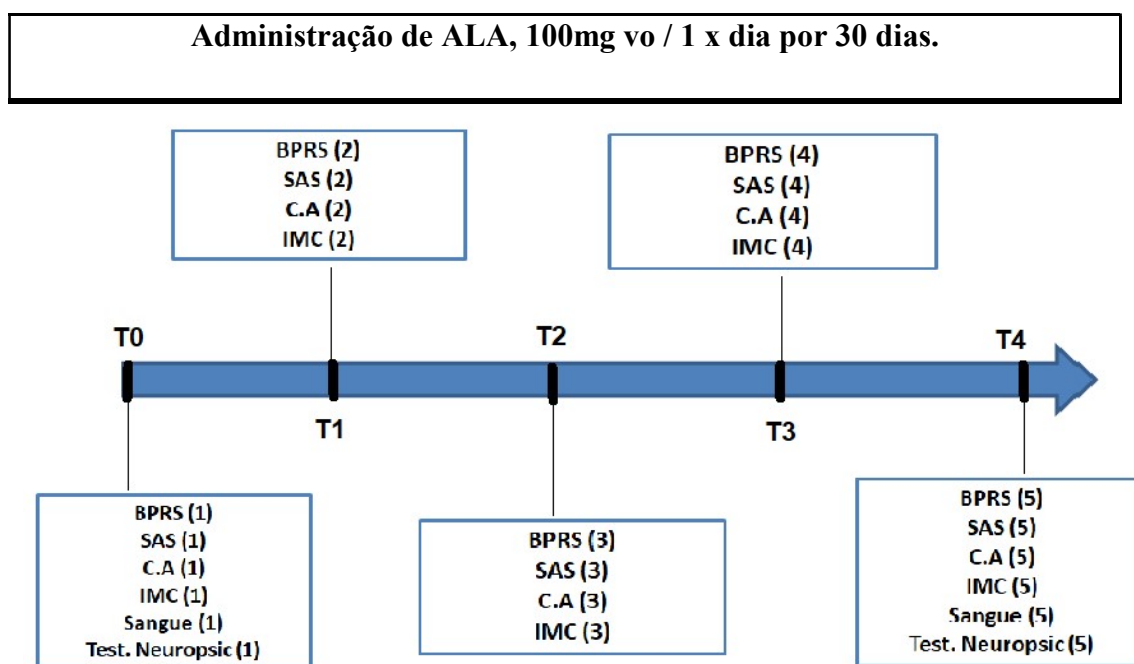


Figura 16: Linha do tempo da pesquisa: execução de procedimentos metodológicos. BPRS (Escala de sintomas psiquiátricos); SAS (Escala de sintomas extrapiramidais); C.A (Circunferência abdominal); IMC (Índice de massa corpórea); Test. Neuropsic (Avaliação neurocognitiva)

10. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos dados foi realizada através do software SPSS versão 2.0 para Windows. Utilizamos os testes de Mann-Whitney ou t-Student e 2-way ANOVA segundo o tipo de distribuição da amostra considerada. Utilizamos o teste Wilcoxon, para amostras não-paramétricas. Valores significativos para as análises foram considerados $p < 0,05$.

11. RESULTADOS

Dois pacientes abandonaram o julgamento após a inscrição. Um deles alegou falta de tempo para participar do seguimento, o outro desenvolveu delírios persecutórios envolvendo a medicação e recusou-se a tomar o medicamento do estudo. Nove pacientes completaram o estudo. As características da amostra são apresentadas na (tabela 1). Os pacientes continuaram a receber doses estáveis de medicamentos antipsicóticos concomitantes. Não foram relatados efeitos colaterais durante o período de estudo.

Tabela 1: Características da amostra de pacientes

Sexo (Masculino/Feminino)	6:3
Idade (anos)	38.5 (7.26)*
Escolaridade (anos)	6.67 (2.74)*
Tempo de doença (anos)	18.70 (7.33)*
Valores dados em média (Erro padrão)*	

Tabela 2: Relato de Medicamentos / Indivíduo (Antipsicóticos e outros)	
Pacientes	Medicamentos
1	Quetiapina 600mg/dia, Haldol 12.5mg, Prometazina 25mg/dia
2	Olanzapina 20mg/dia, Risperidona 8mg/dia, Clomipramina 25mg/dia
3	Risperidona 6mg/dia, Fenergan 25mg/dia
4	Risperidona 12mg/dia, Olanzapina 15mg/dia, Citalopram 10mg/dia, Sinvastatina 20mg/dia
5	Olanzapina 10mg/dia, Risperidona 2mg/dia
6	Haloperidol 10mg/dia, Prometazina 50mg/dia
7	Risperidona 6mg/dia, Neozine 12.5mg/dia, Cinetol 2mg/dia
8	Clozapina 600mg/dia
9	Olanzapina 20mg/dia, Clorpromazina 100mg/dia, Haldol decanoato 1FA/mês, cinetol 2mg/dia, Diazepam 10mg/dia
10	Olanzapina 5mg/dia, Clomipramina 25mg/dia

Apesar da amostra de pacientes estudadas ser reduzida, encontramos resultados que mostram uma resposta terapêutica positiva pelo uso contínuo do ALA. Esse rendimento foi observado quando analisamos tanto o desempenho do grupo (Figura 17-18-19), como o desempenho individual (Figura 21-22-23) nos sintomas.

11.1. Avaliação pelas Escalas Psiquiátricas.

A resposta foi definida como uma redução de 25% ou mais no escore total do BPRS em 4 meses (Correll et al., 2011). Todos os pacientes responderam ao tratamento adjuvante com ALA. A mudança no escore total médio da BPRS está descrita na Figura

1. Observamos uma melhora de 66,5% em relação à linha de base. O teste t de amostra pareada revelou uma diferença significativa nos escores totais BPRS entre a visita 1 e 5 ($t = 8,90$, $p = 0,00002$). Uma ANOVA 2x2 com o tempo dos fatores (visita 1 e visita 5) e gênero (feminino e masculino) revelou um efeito principal do tratamento ($F(1,14) = 12,55$, $p = 0,003$), o que indica uma redução nos escores BPRS com Tratamento ALA (visita 1: $33,6 \pm 4,26$; visita 5: $12,33 \pm 4,26$, $p = 0,003$, corrigido por Bonferroni). Não houve efeito principal de gênero ($F(1,14) = 5,149$, $p = 0,1111$) nem gênero * interação de tratamento ($F(1,14) = 16,469$, $p = 0,754$), mostrando que o gênero não influenciou a resposta ao tratamento. A redução dos escores BPRS ocorreu em todos os domínios dos sintomas (Figura 18). Os sintomas negativos e desorganização apresentaram uma redução significativa em relação ao nível basal de ($10,30 \pm 3,06$) no primeiro atendimento, para ($3,20 \pm 2,94$) referente à visita 5. Os escores de excitação, tensão e hostilidade apresentaram redução de ($8,50 \pm 4,62$) no nível basal, para ($2,20 \pm 2,04$) na 5ª visita clínica. Os sintomas depressivos houve redução de ($6,80 \pm 4,28$) no nível basal, para ($3,60 \pm 3,06$) após a 5ª visita. Nos sintomas positivos, apesar de observarmos redução dos escores de ($6,70 \pm 6,06$) na visita 1ª, para ($3,20 \pm 4,36$) na 5ª visita clínica, não foi significativa ($t=2,82$, $P=0,020$). Todos os pacientes apresentaram diminuição de pelo menos 25% nos sintomas negativos / desorganização, oito pacientes, excitação, sete pacientes, sintomas depressivos e seis pacientes em sintomas positivos. A distribuição desses resultados está representado na tabela 2. Também houve redução significativa dos sintomas extrapiramidais, conforme medido pela escala SAS, na 1ª visita observamos a mediana 5,25-75% = 4-11,5, em relação a 5ª visita, com mediana 2,25-75% = 0,75-2,75, de classificação pelo teste Wilcoxon, $p = 0,008$).

Tabela 2: BPRS: Média dos Escores dos sintomas específicos nos momentos Pré-ALA e Pós-ALA			
BPRS – Sintomas / Escores Parciais	Visita 1 (Pré-ALA)	Visita 5 (Pós-ALA)	Teste Estatístico
Sintomas Positivos – desconfiança e alucinações;	6.70 (6.02)	3.20 (4.36)	t = 2.82, P = 0.020*
Sintomas Negativos e Desorganização – embotamento emocional, desorganização cognitiva, maneirismo;	10.30 (3.06)	3.20 (2.94)	t = 10.05, P = 0.000003*
Sintomas Depressivos – rebaixamento do humor, sentimento de culpa, retarda motor;	6.80 (4.29)	3.60 (3.09)	t = 4.59, P = 0.001*
Excitação e Exacerbação Comportamental – hostilidade, tensão e falta de cooperação;	8.50 (4.62)	2.20 (2.04)	t = 5.24, P = 0.001*
Valores: Média(DP) significância P≤0,005*			

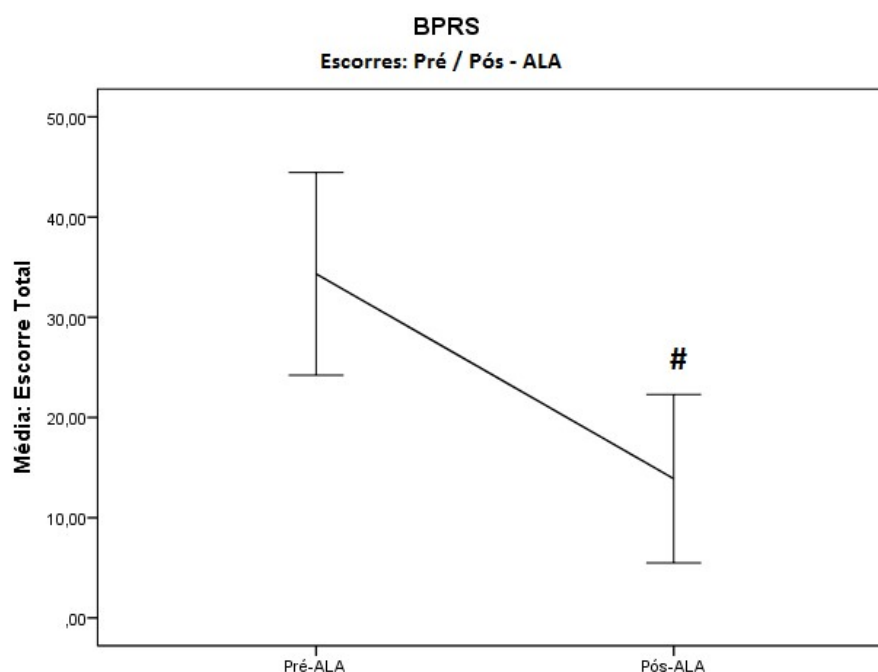


Figura 17: Escores totais (BPRS), referente a presença de sintomas psiquiátricos variados em diferentes momentos. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a média ± erro padrão da média. # p <0,005 em relação ao momento Pré-ALA.

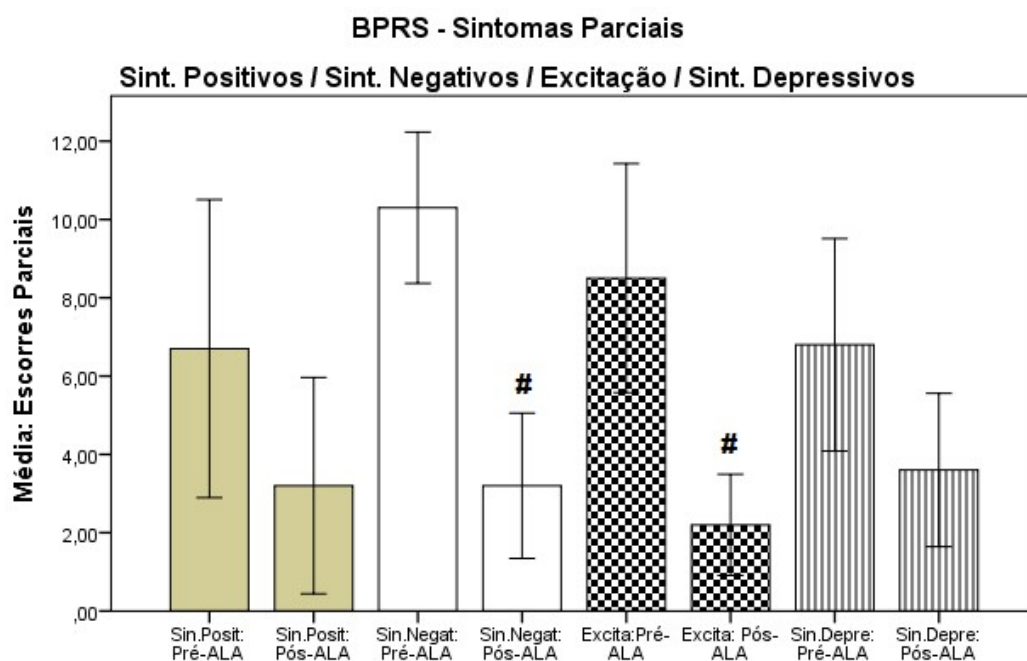


Figura 18. Escores parciais (BPRS), referente a presença de sintomas positivos, negativos ou desorganizados, depressivos e excitação ou hostilidade no grupo analisado. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a média \pm erro padrão da média. # $p < 0,005$ em relação ao momento Pré-ALA.

A análise individual de cada paciente referente a persistência dos sintomas revelou uma redução da ocorrência dos sintomas para o nível abaixo do ponto de corte (0-9 pontos) caracterizado como ausência de sintomas em 6 pacientes. Os outros 3 pacientes apresentaram pontuação ainda dentro da tipificação síndrome maior (20-30 pontos). Todos os indivíduos, entretanto, apresentaram reduções nos grupos de sintomas negativos e excitação ou agitação.

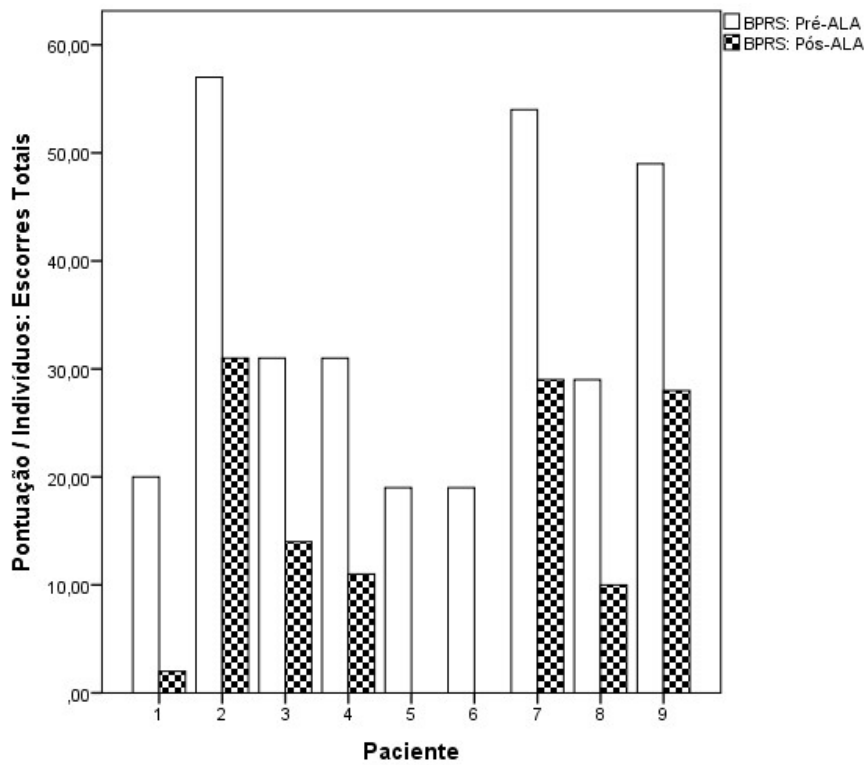


Figura 19: Escores totais (BPRS), referente a presença global de sintomas psiquiátricos variados em diferentes momentos em cada indivíduo. Cada barra representa a persistência dos sintomas no momento inicial (1º visita), e no final do estudo (5º visita).

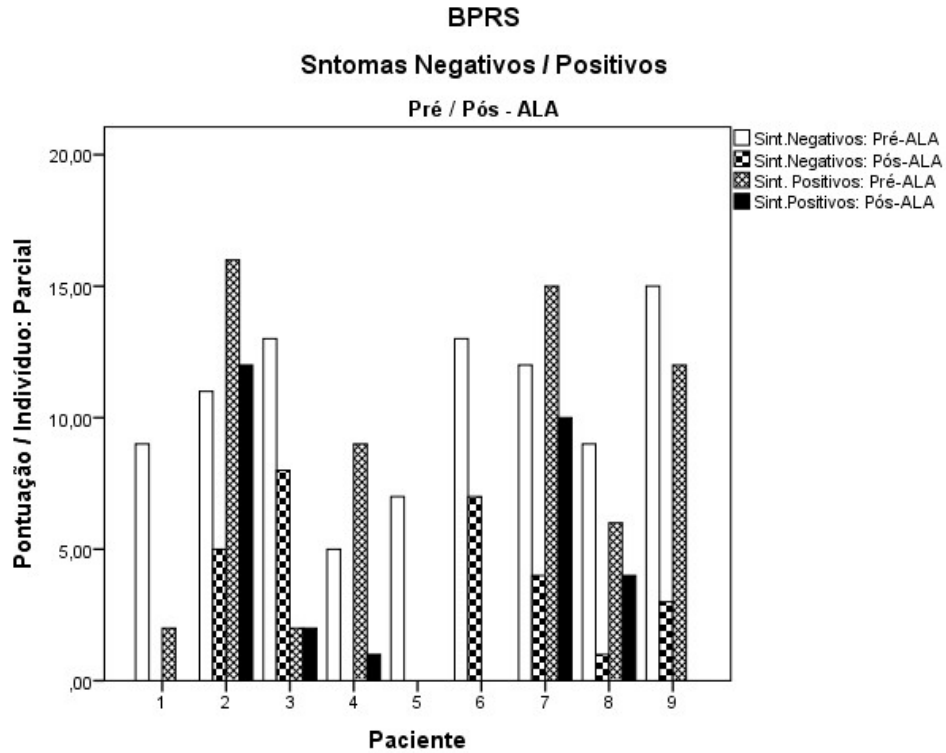


Figura 20. Escores parciais (BPRS), referente à presença de sintomas positivos e negativos de cada indivíduo analisado. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a persistência dos sintomas no momento inicial (1º visita), e no final do estudo (5º visita).

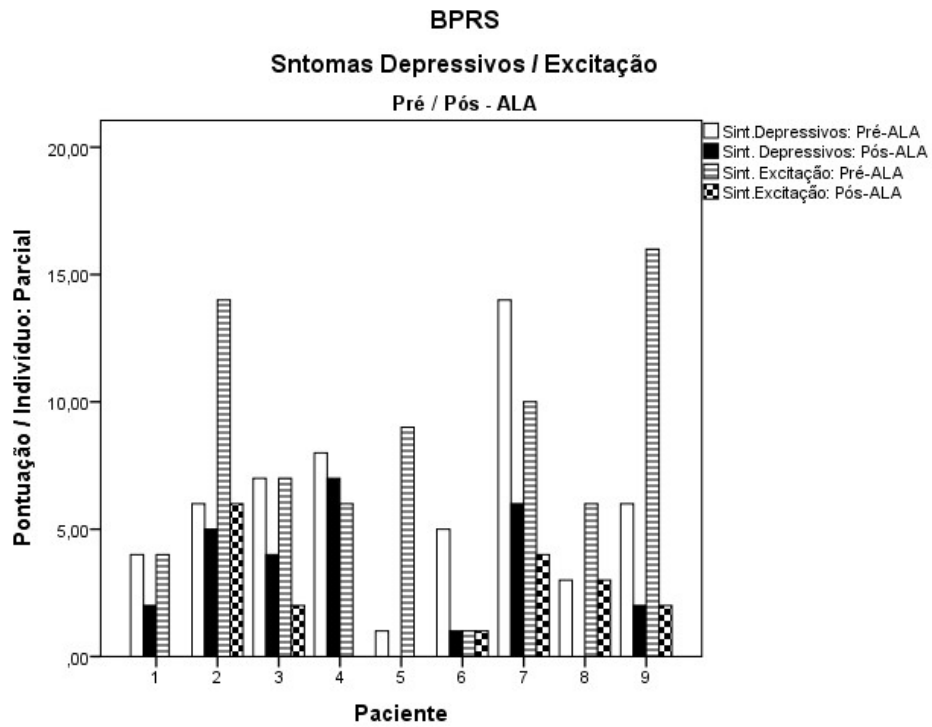


Figura 21. Escores parciais (BPRS), referentes à presença de sintomas depressivos e excitação de cada indivíduo analisado. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a persistência dos sintomas no momento inicial (1º visita), e no final do estudo (5º visita).

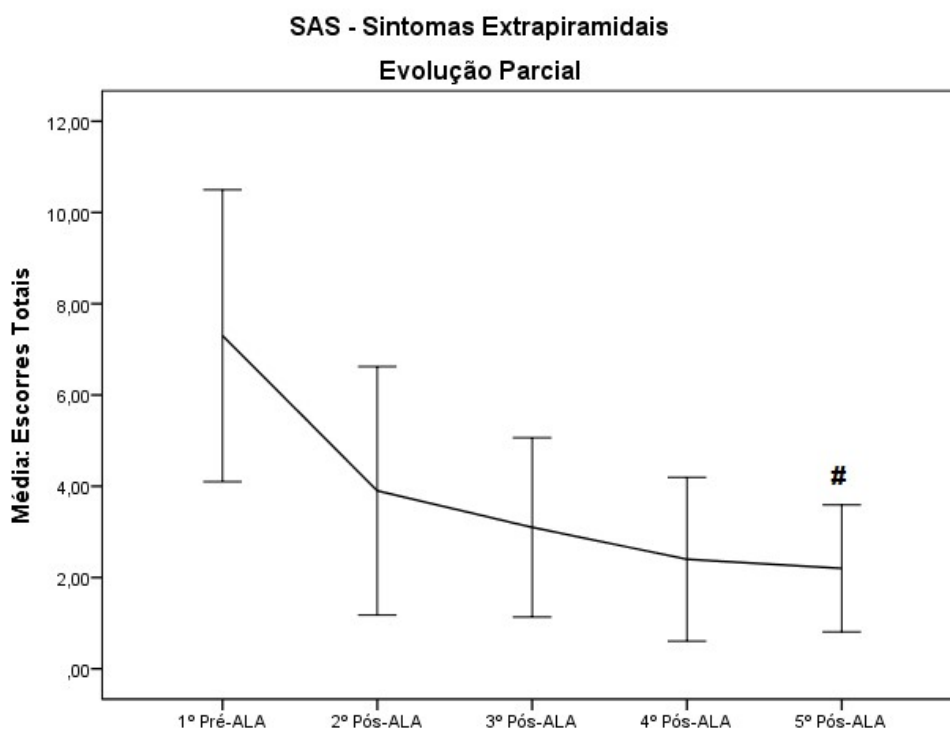


Figura 22: Evolução referente a presença de sintomas extrapiramidais durante as avaliações clínicas. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso contínuo de ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra vertical representa a média \pm erro padrão da média. # $p < 0,005$ em relação ao momento Pré-ALA.

11.2. Resultados: Testagem Neuropsicológicos.

Encontramos uma melhoria significativa em quase todos os testes neurocognitivos (Tabela 3). A melhora do desempenho nas funções executivas, relacionadas ao processamento do córtex pré-frontal, ficou evidente pelos resultados dos desempenhos nos testes de Trilhas A, onde o tempo médio de execução da tarefa no momento da 5ª visita clínica (Pós-ALA) foi significativamente menor ($69,89 \pm 36,18$) que o desempenho no momento basal (Pré-ALA) ($109,67 \pm 68,08$). No subtipo Trilhas B, houve redução do tempo médio no 5º atendimento ($173,11 \pm 87,62$), de execução da tarefa, porém não significativo em relação ao nível basal (Pré-ALA) ($231,78 \pm 119,14$). Não houve diferença significativas em relação a quantidade de erros na execução das tarefas do

Trilha A na 5ª visita 0(0-1,5) em relação ao 1º momento 3(0-4,5) da coleta no indivíduos avaliados, assim como não houve diferença significativas no teste Trilhas B.

No teste Span Dígitos observamos que houve aumento significativo dos escores totais coletados na 5ª visita dos pacientes ($14,11 \pm 2,76$), em relação aos mesmos indivíduos no momento basal antes do tratamento com ALA ($8,56 \pm 2,29$), também identificamos significativa aumento nos escores parciais do teste Span dígitos, tanto na ordem direta (Pós-ALA) ($8,22 \pm 1,88$) em relação ao momento Pré-ALA ($5,33 \pm 1,22$), como na ordem inversa ($5,88 \pm 1,53$) no 5º momento, em relação ao 1ª visita ($3,22 \pm 1,20$). (Figura 23)

Os resultados do teste Blocos de Corsi, também apresentaram aumento significativo dos escores totais no momento do 5º atendimento clínico ($14,67 \pm 4,63$), em relação ao momento basal de atendimentos ($9,00 \pm 2,65$). Foram observados também aumento dos escores brutos parciais neste teste, sendo os escores na ordem direta da 5ª visita ($8,00 \pm 3,04$) significativamente maior que os escores no momento inicial Pré-ALA, assim como na ordem inversa na 5ª visita clinica ($6,66 \pm 2,64$) em comparação com o momento basal ($3,11 \pm 1,14$). (Figura 24)

Não houve, entretanto, diferenças significativas nos testes que avaliaram a fluencia verbal dos pacientes, observada pelos resultados nos testes FAS, no momento basal inicial ($14,44 \pm 8,94$) em comparação com o 5º momento ($16,67 \pm 7,94$), assim como no teste Categoria Animais, que obtivemos número de respostas iniciais ($11,89 \pm 2,15$) em comparação com o 5º momento Pós-ALA ($14,22 \pm 3,53$). (Figura 25)

No teste da memória verbal auditivo de Rey encontramos melhora significativa do número de evocações corretas nas fases após estímulo distrator (lista B), referentes a

etapas A6 e A7 ($F_{7,94} P=0,000$) e ($F_{1,54.5} P=0,0008$). A análise geral pelos 2 fatores envolvidos (tempo X treino) apresentou significancia na evolução de cada treino (ANOVA) ($F_{7, 4.11} P=0,001$).

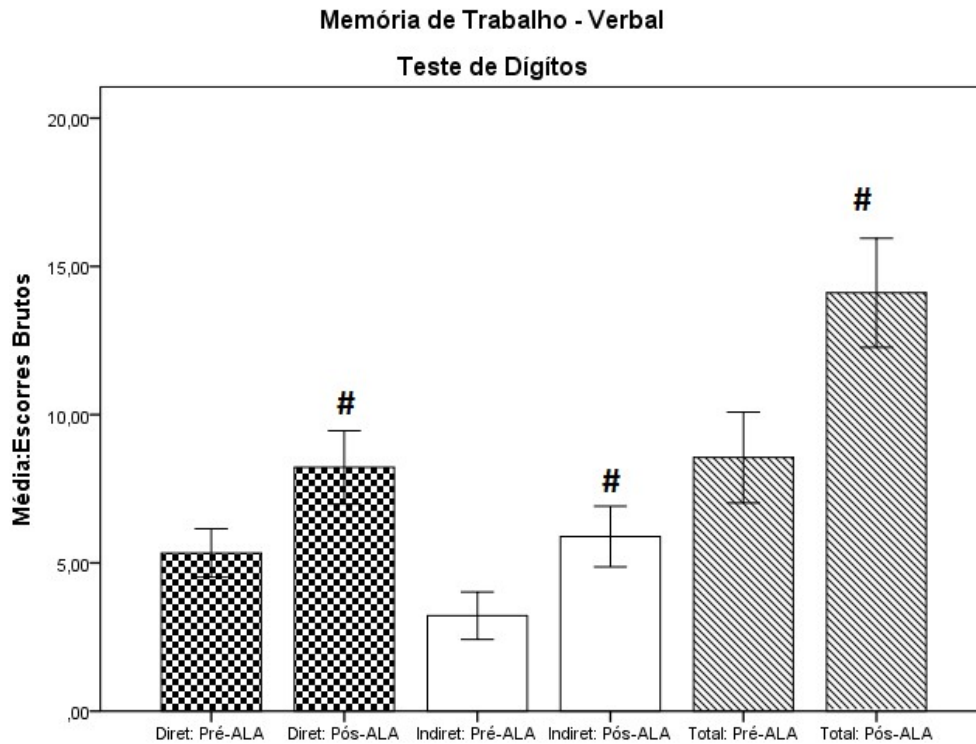


Figura 23. Escores brutos do teste de Dígitos, referente ao processamento de memória de trabalho, subtipo alça-fonológica. Atividade do córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a média \pm erro padrão da média. # $p < 0,005$ em relação ao momento Pré-ALA

Memória de Trabalho - Visuo-Espacial

Teste Blocos de Corsi

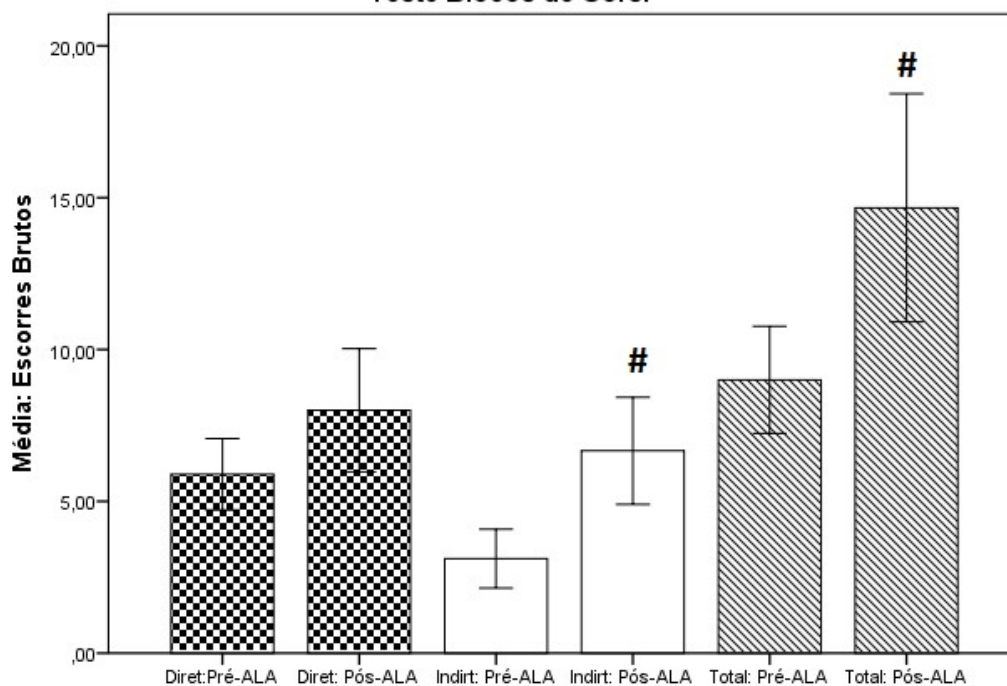


Figura 24. Escores bruto, em diferentes momentos, do teste Blocos de Corsi, referente ao processamento de memória de trabalho, subtipo esboço visuo-espacial. Representa a atividade do córtex pré-frontal dorsolateral direito. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a média \pm erro padrão da média. # $p < 0,005$ em relação ao momento Pré-ALA. ($t_8 = 6,93$; $P = 0,001$).

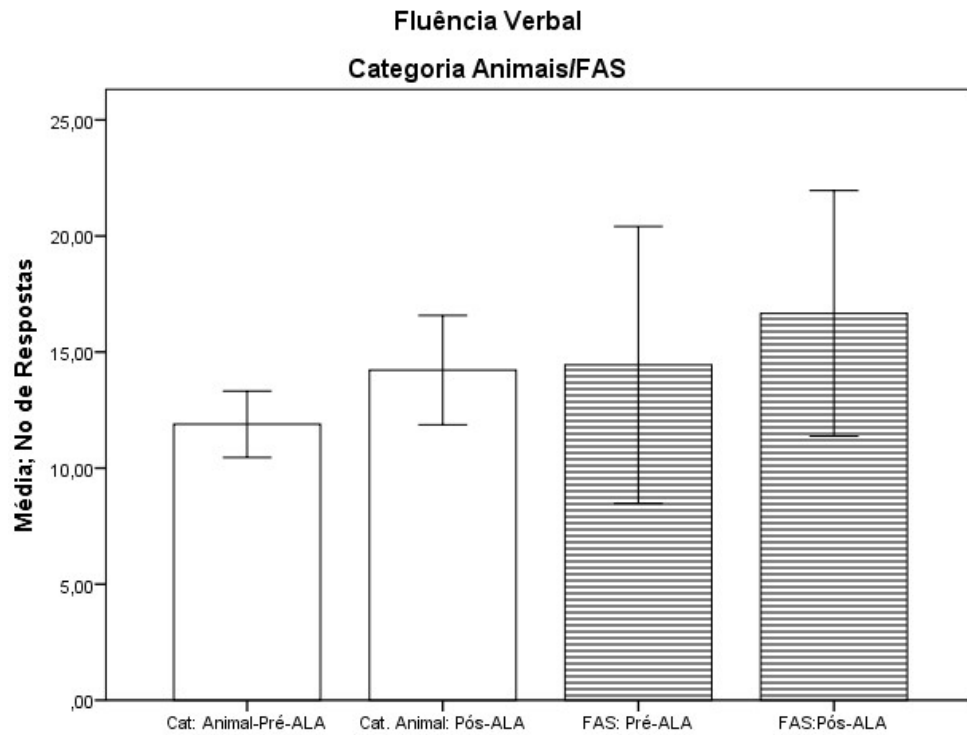
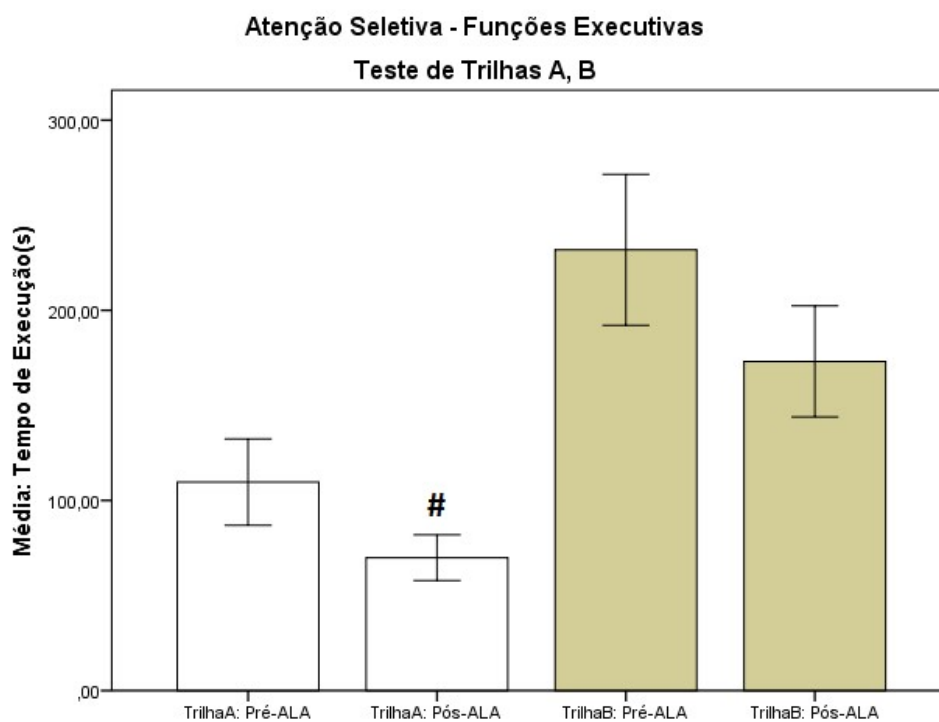
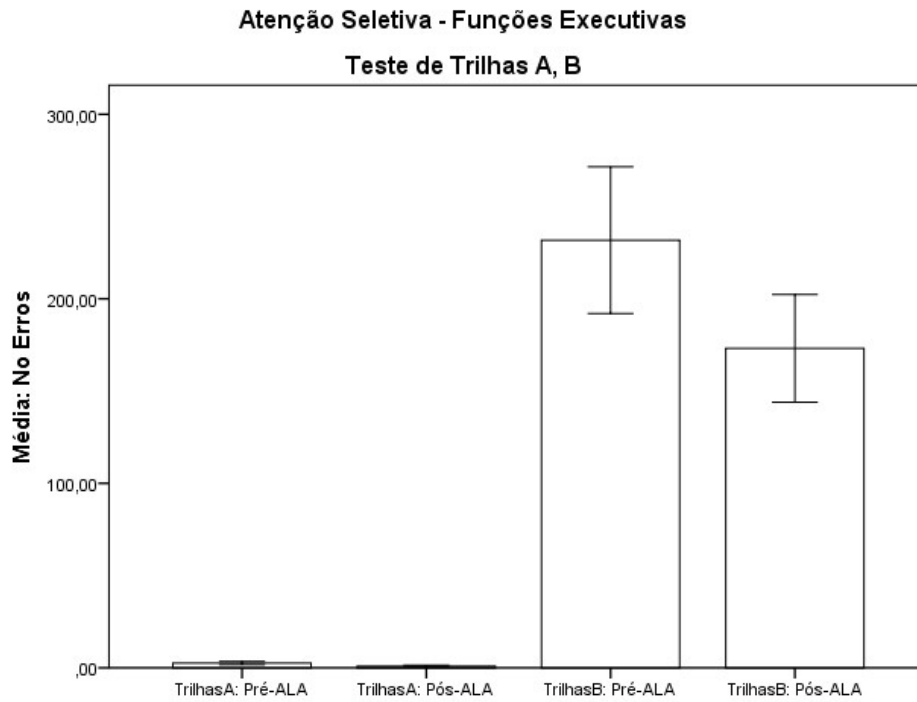


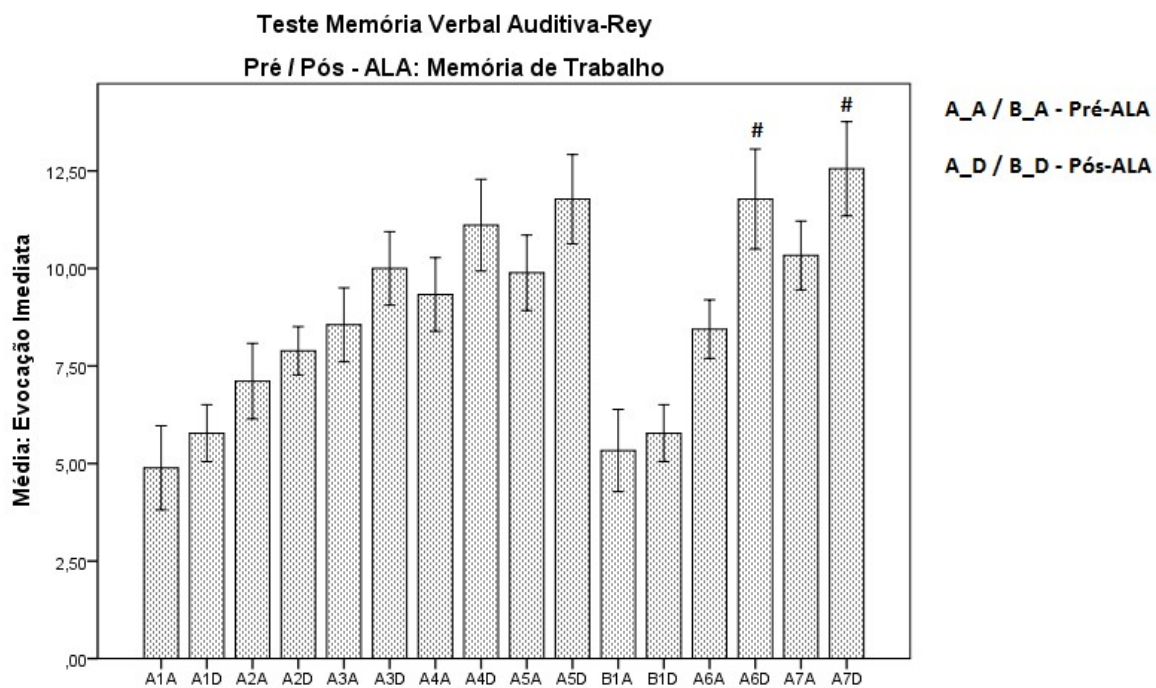
Figura 25: Média do número de respostas nos testes de fluência verbal; categoria animais e FAS. Número de respostas coletadas em diferentes momentos, no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA).



Figuras 26: Tempo de execução nos testes de atenção seletiva (Trilha A, B); referente ao processamento de tomadas de decisão. Atividade do córtex pré-frontal cingulado anterior e orbitofrontal direito. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a média \pm erro padrão da média. # $p < 0,002$ em relação ao momento Pré-ALA.



Figuras 27: Número de erros de execução no teste de atenção seletiva (Trilha A, B); referente ao processamento de tomadas de decisão. Atividade do córtex pré-frontal cingulado anterior e orbitofrontal direito. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a média \pm erro padrão da média. # $p < 0,005$ em relação ao momento Pré-ALA.



Figuras 28: Número de evocações corretas no teste de memória verbal de Rey; referente a capacidade de aprendizagem auditiva imediata. Atividade do córtex pré-frontal esquerdo. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA).

Tabela 3: Resultados: Avaliação Neuropsicológica			
Testes	Pré-ALA	Pós-ALA	Teste Estatístico
Teste de Trilhas			
Parte A			
Tempo(s)	109.67 (68.08)*	69.89 (36.18)*	t8 = 2.884, P = 0.020†
No Erros	3 (0–4.5)‡	0 (0–1.5)‡	Teste Wilcoxon, P=0,066
Teste de Trilhas			
Parte B			
Tempo(s)	231.78 (119.14)*	173.11 (87.62)*	t8 = 3.856, P = 0.005*
No Erros	4.11 (3.41)*	2.22 (2.05)*	t8 = 3.507, P = 0.008†
Span Dígitos;	8.56 (2.29)‡	14.11 (2.76)‡	t8 = -6.934, P = 0.0001†
Blocos de Corsi	9.00 (2.65)*	14.67 (4.63)*	t8 = -4.808, P = 0.001†
Fluência Verbal:			
Cat: Animais	11.89 (2.15)*	14.22 (3.53)*	t8 = -2.135, P = 0.065
FAS	14.44 (8.94)*	16.67 (7.94)*	t8 = -1.769, P = 0.115
* Média			
†P≤0,05.			
‡Mediana (interquartil, 25%-75%)			

11.3. Marcadores de Estresse Oxidativo

Encontramos uma redução significativa do TBARS/MDA, que são subprodutos da peroxidação lipídica, quando comparamos os resultados prévios do momento basal (262,80±48,80), com os resultados na 5ª visita clínica (195,77±47,92), com o uso prolongado do ácido lipoico. (Figura 29)

Os resultados dos níveis da glutathiona (GSH), praticamente, permaneceram estáveis sem alterações significativas nos momento Pré-ALA ($31,56 \pm 35,97-40,75$), em comparação com 5º atendimento Pós-ALA ($24,81 \pm 22,25-28,88$). Assim como também não observamos alterações significativas na análise dos níveis sericos de Nitrito, tanto nos momentos Pós-ALA ($1,63 \pm 0,84$) em relação ao momento basal Pré-ALA ($1,44 \pm 1,06$). (Figura 31)

Comparando valores na linha de base e após 4 meses de tratamento adjunto com ALA, também não encontramos diferenças significativa na circunferência abdominal no Pré-ALA, IMC, CBC, níveis de ALT e AST, HbA1c, ácido fólico, vitamina B₁₂, hs-CRP, GSH, nitrito , IL-1 β , IL-4, IFN e IDO (Figura 30-31-32)

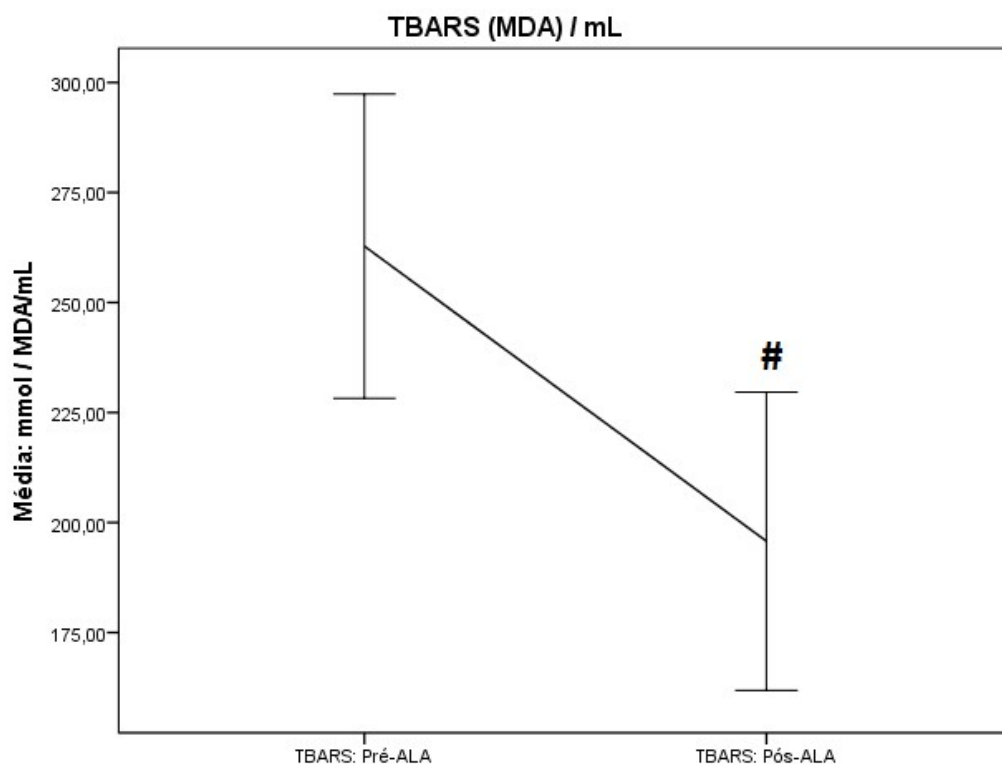


Figura 29. Níveis séricos de MDA / mL, marcador da atividade do TBARS em diferentes momentos. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra representa a média \pm erro padrão da média. # $p < 0,005$ em relação ao momento Pré-ALA. ($t_7=4,90$, $P=0,002$).

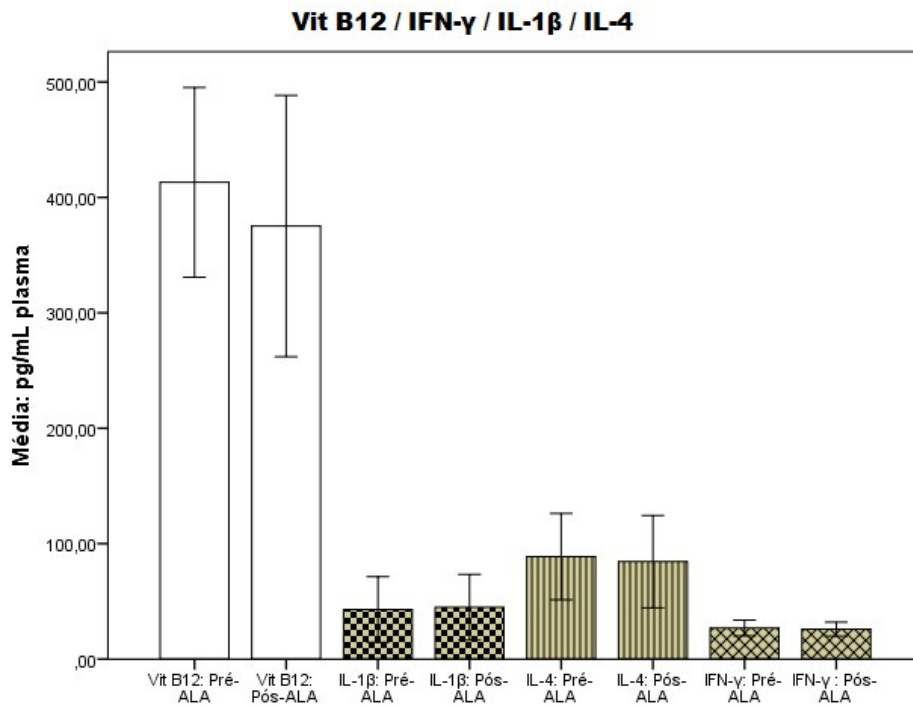


Figura 30. Níveis séricos de vitamina B₁₂, IL-1 β , IL-4 e IFN- γ em pacientes em diferentes momentos. Pontuação no nível basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA).

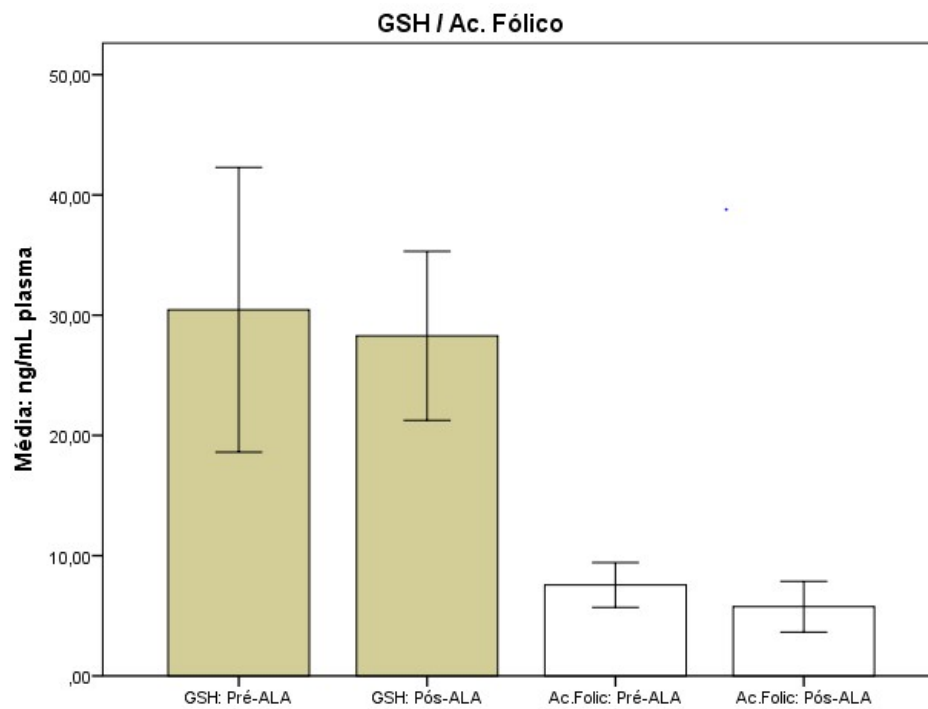


Figura 31: Níveis de GSH e Ácido fólico em pacientes em diferentes momentos. Níveis no momento basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra vertical representa a média \pm erro padrão da média.

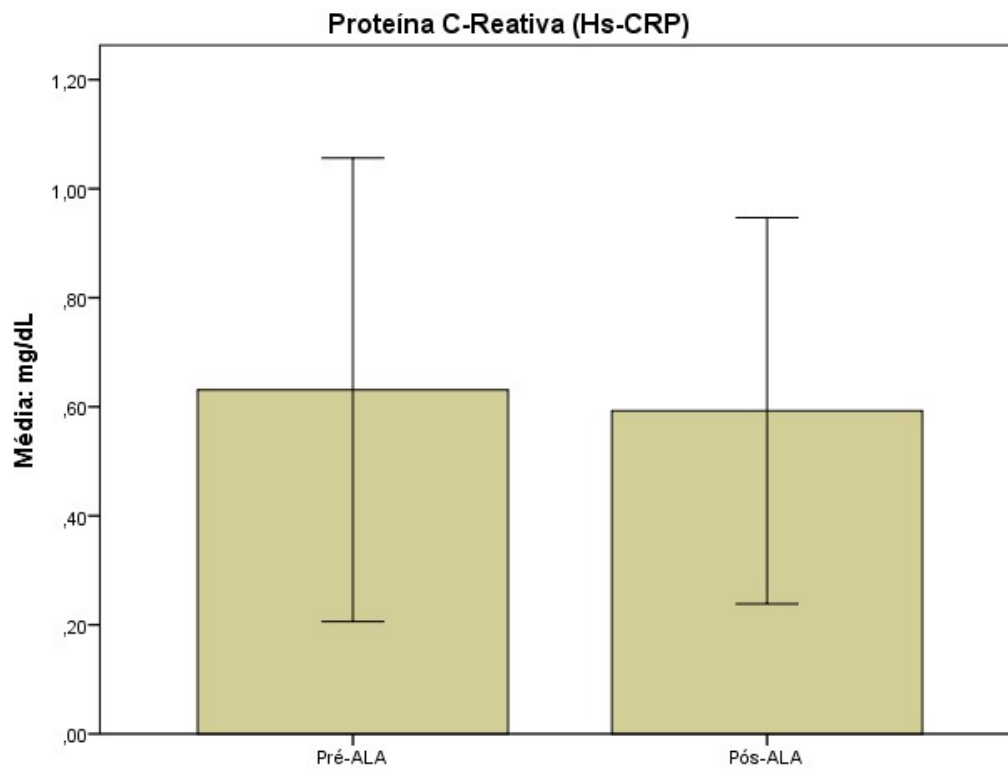


Figura 32: Níveis de proteína C-reativa (Hs-PCR) em pacientes em diferentes momentos. Níveis no momento basal (Pré-ALA), e após uso ALA, 100mg (v.o) (Pós-ALA). Cada barra vertical representa a média \pm erro padrão da média.

Tabela 4: Circunferência Abdominal / Índice de Massa Corporea / Parâmetros laboratoriais / Marcadores de Estresse Oxidativo

	Pré-ALA	Pós-ALA	Testes estatísticos; P(valores)
C.A cm	101.10(19,25)	100.80(18.56)	t9 = 0.217, P = 0.833
IMC Kg/m²	29.10(7.69)	29.38(7.33)	t9 = 0.712, P = 0.495
Hb, g/dL	14.73(7.69)	14.31(0.53)*	t9 = 1.294, P = 0.228
Ht, %	43.84(3.11)*	42.92(2.36)*	t9 = 1.289, P = 0.229
Gb, /μL	6950(1970.87)*	7280(2048.74)*	t9 = -0.839, P = 0.423
Nt, μL	4138.90(1259.85)*	4430.60(1247.37)*	t9 = -0.741, P = 0.478
ALT, U/L	31.10(6.92)*	37.30(37.30(18))*	t9 = -1.561, P = 0.153
ASP, U/L	31.10(6.92)*	36.30(9.77)*	t9 = -1.153, P = 0.279
Ác. Fólico, ng/mL	7.49(2.3)*	5.50(2.72)*	t9 = 2.362, P = 0.042‡
Vit B₁₂, pg/mL	387.51(135.69)*	364.64(169.12)*	t9 = 0.671, P = 0.519
Hs-CRP, mg/dL	0.631(0.672)*	0.593(0.560)*	t9 = 0.197, P = 0.848
GSH, ng/mL	31.56(35.97-40.75) T	24.81(22.25-28.88) ^T	Teste Wilcoxon, P=0,203
Nitrito, nM/mL	1.44(1.06)*	1.63 (0.84)*	t7 = -2.030, P = 0.098
TBARS, mmol of (MDA/mL)	262.80(48.90)*	195.77(47.92)*	t7 = 4.905, P = 0.002‡
IL-1β, pg/mL	42.88(37.71)*	44.87(37.74)*	t6 = -0.219, P = 0.834
IL-4, pg/mL	88.74(49.41)*	84.38(52.92)*	t6 = 0.312, P = 0.765
IFN-γ, pg/mL	26.01(8.78)*	25.57(7.43)*	t7 = 0.294, P = 0.777
IDO, U IDO min⁻¹ mg⁻¹	15.75(2.46)*	21.74(10.46)*	t7 = -1.561, P = 0.162

C.A=Circunferência Abdominal / IMC=Índice de Massa Corporea / Hb = Hemoglobina / Ht = Hematócrito / Gb = Glóbulos brancos / Nt = Neutrófilos / ALT = Alanina aminotransferase / ASP = Aspartato aminotransferase / Hs-CRP = Proteína C-Reativa / GSH = Glutaciona / IL-1β = Interleucinas -1 γ / IL-4 =Interleucinas 4 / IFN-γ = Interferón γ / IDO= Atividade endoleamina

12. DISCUSSÃO

12.1. Avaliação dos Sintomas Psiquiátricos: BPRS / SAS

A evolução dos principais sintomas da esquizofrenia, ao longo do intervalo de tempo decorrido do estudo, mostrou que houve reduções dos principais grupos de sintomas avaliados pela BPRS. Observamos reduções significativas dos sintomas negativos, relacionados a embotamento afetivo, retração social e pensamento desorganizado, no momento Pós-ALA da 5ª visita, em relação ao momento basal inicial. Da mesma forma, observamos redução significativa dos sintomas depressivos, relacionados a sentimento de culpa, retração motora e rebaixamento do humor, assim como os sintomas de excitação, relacionados à agressividade e hostilidade, após os 4 meses de uso contínuo de ALA, 100mg/ dia.

O uso de polimedicações pelos indivíduos participantes do estudo reflete uma realidade do plano terapêutico dos pacientes esquizofrênicos crônicos. Essa circunstância impossibilitou análises mais específicas referentes a interações do ALA com diferentes neurotransmissões.

Nossos achados, nesse estudo, foram ao encontro do estudo experimental realizado, anteriormente, que observou melhora nos testes de atividade locomotora em ratos, relacionada aos sintomas positivos, e principalmente em testes de preferência de interação social, relacionados aos sintomas negativos e desorganizados. Nesse estudo, o grupo de animais que foi submetido ao esquema de uso adjuvante do ácido Lipóico com a Clozapina, conseguiu melhores resultados com doses menores do mesmo antipsicótico atípico. Foi utilizado o modelo de indução por Ketamina (Vasconcelos et al., 2015).

Encontramos evidências de melhoras dos sintomas positivos e negativos em estudos experimentais com o uso de Melatonina em ratos, no mesmo modelo de indução por Ketamina (Onalapo et al., 2017; Galván et al., 2017; Araújo et al., 2017). Assim como ALA, a atividade antioxidante da Melatonina também encontra evidências na redução dos mecanismos envolvidos na peroxidação lipídica associados à persistência dos sintomas da esquizofrenia.

Aliado às diferentes análises quantitativas das escalas dos sintomas psiquiátricos, os relatos do cotidiano dos familiares e amigos dos pacientes usuários do ALA, durante o decorrer da pesquisa, foi de considerável relevância na manutenção da motivação da equipe de pesquisadores.

Não foram encontradas outras pesquisas clínicas com resultados sobre a persistência dos sintomas positivos e negativos na esquizofrenia pelo uso prolongado do ALA. As evidências, principalmente, de significativas melhoras dos sintomas negativos, encontradas nos dados dessa pesquisa, representam novas possibilidades de ganhos funcionais com retornos para atividades sociais e laborais para indivíduos com histórico crônicos de esquizofrenia.

Pela análise da escala de Sintomas Extrapiramidais Simpson Angus (SAS) observamos que houve significativa redução dos sintomas extrapiramidais entre os momentos Pré-ALA inicial e o Pós-ALA. Estes resultados reforçam evidências científicas relacionando a peroxidação lipídica no córtex estriado e o inibição do influxo de cálcio (Ca^{2+}) nessa via dopaminérgica (Avila et al., 2008).

Evidências semelhantes obtidas em pesquisas clínicas também não encontradas. Apenas estudos experimentais que, realmente, comprovam as melhoras das habilidades de controle motor, associadas à atividade dos gânglios basais (Lister et al., 2017)

12.2. Avaliação Neuropsicológica

No presente estudo, observamos que a melhora do desempenho cognitivo esteve presente nos escores de quase todos os testes que avaliaram as chamadas funções executivas no momento da reavaliação dos pacientes. Nessas habilidades há necessidade de intensa ativação das áreas do córtex pré-frontal, entre essas áreas estão: o córtex orbitofrontal, o dorsolateral e o cíngulo anterior.

Os resultados encontrados nos testes Span dígitos, nos Blocos de Corsi e evocação da aprendizagem verbal de Rey sugerem que houve melhora no processamento neurocognitivo das áreas do córtex pré-frontal dorsolateral bilateralmente. Esses resultados indicam que o ALA, durante os 4 meses de uso contínuo, melhorou as funções de memória de trabalho, nos subtipos verbal (alça-fonológica) no hemisfério cerebral esquerdo, e não-verbal (esboço visuo-espacial) no hemisfério direito. Esses resultados estão em congruência com os estudos experimentais do nosso grupo de pesquisadores.

No teste de trilhas (A, B) encontramos evidências que o uso contínuo do ALA, no período estudado, também promoveu melhora das habilidades neurocognitiva pré-frontais dorsolaterais e orbitofrontais direito. Na 5ª visita clínica, na fase de reteste da avaliação cognitiva, observamos uma redução de tempo de execução da tarefa do teste de trilhas A e B. Apesar da redução do tempo, com significância estatística, ter sido comprovada apenas no subtteste trilhas A, acreditamos que as exigências laborais da execução do subtteste trilhas B necessitem de maiores áreas do córtex de integração multimodais. Essas áreas de associação de informações com maior capacidade de

relacionar estímulos diferentes, talvez necessitem de um maior tempo de ajuste da neuroplasticidade.

Pelos resultados obtidos nos testes que avaliaram a fluência verbal (Categoria animais e FAS), observamos que a melhora no desempenho pós-ALA, ou seja, o aumento do número de resposta em relação ao momento pré-ALA, não foi significativo. Assim como os resultados encontrados no subtteste trilhas B, as áreas pré-frontais do cíngulo anterior e orbitofrontais, envolvidas com o processamento da linguagem (motora e compreensão), são áreas multimodais de integração de informações de estímulos variados.

Esses dados reforçam a hipótese de desconectividade do córtex pré-frontal, associado ao processo de hipomielinização decorrente do estresse oxidativo em pacientes esquizofrênicos. Essa desconectividade está relacionada a falhas na bainha de mielina de pacientes esquizofrênicos, durante a formação pelos oligodendrócitos e as suas células precursoras. Tanto os oligodendrócitos, como as suas células precursoras são susceptíveis ao estresse oxidativo. (Maas et al, 2017)

A redução funcional da bainha de mielina, pela deficiência do processo de mielinização da substância branca, está associado a redução da velocidade de condução do impulso nervoso e, conseqüentemente, diminuição do processamento cognitivo.

A mielinização da maioria das regiões cerebrais completa-se nos primeiros 5 anos, enquanto a mielinização das áreas de associação multimodais permanece em curso até os 30 anos, e após a estabilização dos níveis de mielina aos 50 anos, há um declínio. A mielinização cortical está positivamente correlacionada com o desempenho cognitivo ao longo da vida (Grydeland et al., 2013; Paus et al., 2005; Harris et al., 2009).

As disfunções metabólicas na maturação dos oligodendrócitos coincidem com o início relativamente tardio da mielinização do córtex pré-frontal na adolescência, e em congruência também com o intervalo do início dos primeiros sintomas de esquizofrenia. (Maas et al, 2017; Mirendil et al., 2015 / Ozyurt et al., 2014).

12.3. Marcadores de Estresse Oxidativo

Da mesma forma que outros estudos experimentais, incluindo o estudo do nosso próprio grupo de pesquisa, encontramos reduções significativas nos níveis séricos do produto da metabolização do TBARS (MDA) no plasma, reforçando a ação anti-inflamatória (Maczurek et al., 2008) e antioxidante (Biewenga; Haenen; bast, 1997; Macêdo et al., 2012b) do ácido α -lipóico (ALA) (Vasconcelos et al., 2015). A resposta de diminuição dos níveis de MDA, mostrou-se mais sensível a ação do ALA, que outros marcadores, como GSH, ácido fólico e a V_{12} .

Na análise do índice de massa corpórea (IMC) dos indivíduos observamos que houve uma predominância média correspondente ao sobrepeso ($29,10 \pm 7,69$) no momento basal (Pré-ALA), e ($29,38 \pm 7,33$) no momento da 5ª visita Pós-ALA dos pacientes. Os resultados não mostraram ganhos ou perdas de IMC significativas nos dois momentos. Há evidências de que o sobrepeso e a obesidade podem está associado à ativação de reações de estresse oxidativo. Indivíduos com $IMC \geq 25$, apresentaram aumento dos níveis de GSH peroxidase e TBARS (MDA) em pesquisas clínicas. (Selvakumar et al., 2012, Albuali et al., 2014). Resultados similares foram achados em pesquisas, utilizando o modelo experimental de obesidade em ratos (Haider et al., 2012, Javier et al., 2012).

Há evidências de que a vitamina B₁₂ participa do metabolismo do ácido fólico, ou seja, a deficiência de vitamina B₁₂ diminui a conversão do folato na sua forma reduzida e conseqüentemente a absorção do ácido fólico (Smith et al., 2008).

Não houve alterações significativas nessas duas variáveis do estudo, demonstrando que as associações entre a vitamina B₁₂ e o ácido fólico mantiveram-se constantes após quatro meses de uso do ALA.

13. CONCLUSÃO

Pelo relato da pesquisa, podemos concluir que o uso contínuo do ALA, como terapia adjuvante a antipsicóticos atípicos, nesse estudo clínico, conseguiu respostas terapêuticas similares aos estudos experimentais. Os resultados positivos referentes à funcionalidade cognitiva (memória de trabalho e funções executivas), assim como a diminuição de metabólitos relacionados ao estresse oxidativo (TBARS) estiveram presentes nos dois tipos de investigação metodológica, reforçando a proposta final em pesquisa translacional do grupo. A redução da frequência de sintomas negativos, e de agitação psicomotora, apesar de também terem sido observados nos estudos experimentais, representou uma importante evidência terapêutica. Os sintomas negativos possuem fortes características intersubjetivas, e são de difícil resposta com o uso de antipsicóticos atuais.

Há, entretanto, a necessidade de novas pesquisas referentes ao uso clínico prolongado e contínuo do ácido α -lipóico, sendo uma proposta de medicação adjuvante, e como uma forma de explicar diferentes polimorfismos nos pacientes afetados com esquizofrenia.

Nas próximas pesquisas faz-se necessário o delineamento de maiores rigores metodológicos, associados a métodos de mascaramentos entre os grupos de pesquisadores.

14. REFERENCIAS

- Addington et al. Reliability and validity of a depression rating scale for schizophrenics. *Schizophrenic Research*. Volume 6, Issue 3, March, Pages 201-208, 1992.
- Aguiar-Pulido V, Seoane JA, Rabuñal JR, Dorado J, Pazos A, Munteanu CR. Machine learning techniques for single nucleotide polymorphism--disease classification models in schizophrenia.. *Molecules*. Jul 12;15(7):4875-89, 2010.
- Albert H.C. Wong, Hubert H.M. Van Tol. The dopamine D4 receptors and mechanisms of antipsychotic atypicality. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. Volume 27, Issue 7, October, Pages 1091-1099, 2003.
- Aricioglu et al. Neuroinflammation in Schizophrenia: A Critical Review and The Future. *Bulletin of Clinical Psychopharmacology*. 26(4):429-37. 2016.
- Amminger GP, McGorry PD, Berger GE, Wade D, Yung AR, Phillips LJ, Harrigan SM, Francey SM, Yolken RH. Antibodies to infectious agents in individuals at ultra-high risk for psychosis. *Biol Psychiatry*. May 15;61(10):1215-7, 2007.
- Ashby B. Dopamine and schizophrenia. *Nature*. Dec 6;348(6301):493, 1990.
- Barret et al. Patterned neurocognitive impairment in first episode bipolar and schizophrenia. *The British journal of psychiatry. The journal of mental Science*. Jul 195(1) 67-72, 2009.

- Benros ME, Nielsen PR, Nordentoft M, Eaton WW, Dalton SO, Mortensen PB. Autoimmune diseases and severe infections as risk factors for schizophrenia: a 30-year population-based register study. *Am J Psychiatry*. Dec;168(12):1303-10. doi: 10.1176/appi.ajp.2011.11030516, 2011.
- Berridge, M.J. Dysregulation of neural calcium signaling in Alzheimer disease, bipolar disorder and schizophrenia. *Prion*. Jan 1; 7(1): 2–13. 2013.
- Bozikas et al, Neuropsychology profile of cognitively impaired patients with schizophrenia. *Comprehensive psychiatry*. Mar-April; 47(2) 136-43, 2006.
- Buka SL, Tsuang MT, Torrey EF, Klebanoff MA, Wagner RL, Yolken RH. Maternal cytokine levels during pregnancy and adult psychosis. *Brain Behav Immun*. Dec;15(4):411-20, 2001.
- Coon H, Jensen S, Holik J, Hoff M, Myles-Worsley M, Reimherr F, Wender P, Waldo M, Freedman R, Leppert M, et al. Genomic scan for genes predisposing to schizophrenia. *Am J Med Genet*. Mar 15;54(1):59-71, 1994.
- Darrick T. Balu, Joseph T. Coyle, Neuroplasticity signaling pathways linked to the pathophysiology of schizophrenia, In *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, Volume 35, Issue 3, 2011.
- Duchatel et al. White matter neuron biology and neuropathology in schizophrenia. *npj Schizophrenia*, 5:10, 2019.
- Deslauriers, J. et al. Preventive effect of α -lipoic acid on prepulse inhibition deficits in a juvenile two-hit model of schizophrenia. *Neuroscience*, v. 272, p. 261–70, 11 jul, 2014.

- DE ARAÚJO, D. P. et al. The contributions of antioxidante activity of lipoic acid in reducing neurogenerative progression of Parkinson's disease: a review. *The International journal of neuroscience*, v. 121, n. 2, p. 51–7, fev. 2011.
- Egan MF, Goldberg TE, Kolachana BS, Callicott JH, Mazzanti CM, Straub RE, Goldman D, Weinberger DR. Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Jun 5;98(12):6917-22. May 29, 2001.
- Egerton et al. Neuroimaging studies of GABA in schizophrenia: a systematic review with meta-analysis. *Transl Psychiatry*. Jun 6;7(6):e1147. 2017.
- Ekerholm et al. Neurocognitive function in long-term tread shizophrenia; a five-year follow-up study. *Psychiatry reserch*, Dec 30-200(2-3) 144-52, 2012.
- Farber NB, Newcomer JW, Olney JW. The glutamate synapse in neuropsychiatric disorders. Focus on schizophrenia and Alzheimer's disease. *Prog Brain Res.*;116:421-37. Review, 1998.
- Garver DL, Tamas RL, Holcomb JA. Elevated interleukin-6 in the cerebrospinal fluid of a previously delineated schizophrenia subtype. *Neuropsychopharmacology*. Aug;28(8):1515-20, 2003.
- Hakak Y, Walker JR, Li C, Wong WH, Davis KL, Buxbaum JD, Haroutunian V, Fienberg AA. Genome-wide expression analysis reveals dysregulation of myelination-related genes in chronic schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Apr 10;98(8):4746-51, 2001.
- Hall DJ, McCreadie RG. Obstetric complications in schizophrenia. *Br J Psychiatry*. Jul;165(1):119, 1994.

- Homes et al. Glutamate and dopamine in schizophrenia: an update for the 21st century. *J Psychopharmacol*. Feb;29(2):97-115. 2015.
- Hutton et al. Executive function in first episode shizophrenia. *Psychological Medicine*. 28(2), 462-73,1998.
- McGurk, Susan R. et al. Cognitive functioning, symptoms, and work in supported employment: a review and heuristic model. *Schizophrenia Research* , Volume 70 , Issue 2 , 147 – 173, 2006.
- Kane J, Honigfeld G, Singer J, Meltzer H. Clozapine for the Treatment-Resistant SchizophrenicA Double-blind Comparison With Chlorpromazine. *Arch Gen Psychiatry*;45(9):789–796, 1988.
- Kirino et al, 2017. Representativeness of clinical PET study participants with schizophrenia: A systematic review. *J Psychiatr Res*. May;88:72-79.. 2017.
- Molina, Vicente et al.Dorsolateral prefrontal cortex contribution to abnormalities of the P300 component of the event-related potential in schizophrenia *Psychiatry Research: Neuroimaging* , Volume 140 , Issue 1 , 17 – 26, 2005.
- Müller N, Myint AM, Krause D, Weidinger E, Schwarz MJ. Anti-inflammatory treatment in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. Apr 5;42:146-53, 2013.
- Nakata et al. Dopamine supersensitivity psychosis in schizophrenia: Concepts and implications in clinical practice. *J Psychopharmacol*. Dec;31(12):1511-1518. 2017.
- Perälä J, Suvisaari J, Saarni SI, Kuoppasalmi K, Isometsä E, Pirkola S, Partonen T, Tuulio-Henriksson A, Hintikka J, Kieseppä T, Härkänen T, Koskinen S,

- Lönnqvist J. Lifetime Prevalence of Psychotic and Bipolar I Disorders in a General Population. *Arch Gen Psychiatry*. 64(1):19–28, 2007.
- Perisco et al. Exclusion of close linkage between the synaptic vesicular monoamine transporter locus and schizophrenia spectrum disorders. [Am J Med Genet](#). Dec 18;60(6):563-5. 1995.
 - Kapur S, Remington G. Serotonin-dopamine interaction and its relevance to schizophrenia. *Am J Psychiatry*. Apr;153(4):466-76. 1996.
 - Kay, S. R., Fiszbein, A., & Opfer, L. A. The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) for Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 13(2), 261-276, 1987.
 - Kirkpatrick.B, Miller BJ.Inflammationand schizophrenia.SchizophrBull. Nov;39 (6):1174-9. doi: 10.1093/schbul/sbt141. Sep 26, 2013.
 - Pedersen MG, Stevens H, Pedersen CB, Nørgaard-Pedersen B, Mortensen PB. Toxoplasma infection and later development of schizophrenia in mothers. *Am J Psychiatry*. 2011 Aug;168(8):814-21. doi: 10.1176/appi.ajp.2011.10091351. Epub, May 2, 2011.
 - Simpson RJ. Role of GPs in service provision for people with schizophrenia. *Br J Psychiatry*. Dec;171:585-6, 1997.
 - Khandaker GM, Cousins L, Deakin J, Lennox BR, Yolken R, Jones PB. Inflammation and immunity in schizophrenia: implications for pathophysiology and treatment. *Lancet Psychiatry*. Mar; 2(3):258-270, 2015.

- Lenaz, G. Mitochondrial production of reactive oxygen species: Mechanisms and implication in humans pathology. *Biochemistry and Molecular Biology for Life Science*. 52: 159–164 , 2001.
- Maes M, Anderson G. Schizophrenia: linking prenatal infection to cytokines, the tryptophan catabolite (TRYCAT) pathway, NMDA receptor hypofunction, neurodevelopment and neuroprogression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. Apr 5;42:5-19, 2013.
- Meng T, Tiao, H. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) is a state biomarker of oxidative stress in bipolar patients in a manic phase. *Journal of Affective Disorders* 173 22–26, 2015.
- Mirnics et al. Molecular characterization of schizophrenia viewed by microarray analysis of gene expression in prefrontal cortex. *Neuron.*, Oct;28(1):53-67, 2000.
- McGurk et al. Cognitive functioning predicts outpatient service utilization in schizophrenia. *Ment Health Serv Res*. Sep;6(3):185-8. 2004.
- Reichenberg et al. Neuropsychological function and dysfunctions in schizophrenia and psychotic affective disorder. *Schizophrenia bulletin*; Sep35 (5);1022-29, 2009
- Selek, S. Savas HA, Gergerlioglu, HS. Bulbul, F. Uz, E. The course of oxide nitric and superoxide dismutase during treatment of bipolar depressive episode. *J.Affect Disord*. 107. 89-94. 2008.

- Sibley et al. D2 dopamine receptor protein location: Golgi impregnation-gold toned and ultrastructural analysis of the rat neostriatum. *J Neurosci Res.* Aug 1;38(5):551-64. 1994.
- Sherman MA, Lee S, Law R Haegens S, Thorn CA, Hämäläinen MS, Moore CI, Jones SR. Neural mechanisms of transient neocortical beta rhythms: Converging evidence from humans, computational modeling, monkeys, and mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Aug 16;113(33), 2016
- Sidhu A, Niznik HB. Coupling of dopamine receptor subtypes to multiple and diverse G proteins. *Int J Dev Neurosci.* Nov; 18(7): 669-77. 2000.
- Strous RD, Shoenfeld Y. Schizophrenia, autoimmunity and immune system dysregulation: a comprehensive model updated and revisited. *J Autoimmun.* Sep;27(2):71-80, 2006.
- Zhou et al. Characteristics and clinical correlates of prospective memory performance in first-episode schizophrenia. *Schizophrenia Research,* Mar 135(1-3). 34-9, 2012.
- Wilson JM, Sanyal S, Van Tol HH. Dopamine D2 and D4 receptor ligands: relation to antipsychotic action. *Eur J Pharmacol* Jun 26;351(3):273-86. Review, 1998.
- Yang et al. New Targets for Schizophrenia Treatment beyond the Dopamine Hypothesis. *Int J Mol Sci.* Aug 3;18(8), 2017.
-

- Yolken RH, Torrey EF. Are some cases of psychosis caused by microbial agents? A review of the evidence. *Mol Psychiatry*. May;13(5):470-9. Epub 2008.