UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA

Alana Caroline Costa

Determinação de fosfolípides plasmáticos nas doenças neuropsiquiátricas

São Paulo
2017

ALANA CAROLINE COSTA

Determinação de fosfolípides plasmáticos nas doenças neuropsiquiátricas

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para a obtenção do título
de Mestre em Ciências

Programa de Psiquiatria
Orientador: Prof. Dr. Wagner Farid Gattaz

São Paulo

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Costa, Alana Caroline

Determinação de fosfolípidos plasmáticos nas doenças neuropsiquiátricas / Alana Caroline Costa. -- São Paulo, 2017.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Psiquiatria.

Orientador: Wagner Farid Gattaz.

Descritores: 1.Doença de Alzheimer 2. Esquizofrenia 3.Comprometimento cognitivo leve 4.Transtorno bipolar 5.Biomarcadores 6.Plasma 7.Fosfolípidos

USP/FM/DBD-183/17

Costa AC. Determinação de fosfolípidos plasmáticos em doenças neuropsiquiátricas [mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 2017.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Aos meus pais.

Agradecimentos

À **Deus**. Olhando para minha história me deparo com uma infinidade de demonstrações da presença de Deus em minha vida. Os detalhes que tantas vezes passaram despercebidos, hoje como num quebra-cabeça completam-se. Em meu coração só tende a crescer a imensa gratidão por esse Deus de cuidados ilimitados comigo.

Ao **Prof. Dr. Wagner Farid Gattaz**, meu orientador. Um verdadeiro exemplo de competência, integridade e justiça. Obrigada pelas oportunidades, pela confiança e, principalmente, pelos ensinamentos.

À **Dra. Leda Leme Talib**, minha maior mentora científica. O mundo carece de mais gente como você, Chóia, que ama o que faz e entusiasmo cada ser que se aproxima a dar o melhor de si e não desistir jamais. Obrigada pela paciência, pelo colo e por ser tão mãe sempre. Isso realmente fez e continua fazendo muita diferença na minha jornada.

À **Helena Passarelli Giroud Joaquim Nadal**, meu maior espelho. Aquele espelho me lembra toda vez que é necessário pouco para ser verdadeiramente feliz. E neste pouco se torna indispensável. Sua presença me revela experiência e seu coração, sabedoria. Uma riqueza de valores e uma bondade muito bem conservada que a torna ainda mais querida, Heleninha. Melhor do que ter pra quem contar, é ter com quem contar. Obrigada pela presença irrestrita e pelo privilégio que é crescer ao lado de uma pequena gigante. Obrigada por nada mais e nada menos que tudo, até aqui.

Às minhas "irmãs": **Beide, Fruna, Jeje, Laurita, Namir e TamiTami**. Qualquer pessoa que te motiva a ser melhor, é alguém que vale a pena ter por perto. Vocês foram essenciais nestes anos de convivência. Obrigada pelas risadas, pelos conselhos e, claro, pelo companheirismo. Nenhuma de nós é tão boa quanto todas nós juntas.

Aos colegas do LIM-27, de um jeitinho especial à **Zelinda Garcia**, pelo carinho, disposição e auxílio nas coisas burocráticas; à **Edivani Pereira da Silva**, pelos melhores cafés, pelo zelo e por ser uma demonstração real de que nos pequenos frascos estão os melhores perfumes; à **Mislene Moreno**, pelo bom humor matinal, riso fácil, determinação e força inexplicáveis, que me faz repensar cada atitude minha e à **Sandra Cardoso** e **Luciana Rodrigues**, pela prontidão e atenção. Meus sinceros agradecimentos também à equipe clínica, em nome do Dr. **Martinus Van de Bilt** e Dr. **Orestes Forlenza**, que cuidam dos pacientes com amor pela profissão e pela ciência. Sem vocês tudo seria mais difícil.

À **Eliza** e **Isabel** do Programa de Pós-Graduação em Psiquiatria. O trabalho de vocês foi indispensável. Obrigada pela gentileza de sempre.

À **Waters Technologies do Brasil**, em especial ao **Danilo Pereira**. Obrigada pela inteligência, disponibilidade e experiência. O aprendizado dos dias de experimento foi imprescindível para eu me tornar mestre. Obrigada pelas horas e horas de resolução de problemas e ensinamento teórico-prático.

Ao **Bernardo Santos** e **André Tavares**, meus gurus da estatística. Obrigada por serem bússola e me mostrarem que em meio a tantos números e variáveis há um “modelo logístico” que norteia meu trabalho.

Aos meus pais, **Nalva** e **Ivair** e meu irmão, **Bruno**. Somos quatro, somos um. Meu sentimento mais lindo, minhas orações mais sinceras, meu sorriso mais franco. Descubro em mim, através de vocês, a capacidade de amar. Encontro em nós a força necessária para escolher, todos os dias, ser melhor. Desconheço o tamanho disto que sinto e tenho a plena certeza que o mesmo acontece em vocês. Afinal, vale lembrar: somos um, somos o eterno nós. Ohana!

À toda minha **família**. De uma forma particular à minha avó **Helena** e minha tia **Aninha**. Obrigada por sonhar e realizar comigo. Obrigada por ensinar e crescer comigo. Obrigada por cuidar e amadurecer comigo. Obrigada por plantar e colher comigo. Obrigada, simplesmente, por estar e ser comigo. Desde os primeiros dias da minha vida... Quando fiz do coração de vocês minha morada.

Aos meus **amigos** e **amigas**. Do Cabo Orange ao Chuí, passando pelo Tocantins, Bahia, Ceará, São Paulo (Capital, ABCD e Jaú), Santa Catarina e chegando ao Rio Grande do Sul. Obrigada por mesmo sem eu ter nada a oferecer, ainda assim escolherem do meu lado permanecer. Que grande generosidade da vida me permitir descobrir a força da unidade presente em nós, com ou sem a distância.

Ao **Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo** (IPq-HCFMUSP), em especial o **Laboratório de Neurociências** (LIM-27) e **equipe de manutenção**, pela estrutura e profissionais competentes que colaboraram para que este trabalho fosse realizado com êxito.

À **Fundação de Apoio À Pesquisa do Estado de São Paulo** (FAPESP – Processo 2014/20913-3), à **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior** (CAPES) e à **Associação Beneficente Alzira Denise Hertzog da Silva** (ABADHS) pelo apoio financeiro à esta pesquisa.

“Para se tornar verdadeiramente grande é preciso estar ao lado das pessoas e não acima delas” – Ao lado de cada um de vocês me torno hoje no que eu sempre sonhei. Obrigada!

*"Para ser grande, sê inteiro:
Nada teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa.
Põe quanto és no mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda brilha porque alta vive."*

Ricardo Reis

Normalização Adotada

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journal Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Sistema Integrado de Bibliotecas. *Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP – Parte IV (Vancouver)*. Elaborado por Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro (coordenadora), Maria Cláudia Pestana, na Cavarette Dziabas, Eliana Maria Garcia, Maria Fátima dos Santos, Maria Marta Nascimento e Suely Campos Cardoso. 3ª ed revisada, ampliada e modificada. São Paulo: Sistema Integrado de Bibliotecas; 2016.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com o *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
1.1.	Biomarcadores em doenças neuropsiquiátricas.....	2
1.2.	Metabolômica na busca de biomarcadores em doenças neuropsiquiátricas...	3
1.3.	Membranas lipídicas e transtornos psiquiátricos	5
1.3.1	Glicerofosfolípides.....	6
1.3.2	Esfingolípides	8
1.3.3	Acilcarnitinas	9
1.4.	Lípides na doença de Alzheimer.....	11
1.5.	Lípides na esquizofrenia	15
1.6.	Lípides no transtorno bipolar	18
2.	OBJETIVOS.....	21
3.	DESENHO	22
4.	MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1.	Casuística	23
4.2.	Obtenção do plasma	25
4.3.	Preparo de amostra.....	25
4.4.	Análises das amostras	26
4.5.	Análise estatística.....	28
5.	RESULTADOS.....	30
5.1.	Grupo de demências	30
5.2.	Grupo de psicoses.....	45
6.	DISCUSSÃO	57
	ANEXOS.....	81
	APÊNDICES.....	83

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação da membrana plasmática.	5
Figura 2. Representação de uma fosfatidilcolina	7
Figura 3. Esquematização de um experimento realizado por FIA.....	27
Figura 4. Representação de um cromatograma de FIA	28
Figura 5. Concentração de acilcarnitinas em pacientes com demência e controles. 33	
Figura 6. Concentração de acilcarnitinas em pacientes com demência e controles. 34	
Figura 7. Concentrações de fosfolípides em pacientes com demência e controles.. 35	
Figura 8. Concentrações de fosfolípides em pacientes com demência e controles.. 36	
Figura 9. Concentrações de esfingomielinas em pacientes com demência e controles	37
Figura 10. Concentrações de lisofosfolípides em pacientes com demência e controles	38
Figura 11. Concentrações dos metabólitos diferentemente expressos em pacientes CCL conversores e não conversores para DA.	39
Figura 12. Concentração do metabólito diferentemente expresso em pacientes CCL antes (T0) e depois da conversão para DA (T1).	40
Figura 13. Curva de acurácia para cada variável adicionada ao modelo de floresta aleatória para o grupo demência.	41
Figura 14. Dispersão dos metabólitos LPC a C26:0 (a), C14:1 (b), C12-DC (c) e PC aa C26:0 (d) entre o grupo de demências obtidas a partir do modelo multinomial <i>stepwise</i>	42
Figura 15. Árvore de decisão do grupo de demências	44
Figura 16. Concentrações de lisofosfolípides em pacientes com psicoses e controles	48
Figura 17. Concentrações de fosfolípides em pacientes com psicoses e controles . 49	
Figura 18. Concentrações de fosfolípides em pacientes com psicoses e controles . 50	
Figura 19. Concentrações de fosfolípides em pacientes com psicoses e controles . 51	
Figura 20. Concentrações de esfingomielina e acilcarnitinas em pacientes com psicoses e controles.....	52
Figura 21. Concentrações de acilcarnitinas em pacientes com psicoses e controles	53
Figura 22. Curva de acurácia para cada variável adicionada ao modelo de floresta aleatória para o grupo demência.	54
Figura 23. Dispersão dos metabólitos LPC a C26:0 (a) e LPC a C28:1 (b) para o grupo de psicoses obtidas a partir do modelo multinomial <i>stepwise</i>	55
Figura 24. Árvore de decisão do grupo de psicoses.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados demográficos dos indivíduos idosos recrutados.....	24
Tabela 2 - Dados demográficos dos indivíduos jovens recrutados.....	24
Tabela 3 - Concentrações em nanomolar (nM) dos metabólitos (média $\pm$ desvio padrão) diferentemente expressos entre idosos.....	30
Tabela 4 - Concentrações em nanomolar (nM) dos metabólitos (média $\pm$ desvio padrão) diferentemente expressos entre jovens	45

LISTA DE SIGLAS

a	Ligação acil
aa	Ligação diacil
ACs	Acilcarnitinas
ae	Ligação acil-alquil
AG	Ácidos graxos
apoE	apolipoproteína E
APP	<i>Amyloid Precursor Protein</i> - Proteína Precursora do Amiloide
A β	Peptídeo β -amiloide
CAMCOG	Teste Cognitivo de Cambridge
CART	<i>Classification And Regression Tree</i> – Árvore de decisão
CCL	Comprometimento Cognitivo Leve
CID 10	Classificação Internacional de Doenças v.10
DA	Doença de Alzheimer
dp	Desvio padrão
DSM-IV	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FIA	<i>Flow Injection Analysis</i> – Análise por injeção em fluxo
HAM-D	<i>Hamilton Depression Rating Scale</i>
kDA	Kilodalton
LC	<i>Liquid Chromatography</i> – Cromatografia Líquida
LCAT	Lecitina: Colesterol aciltransferase
LIM - 27	Laboratório de Neurociências
LPC	Lisofosfatidilcolina
m/z	Relação massa/carga
MEEM	Mini Exame do Estado Mental
MS/MS	Espectrometria de massas em <i>tandem</i>
NIH	<i>National Institute of Health</i>
nM	Nanomolar
OMS	Organização Mundial da Saúde

PANSS	<i>Positive and Negative Syndrome Scale</i>
PC	Fosfatidilcolina
PLA ₂	Fosfolipase A ₂
PO ₄	Fosfato
PUFAs	Ácidos Graxos Poliinsaturados
RF	<i>Random Forest</i> – Floresta aleatória
rpm	Rotação por minuto
SCZ	Esquizofrenia
SNC	Sistema Nervoso Central
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
TB	Transtorno Bipolar
YMRS	<i>Young Mania Rating Scale</i>

RESUMO

Costa AC. *Determinação de fosfolípidos plasmáticos nas doenças neuropsiquiátricas* [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2017.

Os fosfolípidos e moléculas relacionadas compreendem 60% da porção não aquosa do cérebro e são os principais constituintes das membranas de células neuronais e gliais. Os fosfolípidos são essenciais para todas as células vivas e, portanto, mudanças no seu metabolismo podem influenciar o organismo. Alterações no metabolismo de fosfolípidos estão envolvidas em inúmeras doenças neuropsiquiátricas incluindo a doença de Alzheimer, esquizofrenia e o transtorno bipolar. Neste trabalho, tivemos por objetivo compreender a composição lipídica de metabólitos relacionados à membrana de pacientes com diferentes doenças neuropsiquiátricas. Para isto, utilizamos Análise por Injeção em Fluxo (FIA) acoplado à espectrometria de massas, uma metodologia analítica robusta que proporciona um perfil completo das substâncias em matrizes complexas. Para interpretação dos resultados, usamos o método estatístico CART – *Classification and Regression Tree*. Encontramos 4 metabólitos que são capazes de distinguir pacientes com TB de pacientes com SCZ e outros 3 metabólitos que, juntos, são capazes de diferenciar indivíduos com CCL e DA. Esses resultados evidenciam o potencial dos fosfolípidos de membrana como biomarcadores que podem auxiliar na confirmação diagnóstica e elucidação de mecanismos fisiopatológicos das doenças estudadas.

Descritores: doença de Alzheimer; esquizofrenia; comprometimento cognitivo leve; transtorno bipolar; biomarcadores; plasma; fosfolípidos.

ABSTRACT

Costa AC. *Determination of plasma phospholipids in neuropsychiatric disorders* [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2017.

Phospholipids and related molecules comprise 60% of the non-aqueous portion of the brain and are the major constituents of neuronal and glial cell membranes. Phospholipids are essential for all living cells and therefore changes in their metabolism can influence the organism. Changes in phospholipid metabolism are known to be involved in numerous neuropsychiatric disorders including Alzheimer's disease, schizophrenia and bipolar disorder. In this way, we aimed to understand the lipid composition of membrane-related metabolites of patients with different neuropsychiatric diseases. For this, we use Flow Injection Analysis (FIA) coupled with mass spectrometry, a robust analytical methodology that provides a complete profile of the substances in complex matrices. To interpret the results, we chose to perform the CART method - Classification and Regression Tree. We found 4 metabolites that are able to distinguish TB patients from patients with SCZ and 3 other metabolites that together are able to differentiate individuals with CCL and AD. These results show us the potential of membrane phospholipids as diagnostic biomarkers, which may aid in the diagnostic confirmation and elucidation of pathophysiological mechanisms of the diseases studied.

Descriptors: Alzheimer's disease; schizophrenia; mild cognitive impairment; bipolar disorder; biomarkers; plasma; phospholipids.

1. INTRODUÇÃO

Os transtornos mentais como transtorno depressivo maior, transtorno bipolar, esquizofrenia e doença de Alzheimer acometem milhões de pessoas. De acordo com a Organização Mundial de Saúde, doenças neuropsiquiátricas atingem 13% da população mundial ficando a frente de doenças cardiovasculares e câncer, por exemplo (OMS, 2016). A compreensão da fisiopatologia desses transtornos permanece limitada. Uma razão para isso é o fato de que a maioria dos transtornos mentais provavelmente não serem condições únicas, mas sim um complexo de alterações neurobiológicas que estão por serem identificadas. Os transtornos psiquiátricos têm em comum a dificuldade no diagnóstico, que atualmente é essencialmente clínico. Assim, há uma necessidade de ampliar os conhecimentos dos transtornos neuropsiquiátricos para reconhecer as alterações que podem contribuir para a patogênese dessas doenças.

Alterações no metabolismo lipídico têm sido descritos em diferentes doenças neuropsiquiátricas, incluindo a doença de Alzheimer (DA), esquizofrenia (SCZ) e o transtorno bipolar (TB). Determinar o perfil lipídico plasmático pode auxiliar na elucidação de mecanismos fisiopatológicos, e também na procura por candidatos a biomarcadores específicos para esses transtornos.

Com a natureza complexa e heterogênea das doenças neuropsiquiátricas, é pouco provável que um único biomarcador possa representar totalmente o fenótipo da doença, enquanto que a combinação de múltiplos biomarcadores pode refletir de forma mais abrangente a etiologia destas desordens, e, portanto, proporcionar uma melhor visão dos processos biológicos (Glenn, 2009; Boksa, 2013).

Em um estudo recente, Mapstone e colaboradores (2014) descreveram um conjunto de fosfolípidos que podiam prever a conversão de pacientes saudáveis para um estágio de déficits cognitivos, seja ele, comprometimento cognitivo leve (CCL) ou DA. Os autores sugeriram que esse painel de fosfolípidos, importantes na integridade da membrana celular, poderia ser útil na detecção precoce da DA. Esses resultados corroboram estudos do nosso grupo nos quais encontramos que pacientes com CCL que converteram para DA apresentaram uma diminuição da atividade da fosfolipase A₂ (PLA₂), principal enzima responsável pelo metabolismo destes fosfolípidos, em relação a indivíduos que não converteram para DA (Gattaz et al., 2014).

Tanto o estudo de Mapstone (2014), como os outros que se seguiram (Klavins et al., 2015; Fiandanca et al., 2015; Casanova et al., 2016; Oberacher et al., 2017) vêm utilizando um kit híbrido que permite determinar 188 metabólitos, dentre eles glicerofosfolípides, lisofosfolípides, esfingolípides, acilcarnitinas, aminas biogênicas e aminoácidos. Todavia todos os estudos têm focado apenas em DA e CCL. Com este estudo olhamos de uma maneira mais ampla para DA, CCL e outras desordens, que possivelmente apresentam alterações no metabolismo de fosfolípides, como a SCZ e o TB (Gattaz et al., 2004; Farooqui et al., 2000; Schaeffer et al., 2012).

Este estudo visa investigar se alterações do perfil lipídico de membrana, medido no plasma, pode permitir uma discriminação entre pacientes com DA, CCL, SCZ e TB, sugerindo assim uma especificidade dos achados para as doenças estudadas.

1.1. Biomarcadores em doenças neuropsiquiátricas

A identificação de biomarcadores para doenças neuropsiquiátricas tem se tornado uma área de grande interesse da comunidade científica. Em 1998, o NIH (*National Institute of Health*) descreveu como biomarcador uma "característica que é objetivamente mensurável e avaliada como um indicador de cursos biológicos normais, progressões patológicas ou respostas farmacológicas para uma intervenção terapêutica" (Aronson, 2005; Strimbu e Tavel, 2010). Acredita-se que estes biomarcadores possam auxiliar na detecção de grupos de risco, na elucidação de mecanismos fisiopatológicos das doenças, no desenvolvimento de terapias e monitorização dos pacientes (Bahn et al., 2013; Vargas, 2014). Assim sendo, alterações específicas e mensuráveis por exames de imagem e laboratoriais podem ser consideradas biomarcadores.

A grande dificuldade na busca por estes biomarcadores em doenças neuropsiquiátricas reside na inacessibilidade do alvo principal dos estudos: o cérebro. Uma alternativa conveniente e bastante utilizada na pesquisa é o tecido *post mortem*, porém modificações decorrentes do processo patológico, do tratamento e do óbito podem interferir diretamente nos níveis e distribuição dos metabólitos. Isto posto, faz-se necessário encontrar em matrizes periféricas algum padrão que reflita o que está

acontecendo no Sistema Nervoso Central (SNC) a fim de elucidar mecanismos fisiopatológicos e, até mesmo, propor novos alvos terapêuticos.

1.2. Metabolômica na busca de biomarcadores em doenças neuropsiquiátricas

Dado o avanço tecnológico, atualmente é possível identificar e quantificar moléculas com capacidade relevante sobre os mecanismos fisiopatológicos de diversas doenças. Biomarcadores podem ser determinados em diversos níveis celulares, como genes, RNAs, proteínas e metabólitos. O metaboloma consiste num conjunto diversificado de biomoléculas que são produtos finais da transcrição, tradução e atividade de proteínas. Metabolômica, que inclui o subcampo lipidômica, é o campo da ciência que busca compreender o metaboloma humano, sendo que este compreende moléculas de baixo peso molecular (<1 kDa) envolvidas em reações metabólicas diversas (Ellis et al., 2007). Nesta área, potenciais biomarcadores metabólicos podem ser mensurados em diferentes matrizes biológicas, como líquido, sangue, urina ou saliva (Bogdanov et al., 2008; Zhang et al., 2009; Kaddurah-Daouk and Krishnan, 2009) e podem ser indicadores de traços (ou marcadores de risco), estado ou progressão da doença.

A metabolômica está ganhando notoriedade no estudo de doenças neuropsiquiátricas (Kurita et al., 2015; Sethi e Brietzke, 2016) pelo seu potencial de diferenciar controles saudáveis de pacientes. Nos últimos anos diversos estudos têm se voltado para a busca de biomarcadores lipídicos. Mapstone e colaboradores (2014) sugeriram o uso de um grupo de dez fosfolípidos capaz de prever a conversão de pacientes cognitivamente saudáveis para um estado com déficits cognitivos, seja CCL ou DA. Esses estudos trouxeram à luz uma linha de pesquisa já difundida pelo nosso grupo e outros grupos importantes no cenário científico, que trata-se de alterações no metabolismo dos fosfolípidos de membrana nos transtornos psiquiátricos (Gattaz et al., 1987; McClure et al., 1994; Horrobin e Bennett, 1999; Fenton et al., 2000; Richardson e Ross, 2000; Mahadik e Evans, 2003; duBois et al., 2005; Barbosa et al., 2007; Forlenza et al., 2007; Gattaz et al., 2011; Schaeffer et al., 2012; Müller et al., 2015).

Métodos como a microdiálise cerebral, utilizada para perfundir áreas cerebrais locais e obter um perfil metabólico localizado, assim como a coleta de líquido, já foram realizados (Bianchi et al., 2004; Wibom et al., 2010). No entanto, ambos são procedimentos invasivos. Estudos com neuroimagem funcional, um método não invasivo no qual é possível verificar *in vivo* o cérebro de pacientes acometidos com qualquer doença, tem possibilitado algum avanço na compreensão do comportamento dos metabólitos em pacientes com SCZ (Batalla et al., 2015), DA (Chatterjee et al., 2016), TB (Malhi et al., 2007; Soeiro-de-Souza et al., 2015), depressão (Zheng et al., 2012; Xu et al., 2013), Esclerose Lateral Amiotrófica e Parkinson (Jové et al., 2014). Agora é importante saber se estes metabólitos se comportam do mesmo modo em matrizes periféricas para que sua determinação seja mais acessível.

O plasma é um fluido alternativo à estas matrizes por ser facilmente obtido e interagir com todos os tecidos, proporcionando uma integração entre o SNC e periférico. É importante ressaltar a facilidade e conveniência na obtenção do plasma, características importantes de uma matriz biológica na busca por candidatos a biomarcadores. Alguns estudos propõe o plasma como uma boa matriz biológica para o estudo da metabolômica com resultados satisfatórios (Bahn et al., 2011; Guest et al., 2015). Um bom exemplo é um estudo publicado recentemente para o qual foi injetado o peptídeo β -amiloide ($A\beta$) intracerebroventricular em ratos e feita a dosagem deste peptídeo em plasma, sendo encontradas quantidades equivalentes as injetadas (Cho et al., 2014).

Abordagens com espectrometria de massas (MS) são algumas das plataformas mais robustas atualmente para fornecer dados quantitativos e estruturais sensíveis para amostras biológicas complexas (Wong et al., 2017; Koal e Deigner, 2010; Dudley et al., 2010; Mishur e Rea, 2012). A técnica analítica de MS promove a caracterização de moléculas por meio da determinação da relação massa/carga (m/z) de íons (IUPAC Gold Book). Em virtude do alto grau informativo das análises, MS pode ser utilizada tanto qualitativamente (para identificação de composição elementar de compostos e elucidação estrutural) quanto para análises quantitativas, em geral onde se busca determinar analitos em níveis de traços em matrizes complexas (Lacina et al., 2010).

1.3. Membranas lipídicas e transtornos psiquiátricos

Os lipídes desempenham um papel essencial na função neuronal e plasticidade do cérebro. A composição lipídica do cérebro influencia substancialmente a percepção, o humor e o comportamento (Brown e Murphy, 2009). Um grande número de lipídios pode ser encontrado na membrana plasmática regulando sua função. Além disso, também podem determinar a localização e função das proteínas de membrana, regular a taxa de transferência sináptica, influenciar os processos de exo e endocitose, trabalhar como segundos mensageiros e estão diretamente envolvidos na sinalização celular (Fahy et al., 2005; 2009; Chevaleyre et al., 2006; Regehr et al., 2009). A membrana plasmática é constituída de uma matriz anfifílica formada por uma bicamada lipídica na qual proteínas estão ancoradas de diferentes maneiras (Figura 1) (Danielli e Davson, 1935; Singer e Nicolson, 1972).

Figura 1. Representação da membrana plasmática.

Fonte: Adaptado de <http://www.proprofs.com/quiz-school/story.php?title=anatomy-physiology-chapter-3>

As membranas celulares de mamíferos são constituídas de diferentes classes lipídicas: glicerofosfolípides, esfingolípides e colesterol. As proporções relativas destes componentes variam dependendo do tipo de células e do tipo de membrana (van Meer et al., 2008; Gallala et al., 2011). As classes de lipídios contribuem diferencialmente

ao conjunto da bicamada e às exigências estruturais das membranas biológicas (van Meer et al., 2008). As classes de lípides também diferem na sua capacidade de interagir com proteínas incorporadas na membrana. A associação de proteínas com a superfície da membrana intracelular é essencial para uma ampla variedade de funções celulares.

Os glicerofosfolípides e moléculas afins compreendem 60% da porção não aquosa do cérebro e em uma proporção até maior dos dendritos e sinapses. São os maiores constituintes das membranas de células neuronais e gliais, das membranas de vesículas sinápticas, do retículo endoplasmático nuclear, das membranas das mitocôndrias e do complexo golgiense. No entanto, a bicamada lipídica não é composta exclusivamente de glicerofosfolípides, havendo também a presença de colesterol, proteínas e outros lípides, como por exemplo, os esfingolípides. Além disso, outros metabólitos influenciam diretamente no seu funcionamento e remodelação, como as acilcarnitinas.

A fluidez das membranas celulares deve ser regulada com precisão e é dependente da sua composição fosfolipídica, temperatura e remodelação. Uma parte dos processos bioquímicos ocorre na região de membrana, fazendo desta região um importante alvo de estudos. Alguns processos de transporte de membrana e atividades enzimáticas, por exemplo, tem sua ação dependente da fluidez da membrana.

1.3.1 Glicerofosfolípides

Os glicerofosfolípides contêm uma molécula de glicerol como componente básico e a este estão esterificados um grupo fosfato (PO_4) na posição sn-3 e dois ácidos graxos (AG) nos dois carbonos remanescentes. Na posição sn-1, geralmente encontra-se um AG saturado e na sn-2 um AG insaturado. O grupo fosfato pode ser esterificado com colina, serina, etanolamina ou inositol, dando origem a diferentes fosfolípides. O glicerol e o PO_4 ligado a uma base (etanolamina, colina, serina ou inositol), formam a cabeça polar (hidrofílica), e os ácidos graxos esterificados formam a cauda apolar (hidrofóbica) dos fosfolípides (Figura 2).

Figura 2. Representação de uma fosfatidilcolina

Fonte: Adaptado de <http://www.datuopinion.com/fosfatidilcolina>

Essa característica anfifílica dos fosfolípides é que os induz a permanecerem juntos formando uma bicamada, com a porção hidrofóbica voltada para o interior da membrana e a porção hidrofílica para a camada externa (Fenton et al., 2000; Horrobin, 2003; Peterson e Cummings, 2006). A nomenclatura dos fosfolípides é dada de acordo com o número de carbonos da cadeia longa e a quantidade de duplas ligações da molécula. O tipo de ligação que ocorre entre o PO_4 e o grupo polar esterificado ao carbono sn-3 também é mostrado logo após a sigla do fosfolípide. Por exemplo, a fosfatidilcolina (PC) com ligação diacil com uma cadeia de 24 carbonos e 4 insaturações é abreviada como PC aa C24:4.

As PCs são componentes essenciais das membranas celulares e representam cerca de 95% do conjunto total de glicerofosfolípides (Frisardi et al., 2011). Elas têm em comum a estrutura, com cadeias hidrofóbicas que variam em comprimento e grau de saturação, podendo essas características afetar a fluidez da membrana (Perttu et al., 2012). À partir dos fosfolípides, uma gama de mediadores lipídicos são liberados, como eicosanóides, lisofosfolípides, fatores de ativação de plaquetas ou diacilglicerídeos, que exercem diversos efeitos nas atividades funcionais celulares

incluindo homeostase celular, resposta imune, estresse oxidativo e neuroinflamação (Bazan, 2005).

Os AGs presentes nos fosfolípides podem ser de diferentes tipos dependendo do tamanho da cadeia de carbono, do número de duplas ligações, da posição dessas duplas ligações e da configuração dessas duplas ligações (*cis* ou *trans*). O grau de insaturação dessas moléculas determina o arranjo espacial bem como a fluidez da membrana (Horrobin, 2003). De uma maneira geral, AGs com maior número de duplas ligações (insaturados) conferem aos fosfolípides propriedades de angulação, maior flexibilidade e mobilidade (Schaeffer *et al.*, 2005; Eckert *et al.*, 2011), conectividade e liberação de neurotransmissores (Schaeffer e Gattaz, 2008). Porém, um excesso de AG com alto grau de instauração também pode prejudicar o perfeito funcionamento desta.

O conteúdo específico dos AGs essenciais na membrana pode modificar o funcionamento neuronal e produzir efeitos clínicos por meio de dois mecanismos: (1) mudanças no conteúdo desses AGs alteram o micro-ambiente das membranas e, conseqüentemente, a estrutura e função de receptores, canais iônicos e enzimas; (2) os AGs essenciais contribuem para a regulação celular por atuar como uma fonte de precursores para segundos mensageiros na transdução de sinais intra e intercelulares, o que aumenta sua relevância para a neurotransmissão (Agranoff *et al.*, 1999; Fenton *et al.*, 2000).

A síntese dos fosfolípides se dá a partir da ligação dos AGs às moléculas de carbono do glicerol, pela ação dos sistemas enzimáticos da aciltransferase e da transacilase que, juntamente com as PLA₂, são responsáveis pela remodelação dos fosfolípides, processo que ocorre durante todo o tempo de vida da membrana celular e é crucial para a manutenção da homeostase celular (Horrobin *et al.*, 1994).

1.3.2 Esfingolípides

Os esfingolípides são expressos em alta abundância e complexidade no cérebro (Schnaar, 2010; Vajn *et al.*, 2013), desempenhando um papel importante na função da mielina, revestindo e isolando eletricamente os axônios das células nervosas e dando estabilidade aos neurônios (Coetzee *et al.*, 1996). Eles são sintetizados à partir

da ceramida e os principais esfingolípidos presentes em membranas de mamíferos são as esfingomielinas e os glicosfingolípidos (Lahiri e Futerman, 2007).

A quantificação de esfingolípidos no tecido cerebral humano fornece evidências diretas para o envolvimento destes metabólitos em transtornos neuropsiquiátricos. Aumento dos níveis de ceramidas foram encontrados na substância branca de pacientes com TB (Schwarz et al., 2008). Níveis plasmáticos elevados de ceramidas foram encontrados em pacientes com diagnóstico de depressão maior (Gracia-Garcia et al., 2011). Em pacientes com doença de Parkinson, várias espécies de esfingolípidos no plasma foram positivamente associadas com sintomas depressivos (Mielke et al., 2013). Além disso, alterações no metabolismo de esfingolípidos já foi associado à sintomas depressivos e ansiosos (Demirkan et al., 2013).

A escassez de estudos em outras doenças neuropsiquiátricas que não a depressão faz com que a compreensão do metabolismo de esfingolípidos ainda seja insuficiente. Todos os estudos que investigam o metabolismo dos esfingolípidos em matrizes periféricas em pacientes com sintomas depressivos têm encontrado um aumento destes metabólitos. No entanto, é provável que o metabolismo dos esfingolípidos também esteja alterado no cérebro de pessoas com outras doenças neuropsiquiátricas, como esquizofrenia e doença de Alzheimer. As ceramidas e os esfingolípidos podem ser o elo para unificar diversas constatações nas doenças neuropsiquiátricas, como a redução da neurogênese, aumento do risco cardiovascular e aumento de marcadores de inflamação e estresse oxidativo (Kornhuber et al., 2014).

1.3.3 Acilcarnitinas

A carnitina está presente nas células de mamíferos na forma de carnitina livre e acilcarnitinas (ACs). As ACs são compostos endógenos presentes na maioria dos tecidos humanos e suas principais funções fisiológicas são: o transporte de AG de cadeia longa até a mitocôndria para β -oxidação com posterior formação de acetilcoA; e esterificação de metabólitos potencialmente tóxicos (Jones et al., 2010; Reuter e Evans, 2012). Esses metabólitos podem ser transportados da mitocôndria para o citosol, proporcionando uma gama de funções extra-mitocondriais além daquelas amplamente divulgadas. Dados recentes indicam novas funções multifatoriais para ACs

em neuroproteção, melhoria da função energética mitocondrial, atividade antioxidante, estabilização das membranas, modulação de proteínas e aumento da neurotransmissão colinérgica (Pettegrew et al., 2000; Virmani et al., 2004; Nalecz et al., 2004; Zanelli et al., 2005; Calabrese et al., 2006).

A carnitina e ACs são encontradas em menores concentrações em cérebro quando comparada com tecidos periféricos (Bresolin et al., 1982; Nalecz et al., 2004). Os neurônios de um adulto contém cerca de 80% de carnitina livre, 10-15% de AC de cadeia curta e menos de 10% de AC de cadeia longa (Wawrzenczyk et al., 1995). A carnitina acumula-se nos neurônios do córtex cerebral dando origem às acilcarnitinas já que as enzimas necessárias para a síntese destes metabólitos estão presentes no tecido cerebral (Rebouche e Engel, 1980; Bird et al., 1985; Miecz et al., 2008).

A carnitina também pode ser transportada para o cérebro através da BHE por meio de dois transportadores: OCTN2, um transportador dependente de Na^+ , presente em células endoteliais cerebrais (Kido et al., 2001), e ATB, um transportador de aminoácido expresso no hipocampo (Sloan e Mager, 1999; Nakanishi et al., 2001). O déficit de ACs no cérebro pode ter efeitos deletérios no SNC. Estruturalmente, astrócitos e mitocôndrias são expandidas em células nervosas sob privação de ACs (Kimura e Amemiya, 1990). Além disso, elas são absorvidas pelas células neuronais em condições de perturbações metabólicas, como visto em muitas desordens neuropsiquiátricas, podendo exacerbar a deficiência de carnitina (Jones et al., 2010).

A capacidade de esterificar e transportar metabólitos em todo o organismo distingue as ACs como um metabólito único, sugerindo que o perfil de ACs pode ser um indicador bastante útil de alterações metabólicas, em particular em estados de doença. Além disso, os analitos desta classe apresentam uma ampla gama de estruturas que são diferentes química e metabolicamente. Por exemplo, ACs com cadeias de carbono pequenas são solúveis em água e facilmente transportáveis, podendo serem utilizadas para carrear moléculas a uma variedade de localizações. No entanto, uma AC de cadeia longa necessita de um transportador para atravessar a membrana plasmática e, por conseguinte, tem sua ação mais restrita (revisado em Jones et al., 2010).

A glicose é reconhecida como fonte primária de energia para o cérebro adulto sob condições normais. No entanto, demonstrou-se que os AGs também podem ser

utilizados pelo cérebro para produção de energia (Ebert et al., 2003). Os AGs tornam-se substratos para o cérebro em condições metabolicamente comprometidas, tais como jejum ou inanição. Ou seja, as funções das ACs no metabolismo de AGs são importantes no metabolismo cerebral, principalmente em situações de perturbações metabólicas características das doenças neuropsiquiátricas.

1.4. Lípides na doença de Alzheimer

A Doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa progressiva que causa comprometimento cognitivo e demência, sobretudo em idosos. É a causa mais comum de demência, correspondendo a aproximadamente 50 – 60% dos casos de demência em pessoas com mais de 65 anos (Francis et al., 1999), afetando a memória, o pensamento, orientação, compreensão, capacidade de aprendizagem, linguagem e comportamento (OMS, 2016). A prevalência da DA aumenta com a idade, afetando 1,6% dos indivíduos entre 65 e 69 anos, 7,9% entre 75 e 80 anos e 38,9% de indivíduos com mais de 85 anos no Brasil (Herrera et al., 2002). A duração média da DA é difícil de precisar, pois o início insidioso, com queixas de perda de memória ou apatia, pode se confundir com outras condições como depressão, perda de memória associada ao envelhecimento, ou ainda, estes sintomas podem passar despercebidos pelos pacientes ou familiares. Esse quadro que antecede a instalação da doença pode ser definido como um estágio de transição entre o envelhecimento saudável e patológico denominado Comprometimento Cognitivo Leve (CCL) (Petersen, 2004) e confere um risco aumentado para o desenvolvimento de DA (Petersen, 2001). Essa condição é bastante heterogênea com vários desfechos possíveis, incluindo até mesmo o retorno para a cognição normal (Gauthier et al., 2006). Embora atualmente não haja nenhum tratamento disponível para curar a demência, os tratamentos disponíveis aprovados pelo FDA (*Food and Drug Administration*) melhoram os sintomas da doença e podem melhorar a vida dos pacientes demenciados e de seus cuidadores e familiares (OMS, 2016).

As principais regiões cerebrais afetadas na DA são córtex e hipocampo. A avaliação de tecido cerebral *post-mortem* de pacientes com DA mostra alterações características. Estas alterações são basicamente:

a) As placas senis, compostas principalmente pelo peptídeo A β , formado a partir do processamento errôneo da Proteína Precursora do Amiloide (APP), que se agrega formando oligômeros que, por sua vez, se agregam formando fibras que se depositam no parênquima cerebral (Haass, 2004);

b) Os emaranhados neurofibrilares intracelulares, que são agregados da proteína Tau hiperfosforilada, uma proteína do citoesqueleto celular, que em condições normais, é específica de neurônios. A Tau é tradicionalmente descrita como uma proteína associada aos microtúbulos celulares com a finalidade de estabilizá-los. Contudo, ela tem outras funções como ativação da fosfolipase C, regulação da atividade motora dos microtúbulos e transmissão dos sinais de transdução para o citoesqueleto. No cérebro de pacientes com DA, a proteína Tau hiperfosforilada se acumula intracelularmente na forma de filamentos helicoidais pareados em vez de se ligar aos microtúbulos, danificando assim sua estrutura. Os filamentos helicoidais pareados se agregam como emaranhados neurofibrilares (Jenkins e Johnson, 1999; Sanchez et al., 2001; Lovestone, 2002);

c) Há perda de neurônios piramidais e degenerações sinápticas no hipocampo e neocórtex (Francis et al., 1999; Caramelli, 2001; Racchi e Govoni, 2003);

d) A disfunção colinérgica já está presente desde as fases iniciais da doença (Beach et al., 1997). Esta hipótese postula que a degeneração de neurônios colinérgicos e a perda de neurotransmissão colinérgica no córtex cerebral e em outras regiões contribuem, significativamente, para o comprometimento das funções cognitivas observadas em pacientes com DA (Talesa, 2001; Terry e Buccafusco, 2003). A neurotransmissão colinérgica desempenha importante papel no metabolismo da APP e, consequentemente, na produção do peptídeo β -amiloide (Buxbaum et al., 1992; Roher et al., 2000; Beach et al., 2003). A hipofunção colinérgica também está envolvida com a hiperfosforilação da proteína Tau (Fuentealba et al., 2004).

Nos estágios finais da doença, o cérebro apresenta atrofia do hipocampo e córtex (sendo a atrofia mais proeminente nas regiões frontais, temporais e parietais, afetando principalmente as áreas corticais associativas), aumento dos ventrículos, alargamento dos sulcos e erosão dos giros (Caramelli, 2001; Mohs e Haroutunian, 2002; Walsh e Selkoe, 2004). A atrofia está relacionada com a perda neuronal, podendo ocorrer perda de 40 a 50% dos neurônios dos córtices frontais e temporais.

A extensão da perda neuronal está relacionada com a progressão da gravidade da doença e o tempo de duração (Mohs e Haroutunian, 2002).

Embora essas sejam as principais alterações histopatológicas da DA, os lipídes também tem um papel já descrito na patogênese da doença. Estudos genômicos têm demonstrado que o alelo $\epsilon 4$ da apolipoproteína E (apoE) é um fator de risco para a DA (Bales, 2010), a qual desempenha um papel fundamental para o catabolismo de componentes ricos em triglicérides no corpo humano (Ojopi et al., 2004). Neste sentido, os lipídes de membrana tem grande influência na formação do A β pela proteína APP e as secretases, sendo a agregação de A β o maior evento danoso conhecido na DA (Zinser et al., 2007). Em geral, o aumento do colesterol na membrana plasmática aumenta a produção de A β e existe uma correlação positiva com a progressão da DA (Grimm et al., 2005). A β é um peptídeo anfifílico que interage com vários lipídios, podendo agregar-se à membrana celular e interromper o perfeito funcionamento desta, o que acaba por perturbar a homeostase celular, sugerindo que as interações entre A β e membrana celular provavelmente desencadeiam a cascata neurotóxica da DA (Evangelisti et al., 2014; Morgado e Garvey, 2015). Além destes lipídes, a classe dos esfingolípides também tem sido associada a progressão da DA (Katsel et al., 2007; Tamboli et al., 2005).

Por estas e outras razões, estudos têm tentado caracterizar as alterações no perfil lipídico que ocorrem no cérebro de indivíduos com DA. Essas alterações têm sido associadas ao metabolismo anormal dos lipídes levando à desagregação das membranas celulares. Estudos post-mortem de cérebro de pacientes geralmente mostram uma diminuição dos níveis totais de fosfolípides (Gottfries et al., 1996) e acúmulo de seus produtos de degradação (Blusztajn et al., 1990). No entanto, os resultados não são concisos quando se observam os fosfolípides isoladamente. Foram descritos menores níveis de fosfatidiletanolamina total (Nitsch et al., 1992; Wells et al., 1995; Prasad et al., 1998; Pettegrew et al., 2001) e fosfatidilinositol (Stokes et al., 1987; Prasad et al., 1998; Pettegrew et al., 2001). Em contraste, as conclusões sobre os níveis de fosfatidilcolina são menos claras, uma vez que diferentes estudos encontraram seu conteúdo inalterado (Wells et al., 1995; Prasad et al., 1998), aumentado (Nitsch et al., 1992; Wells et al., 1995; Farooqui et al., 1997) ou diminuído (Söderberg et al., 1992) em determinadas regiões cerebrais.

Poucos estudos se propuseram a mensurar alterações de fosfolípides em líquido para investigar possíveis biomarcadores de neurodegeneração. Mulder e colaboradores (1998) encontraram uma redução significativa dos fosfolípides totais, outros estudos também observaram essa diminuição em níveis de fosfatidilinositol, fosfatidiletanolamina e fosfatidilcolina em líquido de pacientes em diferentes fases da demência (Kosiec et al., 2010; Kosiec et al., 2012). Em outro estudo, os níveis de PC mostraram-se inalterados em líquido de pacientes com DA (Mulder et al., 2003), enquanto Walter e colaboradores mostraram um aumento de PC nesta mesma matriz biológica (Walter et al., 2004). Quando analisado o plasma de pacientes com DA, os níveis de plasmeniletanolamina parecem estar diminuídos (Goodenowe et al., 2007) assim como os níveis de 3 fosfatidilcolinas (PC 16:0/20:5 16:0/22:6 e 18:0/22:6) também em pacientes com DA versus controles saudáveis (Whiley et al., 2014).

Em animais modelos para DA transgênicos, alterações em fosfolípides e acilcarnitinas foram verificadas tanto em cérebro quanto em plasma e encontraram similaridades no comportamento destes metabólitos (Pan et al., 2016). Isto indica que a utilização desses metabólitos plasmáticos como biomarcadores de doença pode ser uma boa alternativa para a inacessibilidade do cérebro.

A busca por metabólitos plasmáticos que reflitam alterações ocorridas em DA e CCL tem sido amplamente estudada. A abordagem utilizada pelos estudos atuais não mais é de caracterização (aumento/diminuição) dos metabólitos e sim a de encontrar padrões que diferenciem as condições clínicas entre si, inclusive com dados de quantificação. Em 2014, um grupo sugeriu um conjunto de 10 fosfolípides plasmáticos que seriam capazes de diferenciar pacientes com déficits cognitivos de indivíduos cognitivamente saudáveis (Mapstone et al.), indicando estes metabólitos como biomarcadores de doença. No entanto, estudos posteriores não corroboraram este mesmo painel (Klavins et al., 2015; Casanova et al., 2016). Há outros grupos tentando caracterizar o perfil metabólico de indivíduos com estas doenças. Olazarán e colaboradores (2015) encontraram 3 aminoácidos, 1 AG e 1 esfingomielina e sugeriram que são capazes de diferenciar controles saudáveis de DA e CCL. Liu e colegas (2014) sugerem que progesterona, LPC e aminas biogênicas são capazes de diferenciar CCL, DA e controles saudáveis. Já Wang e colegas (2014) indicam dois painéis diferentes para diferenciar DA de controles saudáveis e CCL de controles saudáveis.

Portanto, lípides de membrana tem um grande potencial como candidatos a biomarcadores em DA, mas uma caracterização abrangente do perfil individual de pacientes com DA versus controles precisa ser abordada. É de extrema importância também uma diferenciação entre CCLs e controles saudáveis, para que haja uma diferenciação logo no início do aparecimento dos sintomas.

1.5. Lípides na esquizofrenia

A Esquizofrenia (SCZ) é um transtorno psiquiátrico complexo que afeta cerca de 1% da população mundial. Psicoses, incluindo a SCZ, são caracterizadas por distorções do pensamento, percepção, emoções, linguagem e comportamento. Experiências psicóticas comuns incluem alucinações e delírios (OMS, 2016). Apesar de progressos consideráveis nos últimos anos, a etiologia da doença ainda não foi elucidada, provavelmente devido à heterogeneidade tanto do início quanto da progressão da doença. Além disso, frequentemente, os sintomas dos pacientes são comuns a outras desordens neuropsiquiátricas, dificultando a diferenciação e o diagnóstico por meio de métodos essencialmente clínicos. É sabido que quanto antes se identificar, diagnosticar e tratar pacientes em quadros psicóticos, melhor o prognóstico clínico do paciente (Larsen et al., 2011). Por isso tem-se procurado identificar características moleculares mensuráveis que permitam um diagnóstico precoce e, adicionalmente, forneçam subsídios para uma melhor compreensão da etiologia da SCZ.

A hipótese dopaminérgica é a mais estudada e aceita acerca da fisiopatologia da SCZ: acredita-se que um aumento de dopamina na fenda sináptica seja responsável pelos sintomas positivos característicos da doença (Laruelle et al., 1996; Kapur e Seeman, 2001). Porém, uma série de evidências sugere que as anormalidades do sistema dopaminérgico não são uma consequência de um problema primário nos neurônios dopaminérgicos, mas uma alteração nas vias neuronais que controlam o fluxo de dopamina (Laruelle et al., 1999). Além disso, muitos pesquisadores têm se interessado pelos sistemas que regulam ou modulam o tônus dopaminérgico, como o sistema glutamatérgico.

A hipótese do envolvimento do sistema glutamatérgico na fisiopatologia da SCZ surgiu da observação que pacientes com a doença apresentavam diminuição de

glutamato no líquido (Kim et al., 1980). Embora esse achado não tenha sido consistentemente reproduzido (Gattaz et al., 1982), ele originou uma teoria sugerindo déficit de glutamato na esquizofrenia e impulsionou inúmeros estudos na área.

Sabendo-se que o metabolismo lipídico tem um papel crucial no crescimento neuronal e sináptico e remodelação neuronal, é plausível que alterações nesse sistema causem falha no neurodesenvolvimento normal na SCZ. Há também evidências de que a SCZ está associada a alterações nos fosfolípidos que compõem a membrana: aumento de fosfatidilserina e diminuição de fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina em cérebros *post-mortem* (Yao et al., 2000; Berger et al., 2006). Essas alterações também foram encontradas *in vivo* por exames de neuroimagem (Fukuzako et al., 1999).

Teorias recentes sobre alterações na SCZ têm focado em anormalidades no metabolismo de fosfolípidos, particularmente um aumento da atividade das enzimas PLA₂ (Gattaz et al., 1990; Gattaz e Brunner, 1996; Schaeffer et al., 2012) e reduzida atividade do sistema que incorpora ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) em fosfolípidos (um simultâneo aumento da hidrólise de fosfolípidos e diminuição de síntese) (Horrobin, 2002; Berger et al., 2006). Essas anormalidades levam a mudanças na estrutura da membrana e, portanto, à sua função, disponibilidade de moléculas de sinalização celular e comportamento dos sistemas de neurotransmissores. Esta hipótese é suportada por estudos em animais que demonstram que a aplicação da PLA₂ no cérebro produz alterações no sistema dopaminérgico (Brunnet e Gattaz, 1995; Horrobin, 2002).

Estudos tanto em tecido cerebral *post-mortem* (Horrobin et al., 1991, Peet et al., 1994) e em plaquetas (Yao et al., 2000) de pacientes com diagnóstico de SCZ revelaram uma redução de PUFAs quando comparados a controles saudáveis. Esses achados foram confirmados em duas coortes independentes de pacientes: cronicamente medicados e em primeiro surto sem tratamento prévio; comprovando que a redução desses ácidos graxos essenciais está associada à doença e não à medicação (Yao et al., 1994, Khan et al., 2002 e Arvindakshan et al., 2003). Horrobin e colaboradores (2002) mostraram que pacientes com SCZ têm reduzidos níveis de PUFAs em fosfolípidos de eritrócitos. Os PUFAs são importantes para a neurotransmissão monoaminérgica, desenvolvimento do cérebro e funcionamento

sináptico (Berger et al., 2006). Isto sugere que a suplementação com AG pode abrandar os sintomas da SCZ.

Níveis de ceramida periférica como um indicador do estado da ceramida cerebral ainda precisa ser validada já que os resultados publicados na literatura parecem controversos. Um estudo em ratos não conseguiu encontrar uma relação quantitativa entre quaisquer espécies de ceramida entre regiões do cérebro e sangue (Huston et al., 2016). Em um estudo em cérebro *post-mortem*, espécies de ceramidas foram mais abundantes em comparação com controles saudáveis, independentemente do tratamento com drogas antipsicóticas (Schwarz et al., 2008). Entretanto, um estudo em pacientes em primeiro surto psicótico sem tratamento prévio revelou menores níveis de ceramidas na pele destes pacientes e um aumento de outras subespécies quando comparados com controles saudáveis (Smesny et al., 2013).

O primeiro relato sobre o metabolismo dos esfingolípides na SCZ mostrou redução do nível de galactocerebrosídeos, cerebrosídeos totais e sulfatidos em um único paciente (Cherayil, 1969). Esfingomielinas foram descritas reduzidas no tecido cerebral *post-mortem* de pacientes com SCZ em comparação com controles saudáveis (Schmitt et al., 2004). Os esfingolípides podem não só desempenhar um papel na patogênese da SCZ, mas também nos efeitos terapêuticos do tratamento com medicamentos antipsicóticos. Ratos que receberam tratamento crônico de haloperidol tiveram, entre outras mudanças metabólicas, um declínio significativo de esfingolípides no cérebro. Os autores sugerem que isso pode ser um indicativo de alteração na mielinização (McClay et al., 2015). Com a alta resolução da espectroscopia de ressonância magnética, foram descritos níveis aumentados de esfingomielina no lobo occipital, mas não na massa cinzenta do córtex frontal e temporal de pacientes com SCZ (Schwarz et al., 2008).

Não só os esfingolípides foram descritos alterados no cérebro de pacientes com SCZ, mas também enzimas que controlam o metabolismo destes, com resultados que sugerem uma desregulação das vias de esfingolipídies no cérebro de pacientes com SCZ durante os estágios iniciais da doença, que podem ser compensados ou revertidos pelo tratamento em fases posteriores (Narayan et al., 2009). Alteração na expressão de genes que codificam enzimas envolvidas no metabolismo dos esfingolípides também foram encontradas em tecido cerebral *post-mortem* de pacientes com SCZ,

independentes de medicação antipsicótica (Narayan et al., 2009; Ohi et al., 2015) e uma análise de rede de genes apoiaram o envolvimento de vias relacionadas com a mielina nesta doença (Rietkerk et al., 2009). Finalmente, pacientes adultos com doença de Niemann-Pick B e C, frequentemente manifestada com anormalidades neuropsiquiátricas esquizofreniformes, sugerem o envolvimento do metabolismo dos esfingolípides na fisiopatologia da SCZ (Josephs et al., 2003; Walterfang et al., 2006).

Tomando em conjunto os achados descritos, seja no SNC bem como na periferia; tanto a nível molecular, quanto metabólico e genético, há evidências consistentes da desregulação de metabólitos relacionados à membrana na esquizofrenia (Horrobin et al., 1994). No entanto, os papéis precisos de cada um destes metabólitos ainda precisam ser determinados.

1.6. Lípides no transtorno bipolar

Os transtornos de humor são quadros psiquiátricos frequentes, atingindo cerca de 10-15% da população geral e aumentando o risco de suicídio 5 a 17 vezes em relação à população em geral, causando prejuízos socioeconômicos consideráveis (Suppes e Dennehy, 2009). O TB possui uma prevalência mundial de 1-4% (Phillips e Kupfer, 2013) e é caracterizado por episódios repetidos de depressão e mania separados por períodos de humor inalterado. Episódios maníacos/hipomaníacos caracterizam-se por insônia, grandiosidade, fuga de ideias, entre outros, enquanto episódios depressivos incluem sintomas como humor deprimido, perda de interesse e prazer, alterações de sono e apetite e fadiga (OMS, 2016). Do ponto de vista clínico, pacientes com múltiplos episódios, tendem a apresentar déficit cognitivo mais significativo, bem como pior resposta aos tratamentos, potencialmente associados à presença de alterações neuropatológicas mais proeminentes. Ainda que não seja considerada uma doença degenerativa, o TB envolve comprovado dano estrutural ao cérebro (Soares et al., 2005; Blumberg et al., 2006; Moorhead et al., 2007).

O diagnóstico do TB é clínico e baseado no levantamento da história e no relato dos sintomas pelo paciente e pautado no DSM-IV e no CID 10. Embora os mecanismos do TB não estejam completamente elucidados, estudos mostram alterações anatômicas em áreas cerebrais corticais e subcorticais de pacientes com TB (Soares,

2003; Strakowski et al., 2005; Selvaraj et al., 2012). Entretanto, a natureza das bases bioquímicas dessas alterações não foi inteiramente compreendida até o momento. Uma alteração consistente que vem sendo estudada é a disfunção mitocondrial neste transtorno (Wallace, 1999; Konradi et al., 2004; Stork e Renshaw, 2005).

Alterações de lipídes e de membranas celulares têm sido levantadas como uma hipótese central para perturbações de sistemas de neurotransmissores em transtornos de humor (Hibbeln et al., 1989; Rapaport, 2014). Estudos prévios já descreveram alterações em várias espécies de fosfatidilcolinas e ácidos graxos em regiões de substância branca e cinzenta em cérebro *post-mortem* de indivíduos com TB (Schwarz et al., 2008). A redução de PC já foi associada a um aumento de esfingomielina (Narayan e Thomas, 2011), no qual os níveis de ceramida foram encontrados significativamente aumentados em amostras de substância branca de pacientes com TB em relação a controles saudáveis (Schwarz et al., 2008). Exames de neuroimagem demonstram aumento de PC nos gânglios da base (Govindaraju et al., 2000) e no tálamo (Howells et al., 2013) de pacientes com TB, o que implica num desequilíbrio entre a síntese e a degradação de fosfolípidos de membrana neuronal e glial. No córtex cingulado anterior, no lobo caudado e no putamen também se verificou o aumento significativo desses metabólitos em pacientes com TB tipo I em comparação com controles saudáveis (Cao et al., 2016). Também *in vivo*, um estudo descreveu que os compostos de colina estavam aumentados no hipocampo e córtex de pacientes com TB em relação a controles saudáveis. Como a colina é considerada um marcador de metabolismo fosfolipídico de membrana, o aumento desse metabólito pode indicar uma maior ruptura da membrana celular (Senaratne et al., 2009). Alterações no metabolismo de membrana também já foram descritas nesse grupo de pacientes, observando-se uma diminuição do metabolismo em indivíduos com TB tipo I em relação a indivíduos saudáveis (Shi et al., 2015), corroborando achados do nosso grupo no qual pacientes sem medicação prévia com diagnóstico de TB demonstraram uma redução na atividade da PLA₂ (Ikenaga et al., 2015).

A busca pelo entendimento do padrão metabolômico no TB ainda está sendo explorada. Estudos têm focado principalmente na composição de ácidos graxos e na suplementação dietética, visto que a deficiência de ácidos graxos é um fator de risco para a manifestação de sintomas depressivos (McNamara, 2016). Além disso,

alterações em PUFA's, incluindo o aumento da fluidez da membrana celular (Hirashima et al., 2004), inibição de citocinas pró-inflamatórias (Calder, 2003; Ferrucci et al., 2006; Gravaghi et al., 2011) e na atividade da proteína-quinase C (Seung et al., 2001) já foram descritas no TB. Estudos em cérebro *post-mortem* mostraram níveis reduzidos de PUFA's no córtex pré-frontal de pacientes com TB (Hamazaki et al., 2015). Outros estudos em cérebro *post-mortem* mostraram alterações não só em PUFA's (Igarashi et al., 2010), mas também na composição de fosfolípidos totais no córtex de indivíduos com TB, demonstrando uma diminuição significativa em pacientes versus controles saudáveis (Hamazaki et al., 2010). Reduzidas concentrações de PUFA's foram relatadas em eritrócitos de pacientes com TB (Chiu et al., 2003; Ranjekar et al., 2003) e a suplementação dietética com PUFA's tem sido utilizados para amenizar os sintomas da doença (Stoll et al., 1999; Frangou et al., 2007). No entanto, ensaios usando PUFA's como suplementos dietéticos tiveram resultados inconsistentes no TB (revisado em Saunders et al., 2016). Reduções de ácido araquidônico e de ácido docosaenoico foram descritas no cérebro *post-mortem* de pacientes com TB (Svennerholm et al., 1997; McNamara et al., 2008). As evidências já demonstradas sobre alterações na composição e no metabolismo lipídico de pacientes com TB nos sugere um importante envolvimento desses metabólitos na doença, portanto, uma caracterização desses metabólitos numa matriz de fácil acesso pode ser a chave para a busca de biomarcadores e para um melhor entendimento dos mecanismos fisiopatológicos do TB.

2. OBJETIVOS

- Estudar e comparar o perfil fosfolipídico através da determinação dos níveis de 145 metabólitos relacionados à membrana em plasma de pacientes com psicoses (TB e SCZ), demências (DA e CCL) e controles saudáveis;
- Propor um painel de identificação e diferenciação diagnóstica baseado nos níveis plasmáticos dos metabólitos quantificados entre DA, CCL e controles (grupo de demências);
- Propor um painel de identificação e diferenciação diagnóstica baseado nos níveis plasmáticos dos metabólitos quantificados entre SCZ, TB e controles (grupo de psicoses).

3. DESENHO

Estudo transversal e retrospectivo em dois grupos de pacientes com transtorno psiquiátrico: a) Pacientes em primeiro surto psicótico e sem medicação prévia com esquizofrenia e transtorno bipolar e b) Idosos com Doença de Alzheimer (leve a moderada) e comprometimento cognitivo leve.

Dentro do grupo idosos foram realizadas análises longitudinais para os pacientes com CCL.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Casuística

Os pacientes foram recrutados nos ambulatórios de Psicogeriatria e de Psicoses do Laboratório de Neurociências – LIM 27 do Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Anexo A). O grupo controle, composto por indivíduos sem histórico pessoal de doenças neuropsiquiátricas, foi recrutado na comunidade, atendendo ao pareamento das variáveis sócio demográficas com o grupo de pacientes.

Os critérios gerais de inclusão adotados foram: ausência de história atual ou nos últimos 6 meses de dependência de álcool e/ou drogas psicoativas (DSM-IV); ausência de história prévia ou atual de hidrocefalia, epilepsia, traumatismo crânio-encefálico, doenças neurológicas degenerativas e comorbidades psiquiátricas. Todos os participantes dessa pesquisa assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A).

Para o diagnóstico de DA inicial foi utilizado o Mini Exame do Estado Mental (MEEM) e o teste cognitivo de Cambridge (CAMCOG) segundo os critérios diagnósticos do NINCDS-ADRDA (McKhann et al., 1984). Os sujeitos apresentavam DA leve a moderada. A condição clínica de CCL foi determinada de acordo com os critérios de Petersen (2004). O seguimento para a avaliação clínica de conversão foi de até 4 anos.

O diagnóstico de SCZ foi realizado por meio do DSM-IV – APA (2002). A confirmação do diagnóstico foi realizada por meio da SCID – I/P – Entrevista Clínica Estruturada para Transtornos do Eixo I do DSM – IV, versão 2.0 (First et al., 2002). A psicopatologia foi avaliada por meio da Escala de Sintomas Positivos e Negativos – PANSS (Kay et al., 1987): subescalas positiva, negativa e de psicopatologia geral. A sintomatologia depressiva e maníaca dos pacientes com TB foi avaliada pela aplicação da escala de Hamilton para avaliação da depressão (HAM-D) (Hamilton, 1960) e Escala de Young para avaliação de mania (YMRS) (Young et al., 1978). É importante ressaltar que os pacientes foram recrutados em primeiro surto psicótico e sem uso prévio de medicamentos psicotrópicos.

Para o grupo de demências, foram recrutados 79 indivíduos: 34 pacientes com DA, 20 CCL, sendo 12 não conversores e 8 conversores para DA e 25 idosos saudáveis como controles (Tabela 1). Os 20 pacientes com CCL foram acompanhados durante 4 anos, neste período 8 converteram para DA.

Tabela 1 Dados demográficos dos indivíduos idosos recrutados

Diagnóstico	DA (n=34)	CCL (n=20)	Controle (n=25)	p
Gênero (M/F)	10/24	3/17	7/18	0,47
Idade (média ± dp)	75,0 ± 6,7	73,9 ± 6,2	74,4 ± 5,8	0,81
Escolaridade (média ± dp)	6,2 ± 3,8	7,8 ± 4,4	13,2 ± 5,7	0,01
MEEM (média ± dp)	19 ± 5	27 ± 2	29 ± 1	<0,01
CAMCOG (média ± dp)	57 ± 18	86 ± 9	95 ± 6	<0,01

M=masculino; F=feminino; dp= desvio padrão; DA=Doença de Alzheimer; CCL=Comprometimento Cognitivo Leve; MEEM = Mini Exame do Estado Mental; CAMCOG = teste cognitivo de Cambridge; p = significância do teste Chi-quadrado.

Foram também recrutados 85 indivíduos para compor o grupo de psicoses: 28 pacientes com diagnóstico de SCZ, 27 com TB e 30 controles saudáveis (Tabela 2).

Tabela 2 Dados demográficos dos indivíduos jovens recrutados

Diagnóstico	SCZ (n=28)	TB (n=27)	Controle (n=30)	P
Gênero (M/F)	17/11	5/22	16/14	0,03
Idade (média ± dp)	26,0 ± 7,4	28,9 ± 5,6	26,2 ± 3,9	0,12
Escolaridade (média ± dp)	10,8 ± 3,5	13,7 ± 2,1	14,7 ± 2,3	0,01
PANSS - Total (média ± dp)	78 ± 22	-	-	
PANSS - Sintomas positivos (média ± dp)	19 ± 5	-	-	
PANSS - Sintomas negativos (média ± dp)	18 ± 8	-	-	
PANSS - Geral (média ± dp)	40 ± 11	-	-	
HAM-D (média ± dp)	-	15 ± 8	-	
YMRS (média ± dp)	-	9 ± 8	-	

M=masculino; F=feminino; dp= desvio padrão; SCZ= Esquizofrenia; TB= Transtorno bipolar, PANSS = Escala de sintomas positivos e negativos; HAM-D = Escala Hamilton para avaliação de depressão; YMRS = Escala Young para avaliação de mania; p = significância do teste Chi-quadrado.

4.2. Obtenção do plasma

A coleta de sangue foi realizada em todos os indivíduos recrutados, por equipe treinada, utilizando-se protocolos já estabelecidos no nosso laboratório. Foram coletados 10 mL de sangue total em tubo contendo anticoagulante EDTA. A separação do plasma foi obtida através de centrifugação por 15 minutos a 3000 rpm. As amostras de plasma foram devidamente identificadas e armazenadas em freezer -80°C até o momento das análises.

4.3. Preparo de amostra

O preparo das amostras para determinação dos fosfolípides e metabólitos a partir do plasma total foi realizado de acordo com a bula do kit Absolute*IDQ p180*[®] (BIOCRATES Life Sciences). Após a padronização todas as amostras foram submetidas a essas análises e os dados resultantes analisados por meio de *software* específico Met*IDQ*[®] Boron (Biocrates Life Sciences) para determinação e quantificação dos metabólitos entre os grupos.

O kit Absolute*IDQ p180*[®] (BIOCRATES Life Sciences) fornece uma placa com filtros específicos para extração dos metabólitos de interesse. A esta placa foram adicionados 10 µL dos controles internos (ISTD) em todos os poços, exceto ao branco. Após isso, foram adicionados 10 µL de padrões de calibração, controles de qualidade e as amostras dos pacientes em seus respectivos poços. As amostras foram evaporadas sob fluxo de nitrogênio durante 30 minutos à temperatura ambiente. Para a derivatização dos aminoácidos foram adicionados imediatamente 50 µL da solução de fenil isotiocianato (PITC) 5% v/v e a placa foi mantida à temperatura ambiente por 20 minutos e novamente submetida ao fluxo de nitrogênio por 60 minutos. Em cada poço foram adicionados 300 µL de solvente de extração e a placa foi agitada por 30 minutos para completa extração dos metabólitos aderidos aos poços. Para certificação de decantação, centrifugou-se a placa por 2 minutos.

As etapas seguintes foram determinadas de acordo com o equipamento utilizado (Xevo[®] TQ-S - Waters Technologies[®]) para análise das amostras. Para a detecção e quantificação de glicerofosfolípides, esfingolípides, acilcarnitinas e hexose

transferiu-se 20 µL do sobrenadante da placa de extração para outra placa. Foram adicionados 380 µL do solvente de corrida. A placa foi selada e agitada por 2 minutos em temperatura ambiente. As placas seladas foram alocadas no injetor automático a 10°C e as amostras injetadas de acordo com a disposição na placa.

4.4. Análises das amostras

O kit utilizado é um híbrido de dois ensaios: cromatografia líquida (LC – *Liquid Chromatography*) e análise por injeção em fluxo (FIA – *Flow Injection Analysis*). A detecção espectral foi realizada num aparelho triplo quadrupolo no modo de monitorização de reações múltiplas em pares seletivos. As amostras foram submetidas ao espectrômetro de massas em *tandem* (MS/MS) primeiramente pelo método de LC seguido do método FIA. O método LC nos permite detectar as concentrações das aminas biogênicas e aminoácidos e o método FIA, os glicerofosfolípides, principal interesse desse estudo, esfingolípides e hexose. As análises foram realizadas em parceria com a empresa Waters Technologies do Brasil.

FIA é uma sistema automatizado projetado para alta taxa de transferência de amostras. No processo de análise por injeção em fluxo, a amostra é inserida em uma solução (fase móvel), que é transportada através do percurso analítico continuamente (Reis et al., 1989). No decorrer do processo, a amostra sofre dispersão na solução transportadora, produzindo uma zona de amostra caracterizada pela existência de gradientes de concentração. Caso necessário, reações químicas podem ocorrer durante o transporte da zona de amostra em direção ao sistema de detecção. Em função da existência dos gradientes de concentração e da medida ser feita com a zona de amostra em movimento em relação ao sistema de detecção, obtém-se um sinal transiente, cuja altura pode ser relacionada à concentração do analito interesse. Para a implementação do processo FIA, é necessário um dispositivo para a propulsão dos fluidos, sendo mais frequentemente empregada a bomba peristáltica, que permite a propulsão à vazão constante. A seleção e a inserção de alíquotas pode ser feita empregando-se diversos dispositivos (Reis e Bergamin, 1993), entre os quais destaca-se o injetor proporcional devido à simplicidade e versatilidade. Diversos detectores têm sido empregados em associação com o processo FIA (Ruzicka e Hansen, 1988;

Karlberg e Pacey, 1989) e, no nosso caso, utilizamos um detector de massas (Figura 3). Completam o sistema tubos de pequeno diâmetro (em geral 0,5 a 0,8 mm), nos quais se processa a dispersão da amostra e ocorrem as reações químicas que, em geral, não se completam previamente à detecção. O processo de dispersão da amostra, intrínseco aos sistemas de análise por injeção em fluxo, é dependente das características físico-químicas das soluções, bem como das dimensões dos componentes do sistema (volume da alça de amostragem; material, diâmetro e comprimento dos tubos que constituem o percurso analítico). Usualmente, as medidas são efetuadas com esses parâmetros constantes, permitindo a obtenção de resultados caracterizados por alta reprodutibilidade (Karlberg e Pacey, 1989).

Figura 3. Esquematização de um experimento realizado por FIA

Fonte: Adaptado de <http://www.ideiam.com/labtools/products/fia>.

O padrão de espectros dos glicerofosfolípides são mostrados a seguir (Figura 4). Os espectros de FIA foram analisados pela uma plataforma Met**IDQ**® Boron – BIOCRATES Life Sciences.

Figura 4. Representação de um cromatograma de FIA

Fonte: <http://www.biocrates.com/images/stories/pdf/Folders/Application-NoteWaters.pdf>

4.5. Análise estatística

Após a obtenção dos dados, foi realizada a análise estatística com o programa estatístico SPSS v.14 (*Statistical Package for Social Science*, Chicago, IL). Os dados foram divididos em dois grandes grupos: psicoses e demências (idade < 60 e > 60 anos, respectivamente).

Para análise de diferenças de gênero foi utilizado o teste Chi-quadrado. A normalidade dos resíduos foi verificada com gráficos QQ. Para as variáveis que seguem uma distribuição normal, realizamos o teste de ANOVA, seguidos pelo teste post hoc de *Tukey* para correção de múltiplas comparações. O teste de *Kruskal-Wallis* foi realizado para as variáveis que não seguem distribuição normal, seguido do teste de *Dunn-Bonferroni* para correção de múltiplas comparações. Para comparar longitudinalmente os pacientes CCL que converteram para DA utilizamos o teste de *Wilcoxon*. A significância estatística para todas as análises foi estabelecida para valores de $p \leq 0,05$ ($\alpha=95\%$).

Utilizamos dois modelos multivariados alternativos ao teste de hipóteses descrito anteriormente. O método de floresta aleatória (RF – *Random Forest*) (Breiman, 2001; Breiman e Cutler, 2014) foi utilizado para selecionar as principais variáveis capazes de diferenciar os diagnósticos estudados, removendo a correlação entre elas. Depois de estabelecida essa etapa, o modelo multinomial foi utilizado para correção e associação entre as variáveis selecionadas e os diagnósticos estudados; para estimar o erro do crescimento de cada árvore. Uma RF pode ser descrita como um classificador formado por um conjunto de árvores de decisão, no qual as variáveis são amostradas de formas independentes e distribuídas igualmente entre todas as árvores da floresta. O resultado desse algoritmo de classificação é um modelo com maior número de variáveis dentre todas as árvores consideradas. O outro método utilizado foi a árvore de decisão (CART - *Classification And Regression Tree*) (Breiman et al., 1984; Horning, 2013) que classifica os grupos segundo as variáveis estudadas e os separam de acordo com o diagnóstico, encontrando valores de referência para cada um deles. A CART é um modelo preditivo que utiliza um conjunto de dados quantitativos para calcular um valor alvo (ponto de corte). Em uma CART cada nó representa um teste de uma variável, os ramos representam os resultados dos testes e os nós terminais representam as classificações mais relevantes das variáveis.

5. RESULTADOS

5.1. Grupo de demências

Observamos diferenças nos níveis dos metabólitos de todas as classes estudadas: acilcarnitinas, lisofosfolípides, fosfolípides e esfingolípides entre DA, CCL e controles. Na tabela 3 estão as concentrações dos metabólitos com diferenças estatísticas entre os grupos. Os resultados dos demais metabólitos encontram-se nos apêndices.

Tabela 3 - Concentrações em nanomolar (nM) dos metabólitos (média $\pm$ desvio padrão) diferentemente expressos entre idosos (continua).

Classe	Metabólito (nM)	DA (n=28)	CCL (n=27)	Controles (n=30)	<i>p</i>
Acilcarnitinas	C10	0,81 $\pm$ 0,46	0,53 $\pm$ 0,42	0,70 $\pm$ 0,27	0,048
	C10:1	0,56 $\pm$ 0,20	0,41 $\pm$ 0,12	0,63 $\pm$ 0,30	0,005
	C10:2	0,53 $\pm$ 0,40	0,31 $\pm$ 0,06	0,74 $\pm$ 0,82	0,030
	C12-DC	0,14 $\pm$ 0,09	0,05 $\pm$ 0,29	0,18 $\pm$ 0,12	<0,0001
	C14	0,20 $\pm$ 0,16	0,09 $\pm$ 0,05	0,47 $\pm$ 0,78	0,021
	C14:1	0,20 $\pm$ 0,16	0,09 $\pm$ 0,04	0,30 $\pm$ 0,32	0,005
	C14:1-OH	0,06 $\pm$ 0,05	0,02 $\pm$ 0,03	0,15 $\pm$ 0,27	0,017
	C14:2	2,55 $\pm$ 2,71	1,50 $\pm$ 0,22	5,12 $\pm$ 7,90	0,033
	C14:2-OH	0,08 $\pm$ 0,13	0,03 $\pm$ 0,03	0,23 $\pm$ 0,46	0,038
	C16:1	0,08 $\pm$ 0,13	0,04 $\pm$ 0,04	0,20 $\pm$ 0,35	0,041
	C16:2-OH	0,08 $\pm$ 0,14	0,02 $\pm$ 0,03	0,20 $\pm$ 0,38	0,034
	C2	8,61 $\pm$ 2,74	10,74 $\pm$ 3,67	8,52 $\pm$ 3,07	0,033
	C3-DC (C4-OH)	0,31 $\pm$ 0,09	0,29 $\pm$ 0,13	0,24 $\pm$ 0,08	0,049
	C5	0,41 $\pm$ 0,11	0,32 $\pm$ 0,07	0,45 $\pm$ 0,18	0,005
	C5:1	0,13 $\pm$ 0,08	0,13 $\pm$ 0,05	0,18 $\pm$ 0,10	0,039
	C7-DC	0,02 $\pm$ 0,02	0,01 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,10	0,015

C10 = Decanoilcarnitina; C10:1 = Decenoilcarnitina; C10:2 = Decadienilcarnitina; C12-DC = Dodecanedioilcarnitina; C14 = Tetradecanoilcarnitina; C14:1 = Tetradecenoilcarnitina; C14:1-OH = Hidroxitetradecenoilcarnitina; C14:2 = Tetradecadienilcarnitina; C14:2-OH = Hidroxitetradecadienilcarnitina; C16:1 = Hexadecenoilcarnitina; C16:2-OH = Hidroxihexadecadienilcarnitina; C2 = Acetilcarnitina; C4-OH (C3-DC) = Hidroxibutirilcarnitina; C5 = Valerilcarnitina; C5:1 = Tiglilcarnitina; C7-DC = Pimelilcarnitina; DA = doença de Alzheimer; CCL = Comprometimento Cognitivo Leve; *p* = valor de significância usando o teste ANOVA.

Tabela 3 Concentrações em nanomolar (nM) dos metabólitos (média $\pm$ desvio padrão) diferentemente expressos entre idosos (conclusão).

Classe	Metabólito (nM)	DA (n=28)	CCL (n=27)	Controles (n=30)	<i>p</i>
Lisofosfo- lípides	LPC a C16:0	139,82 $\pm$ 29,38	113,50 $\pm$ 26,92	130,69 $\pm$ 42,28	0,024
	LPC a C16:1	4,32 $\pm$ 1,47	3,20 $\pm$ 1,18	3,80 $\pm$ 2,03	0,051
	LPC a C18:0	48,62 $\pm$ 14,44	36,40 $\pm$ 12,22	46,41 $\pm$ 12,84	0,006
	LPC a C18:1	29,29 $\pm$ 9,71	22,09 $\pm$ 6,72	27,78 $\pm$ 8,15	0,013
	LPC a C20:4	12,44 $\pm$ 3,89	10,14 $\pm$ 3,05	9,78 $\pm$ 4,59	0,025
	LPC a C28:0	1,08 $\pm$ 0,45	0,71 $\pm$ 0,23	2,04 $\pm$ 3,20	0,040
	LPC a C28:1	1,10 $\pm$ 0,42	0,71 $\pm$ 0,21	1,04 $\pm$ 0,73	0,023
Fosfolípides	PC aa C34:1	182,84 $\pm$ 62,04	138,95 $\pm$ 50,86	201,04 $\pm$ 96,42	0,018
	PC aa C36:2	221,26 $\pm$ 49,11	169,81 $\pm$ 52,07	222,80 $\pm$ 83,49	0,008
	PC aa C36:6	0,61 $\pm$ 0,53	0,47 $\pm$ 0,29	1,14 $\pm$ 1,47	0,029
	PC aa C38:3	44,22 $\pm$ 13,04	33,93 $\pm$ 14,45	44,96 $\pm$ 17,76	0,028
	PC aa C38:4	111,32 $\pm$ 30,82	86,67 $\pm$ 25,05	109,30 $\pm$ 47,52	0,041
	PC aa C38:5	45,46 $\pm$ 10,37	36,50 $\pm$ 11,96	44,08 $\pm$ 10,96	0,015
	PC aa C40:5	10,76 $\pm$ 3,77	7,70 $\pm$ 2,77	11,57 $\pm$ 6,09	0,013
	PC aa C40:6	23,27 $\pm$ 4,99	19,51 $\pm$ 7,90	27,04 $\pm$ 12,05	0,016
	PC ae C32:2	0,46 $\pm$ 0,15	0,38 $\pm$ 0,10	0,81 $\pm$ 0,94	0,015
	PC ae C40:2	1,37 $\pm$ 0,50	1,17 $\pm$ 0,33	2,81 $\pm$ 3,51	0,010
	PC ae C40:5	3,11 $\pm$ 0,85	2,77 $\pm$ 0,51	3,73 $\pm$ 2,02	0,042
	PC ae C42:1	0,41 $\pm$ 0,12	0,33 $\pm$ 0,11	0,95 $\pm$ 1,50	0,026
	PC ae C42:4	0,72 $\pm$ 0,24	0,58 $\pm$ 0,13	1,63 $\pm$ 2,75	0,042
	PC ae C44:3	0,14 $\pm$ 0,04	0,10 $\pm$ 0,02	0,11 $\pm$ 0,05	0,007
	PC ae C44:4	0,29 $\pm$ 0,09	0,23 $\pm$ 0,05	0,23 $\pm$ 0,12	0,024
	PC ae C44:6	1,12 $\pm$ 0,37	0,92 $\pm$ 0,12	1,96 $\pm$ 2,58	0,038
Esfingolípides	SM-OH C22:1	82,27 $\pm$ 26,97	62,34 $\pm$ 18,60	91,98 $\pm$ 43,20	0,009
	SM-OH C22:2	76,81 $\pm$ 18,90	61,55 $\pm$ 15,51	93,80 $\pm$ 61,26	0,019
	SM-OH C24:1	4,17 $\pm$ 1,48	3,44 $\pm$ 0,97	4,52 $\pm$ 1,69	0,048
	SM C16:0	242,79 $\pm$ 47,01	225,50 $\pm$ 45,99	213,79 $\pm$ 43,24	0,050
	SM C18:0	63,33 $\pm$ 14,63	49,60 $\pm$ 15,91	64,26 $\pm$ 28,00	0,029
	SM C24:1	276,26 $\pm$ 64,76	230,83 $\pm$ 56,93	229,79 $\pm$ 122,16	0,030

LPC = lisofosfatidilcolina; PC = fosfatidilcolina; SM = esfingomielina; a = ligação acil; aa = ligação diacil; ae = ligação acil-alquil; DA = doença de Alzheimer; CCL = Comprometimento Cognitivo Leve; *p* = valor de significância usando o teste ANOVA.

De uma forma geral, o perfil de ACs está diminuído em pacientes com DA e CCL em relação a controles, sendo essa diminuição mais expressiva em CCL (Figura 5 e 6). Esse padrão se mantém no metabólitos da classe de PCs (Figura 7 e 8) e esfingomielinas (Figura 9). No entanto, LPC estão aumentadas em pacientes com DA em relação a controles e diminuída em pacientes CCL também em relação a controles (Figura 10).

Figura 5. Concentração de acilcarnitinas em pacientes com demência e controles

Legenda: DA = Doença de Alzheimer; CCL = Comprometimento Cognitivo Leve; C14:2 = Tetradecadienilcarnitina; C2 = Acetilcarnitina; C10 = Decanoilcarnitina; C10:1 = Decenoilcarnitina; C10:2 = Decadienilcarnitina; C14 = Tetradecanoilcarnitina; C3-DC (C4-OH) = Hidroxibutirilcarnitina; C5 = Valerilcarnitina; p = valor de significância usando o teste de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Figura 6. Concentração de acilcarnitinas em pacientes com demência e controles

Legenda: DA = Doença de Alzheimer; CCL = Comprometimento Cognitivo Leve; C7-DC = Pimelilcarnitina; C16:2-OH = Hidroxihexadecadienilcarnitina; C16:1 = Hexadecenoilcarnitina; C14:1-OH = Hidroxitetradecenoilcarnitina; C14:2-OH = Hidroxitetradecadienilcarnitina; C12-DC = Dodecanedioilcarnitina; C14:1 = Tetradecenoilcarnitina; C5:1 = Tiglilcarnitina; p = valor de significância usando o teste de Tukey. * p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

Figura 7. Concentrações de fosfolípides em pacientes com demência e controles

Legenda: DA = Doença de Alzheimer; CCL = Comprometimento Cognitivo Leve; PC = fosfatidilcolina; aa = ligação diacil; p = valor de significância usando o teste de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Figura 8. Concentrações de fosfolípides em pacientes com demência e controles

Legenda: DA = Doença de Alzheimer; CCL = Comprometimento Cognitivo Leve; PC = fosfatidilcolina; aa = ligação diacil; ae = ligação acil-alquil; p = valor de significância usando o teste de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Figura 9. Concentrações de esfingomielinas em pacientes com demência e controles

Legenda: DA = Doença de Alzheimer; CCL = Comprometimento Cognitivo Leve; SM = esfingomielina; p = valor de significância usando o teste de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Figura 10. Concentrações de lisofosfolípides em pacientes com demência e controles

Legenda: DA = Doença de Alzheimer; CCL = Comprometimento Cognitivo Leve; LPC = lisofosfatidilcolina; a = ligação acil; p = valor de significância usando o teste de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

O grupo de pacientes com CCL foi subdividido entre conversores (n=8) e não conversores para DA (n=12). Observamos diferenças em C16, C5-MDC e LPC a C17:0 (Figura 11).

Figura 11. Concentrações dos metabólitos diferentemente expressos em pacientes CCL conversores e não conversores para DA.

Legenda: C16 = Hexadecanoilcarnitina; C5-MDC = Metilglutarilcarnitina; LPC = lisofosfatidilcolina; a = ligação acil; CCL = Comprometimento Cognitivo Leve, DA = Doença de Alzheimer; p = valor de significância usando o teste Mann-Whitney U.

Dos 8 pacientes com diagnóstico de CCL (T0) e que converteram durante o acompanhamento, analisamos também amostras após converterem para DA (T1). Quando comparamos longitudinalmente esses pacientes observamos diferença em 1 metabólito: C3:1, havendo um aumento deste metabólito pós conversão para DA (Figura 12).

Figura 12. Concentração do metabólito diferentemente expresso em pacientes CCL antes (T0) e depois da conversão para DA (T1).

Legenda: C3:1 = Propenoilcarnitina; p = valor de significância usando o teste de Wilcoxon.

Para determinar a influência das variáveis na diferenciação diagnóstica, utilizamos um método estatístico multivariado denominado floresta aleatória, que detectou 30 metabólitos como relevantes: LPC a C26:0, C14:1, C12-DC, LPC a C28:0, PC aa C26:0, LPC a C28:1, PC aa C42:4, PC aa C40:6, PC ae C38:3, C18, C10:2, PC aa C30:0, LPC a C26:1, PC aa C40:3, C7-DC, PC aa C38:3, C8, PC aa C40:2, PC aa C36:2, SM-OH C22:2, LPC a C16:1, PC ae C44:6, C14:2, PC ae C44:3, C5-DC/C6.OH, PC ae C40:4, PC ae C40:3, C10:1, PC aa C32:1 e C18:1-OH, descritos em ordem de relevância. Foi realizada uma validação cruzada para definir a acurácia deste modelo e obtivemos 60% de acurácia máxima com um total de 30 metabólitos (Figura 13).

Figura 13. Curva de acurácia para cada variável adicionada ao modelo de floresta aleatória para o grupo demência.

Um modelo multinomial com seleção de variáveis pelo método de *stepwise* foi ajustado para os dados com as variáveis mais relevantes e neste modelo as variáveis finais foram: LPC a C26:0, C14:1, C12-DC e PC aa C26:0 (Figura 14).

Figura 14. Dispersão dos metabólitos LPC a C26:0 (a), C14:1 (b), C12-DC (c) e PC aa C26:0 (d) entre o grupo de demências obtidas a partir do modelo multinomial *stepwise*.

Para determinar concentrações capazes de diferenciar os pacientes de acordo com o diagnóstico, utilizamos um método de classificação denominado Árvore de Decisão. Este é um instrumento de apoio à tomada de decisão que consiste em uma representação gráfica das alternativas disponíveis geradas a partir dos dados. No grupo de demências encontramos 3 metabólitos que, quando combinados, podem ser capazes de diferenciar as doenças estudadas: C12-DC, PC aa C26:0 e C12 (Figura 15), com uma acurácia de 74,7%.

Figura 15. Árvore de decisão do grupo de demências

Legenda: PC = fosfatidilcolina; aa = ligação diacil; C12-DC = Dodecanedioilcarnitina; C12 = Dodecanoilcarnitina; CCL = Comprometimento Cognitivo Leve; DA = Doença de Alzheimer.

5.2. Grupo de psicoses

Observamos diferenças em todas as classes de metabólitos analisados por FIA-MS/MS entre os indivíduos jovens. Na tabela 4 estão as concentrações dos metabólitos com diferenças estatísticas entre SCZ, TB e controles. Os resultados dos demais metabólitos encontram-se nos apêndices.

Tabela 4 - Concentrações em nanomolar (nM) dos metabólitos (média $\pm$ desvio padrão) diferentemente expressos entre jovens (continua).

Classe	Metabólito (nM)	SCZ (n=28)	TB (n=27)	Controle (n=30)	<i>p</i>
Acilcarnitinas	C12	0,13 $\pm$ 0,05	0,12 $\pm$ 0,03	0,15 $\pm$ 0,05	0,043
	C12-DC	0,56 $\pm$ 0,04	0,11 $\pm$ 0,08	0,06 $\pm$ 0,04	<0,0001
	C12:1	0,35 $\pm$ 0,09	0,32 $\pm$ 0,07	0,38 $\pm$ 0,09	0,041
	C14:1	0,11 $\pm$ 0,04	0,15 $\pm$ 0,07	0,11 $\pm$ 0,03	0,004
	C14:1-OH	0,03 $\pm$ 0,03	0,06 $\pm$ 0,07	0,03 $\pm$ 0,04	0,050
	C16-OH	0,02 $\pm$ 0,03	0,04 $\pm$ 0,03	0,04 $\pm$ 0,03	0,044
	C16:1	0,05 $\pm$ 0,04	0,08 $\pm$ 0,05	0,05 $\pm$ 0,04	0,029
	C16:2	0,04 $\pm$ 0,04	0,06 $\pm$ 0,05	0,03 $\pm$ 0,03	0,025
	C16:2-OH	0,03 $\pm$ 0,03	0,06 $\pm$ 0,05	0,04 $\pm$ 0,03	0,005
	C18	0,09 $\pm$ 0,05	0,14 $\pm$ 0,08	0,10 $\pm$ 0,04	0,008
	C18:1-OH	0,03 $\pm$ 0,03	0,05 $\pm$ 0,05	0,03 $\pm$ 0,02	0,019
	C18:2	0,05 $\pm$ 0,04	0,08 $\pm$ 0,05	0,06 $\pm$ 0,03	0,014
	C3-OH	0,10 $\pm$ 0,07	0,04 $\pm$ 0,03	0,08 $\pm$ 0,07	0,001
	C4-OH (C3-DC)	0,31 $\pm$ 0,13	0,24 $\pm$ 0,10	0,37 $\pm$ 0,16	0,001
	C8	0,07 $\pm$ 0,03	0,10 $\pm$ 0,04	0,07 $\pm$ 0,05	0,003

C12 = Dodecanoilcarnitina; C12-DC = Dodecanedioilcarnitina; C12:1 = Dodecenoilcarnitina; C14:1 = Tetradecenoilcarnitina; C14:1-OH = Hidroxitetradecenoilcarnitina; C16-OH = Hidroxihexadecanoilcarnitina; C16:1 = Hexadecenoilcarnitina; C16:2 = Hexadecadienilcarnitina; C16:2-OH = Hidroxihexadecadienilcarnitina; C18 = Octadecanoilcarnitina; C18:1-OH = Hidroxiocetadecenoilcarnitina; C18:2 = Octadecadienilcarnitina; C3-OH = Hidroxipropionilcarnitina; C4-OH (C3-DC) = Hidroxibutirilcarnitina; C8 = Octanoilcarnitina; SCZ = esquizofrenia; TB = Transtorno Bipolar, p = valor de significância usando o teste ANOVA.

Tabela 4 - Concentrações em nanomolar (nM) dos metabólitos (média $\pm$ desvio padrão) diferentemente expressos entre jovens (conclusão).

Classe	Metabólito (nM)	SCZ (n=28)	TB (n=27)	Controle (n=30)	p
Lisofosfolípides	LPC a C14:0	4,62 $\pm$ 0,55	4,71 $\pm$ 0,73	4,29 $\pm$ 0,65	0,036
	LPC a C24:0	0,52 $\pm$ 0,26	0,83 $\pm$ 0,22	0,46 $\pm$ 0,16	<0,0001
	LPC a C26:0	0,78 $\pm$ 0,52	1,61 $\pm$ 0,36	0,53 $\pm$ 0,17	<0,0001
	LPC a C26:1	0,39 $\pm$ 0,21	0,67 $\pm$ 0,25	0,31 $\pm$ 0,11	<0,0001
	LPC a C28:0	0,73 $\pm$ 0,37	1,39 $\pm$ 0,24	0,57 $\pm$ 0,30	<0,0001
	LPC a C28:1	0,71 $\pm$ 0,32	1,29 $\pm$ 0,30	0,62 $\pm$ 0,18	<0,0001
Fosfolípides e esfingomielina	PC aa C24:0	0,20 $\pm$ 0,15	0,40 $\pm$ 0,17	0,16 $\pm$ 0,04	<0,0001
	PC aa C26:0	1,19 $\pm$ 0,81	2,23 $\pm$ 0,54	0,86 $\pm$ 0,15	<0,0001
	PC aa C30:0	2,44 $\pm$ 0,92	3,00 $\pm$ 1,33	1,99 $\pm$ 1,02	0,004
	PC aa C32:3	0,31 $\pm$ 0,06	0,37 $\pm$ 0,10	0,29 $\pm$ 0,10	0,005
	PC aa C36:1	27,03 $\pm$ 6,84	34,34 $\pm$ 12,93	28,28 $\pm$ 13,31	0,046
	PC aa C36:3	96,89 $\pm$ 18,02	111,61 $\pm$ 29,04	92,39 $\pm$ 31,63	0,025
	PC aa C40:1	0,32 $\pm$ 0,07	0,37 $\pm$ 0,06	0,33 $\pm$ 0,06	0,012
	PC aa C40:2	0,23 $\pm$ 0,07	0,28 $\pm$ 0,06	0,22 $\pm$ 0,08	0,008
	PC aa C40:3	0,35 $\pm$ 0,07	0,45 $\pm$ 0,11	0,38 $\pm$ 0,10	<0,0001
	PC aa C42:1	0,24 $\pm$ 0,08	0,29 $\pm$ 0,07	0,26 $\pm$ 0,06	0,033
	PC aa C42:2	0,22 $\pm$ 0,05	0,27 $\pm$ 0,05	0,23 $\pm$ 0,07	0,007
	PC aa C42:4	0,19 $\pm$ 0,05	0,23 $\pm$ 0,05	0,20 $\pm$ 0,06	0,021
	PC aa C42:6	0,40 $\pm$ 0,09	0,48 $\pm$ 0,10	0,43 $\pm$ 0,16	0,037
	PC ae C30:0	0,33 $\pm$ 0,11	0,34 $\pm$ 0,11	0,29 $\pm$ 0,11	0,001
	PC ae C30:1	0,03 $\pm$ 0,08	0,07 $\pm$ 0,09	0,01 $\pm$ 0,01	0,003
	PC ae C30:2	0,13 $\pm$ 0,05	0,19 $\pm$ 0,04	0,11 $\pm$ 0,04	<0,0001
	PC ae C32:1	1,10 $\pm$ 0,29	1,32 $\pm$ 0,31	1,04 $\pm$ 0,32	0,004
	PC ae C32:2	0,37 $\pm$ 0,10	0,47 $\pm$ 0,09	0,36 $\pm$ 0,10	<0,0001
	PC ae C36:0	0,62 $\pm$ 0,17	0,74 $\pm$ 0,19	0,60 $\pm$ 0,17	0,007
	PC ae C40:1	0,74 $\pm$ 0,22	0,90 $\pm$ 0,24	0,76 $\pm$ 0,21	0,026
	PC ae C40:3	1,14 $\pm$ 0,31	1,41 $\pm$ 0,26	1,08 $\pm$ 0,25	<0,0001
	PC ae C42:0	0,66 $\pm$ 0,09	0,74 $\pm$ 0,07	0,67 $\pm$ 0,10	0,002
	PC ae C42:1	0,34 $\pm$ 0,09	0,44 $\pm$ 0,09	0,34 $\pm$ 0,10	<0,0001
	PC ae C42:3	0,62 $\pm$ 0,17	0,72 $\pm$ 0,16	0,63 $\pm$ 0,15	0,049
	PC ae C44:3	0,11 $\pm$ 0,03	0,15 $\pm$ 0,03	0,11 $\pm$ 0,02	<0,0001
	SM C26:0	0,50 $\pm$ 0,15	0,62 $\pm$ 0,18	0,52 $\pm$ 0,16	0,016

LPC = lisofosfatidilcolina; PC = fosfatidilcolina; SM = esfingomielina; a = ligação acil; aa = ligação diacil; ae = ligação acil-alquil; SCZ = esquizofrenia; TB = Transtorno Bipolar, p = valor de significância usando o teste ANOVA.

De uma forma geral, o perfil de LPC e PC estão aumentados em pacientes com SCZ e TB quando comparados com controles saudáveis (Figuras 16, 17, 18 e 19). Entre os pacientes há um aumento desses metabólitos em TB em comparação com SCZ. Por outro lado, esfingolípides estão aumentados em pacientes com TB, mas diminuídos em pacientes com SCZ quando comparados com controles saudáveis (Figura 20). O perfil de acilcarnitinas não seguiu um padrão, como os descritos anteriormente, havendo diferenças de acordo com cada isoforma desta (Figuras 20 e 21).

Figura 16. Concentrações de lisofosfolípides em pacientes com psicoses e controles

Legenda: SCZ = Esquizofrenia; TB = Transtorno Bipolar; LPC = lisofosfatidilcolina; a = ligação acil; p = valor de significância usando o teste de Tukey.
* $p < 0,05$; ** $p < 0,001$.

Figura 17. Concentrações de fosfolípides em pacientes com psicoses e controles

Legenda: SCZ = Esquizofrenia; TB = Transtorno Bipolar; PC = fosfatidilcolina; aa = ligação diacil; ae = ligação acil-alquil; p = valor de significância usando o teste de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Figura 18. Concentrações de fosfolípides em pacientes com psicoses e controles

Legenda: SCZ = Esquizofrenia; TB = Transtorno Bipolar; PC = fosfatidilcolina; aa = ligação diacil; ae = ligação acil-alquil; p = valor de significância usando o teste de Tukey. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

Figura 19. Concentrações de fosfolípides em pacientes com psicoses e controles

Legenda: SCZ = Esquizofrenia; TB = Transtorno Bipolar; PC = fosfatidilcolina; aa = ligação diacil; ae = ligação acil-alquil; p = valor de significância usando o teste de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Figura 20. Concentrações de esfingomiéline e acilcarnitinas em pacientes com psicose e controles

Legenda: SCZ = Esquizofrenia; TB = Transtorno Bipolar; SM = esfingomiéline; C12-DC = Dodecanedioilcarnitina; C4-OH (C3-DC) = Hidroxibutirilcarnitina; C12:1 = Dodecenolcarnitina; C12 = Dodecanolcarnitina; C14:1 = Tetradecenolcarnitina; C18 = Octadecenolcarnitina; C8 = Octanolcarnitina; p = valor de significância usando o teste de Tukey. * p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

Figura 21. Concentrações de acilcarnitinas em pacientes com psicoses e controles

Legenda: SCZ = Esquizofrenia; TB = Transtorno Bipolar; C14:1-OH = Hidroxitetradecenoilcarnitina; C16-OH = Hidroxihexadecanoilcarnitina; C16:1 = Hexadecenoilcarnitina; C16:2 = Hexadecadienilcarnitina; C16:2-OH = Hidroxihexadecadienilcarnitina; C18:1-OH = Hidroxiocetadecenoilcarnitina; C18:2 = Octadecadienilcarnitina; C3-OH = Hidroxipropionilcarnitina; p = valor de significância usando o teste de Tukey. * p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

A RF para o grupo de psicoses identificou os seguintes metabólitos como os mais relevantes: PC aa C26:0, LPC a C26:0, LPC a C28:0 e LPC a C28:1, descritos por ordem de relevância. Foi realizada uma validação cruzada para definir a acurácia deste modelo e obtivemos 68% de acurácia máxima com um total de 4 metabólitos (Figura 22).

Figura 22. Curva de acurácia para cada variável adicionada ao modelo de floresta aleatória para o grupo demência.

Um modelo multinomial com seleção de variáveis pelo método de *stepwise* foi ajustado para os dados com variáveis mais relevantes e as variáveis finais foram: LPC a C26:0 e LPC a C28:1 (Figura 23).

Figura 23. Dispersão dos metabólitos LPC a C26:0 (a) e LPC a C28:1 (b) para o grupo de psicoses obtidas a partir do modelo multinomial stepwise.

Com a Árvore de Decisão para o grupo de psicoses, encontramos quatro metabólitos que combinados podem ser capazes de diferenciar os diagnósticos: PC aa C26:0, PC aa C36:4, PC aa C34:3 e C16-OH (Figura 24). Utilizando esta abordagem obtivemos uma acurácia de 87,1%.

Figura 24. Árvore de decisão do grupo de psicoses.

Legenda: SCZ = Esquizofrenia; TB = Transtorno Bipolar; PC = fosfatidilcolina; aa = ligação diacil; C16-OH = Hidroxihexadecanoilcarnitina.

6. DISCUSSÃO

As psicoses e as demências apresentam aspectos comuns de interesse. Aos níveis bioquímico e morfológico, já foram descritas em ambas alterações de neurotransmissão colinérgica e da arquitetura de conexões córtico-basais (Sarter 1994, Goldsmith e Joyce 1995), alterações estas apontando para direções opostas. Há na literatura relatos de que o metabolismo dos fosfolípides em doenças neuropsiquiátricas também comportam-se de maneira antagônica, havendo um aumento em jovens com SCZ (Gattaz et al., 2011) e diminuição em idosos com DA e CCL (Forlenza et al., 2005). Sendo assim, alterações no metabolismo lipídico podem nortear a busca de um diagnóstico diferencial ou precoce para as diversas doenças psiquiátricas. Nas demências o diagnóstico precoce e nas psicoses um diagnóstico inicial preciso é primordial no estabelecimento de uma terapêutica eficaz. Tendo isto em vista, o intuito deste estudo foi propor um painel de metabólitos, relacionados à membrana plasmática, capazes de auxiliar no diagnóstico dos diversos transtornos proposto, para tanto dividimos este estudo em dois grandes grupos de pacientes com transtornos neuropsiquiátricos: psicoses (SCZ e TB) e demências (DA e CCL).

Encontramos diferenças em todas as classes lipídicas analisadas. A partir destes dados, optamos por analisá-los em conjunto com o objetivo de encontrar um painel que permita diferenciar os grupos à partir das concentrações plasmáticas destes analitos. Para isso utilizamos dois modelos preditivos com algoritmos de classificação: RF e CART. Os modelos derivados de RF são tão bons quanto os obtidos com uma CART individual, no entanto sua interpretação indica apenas quais variáveis dominam a classificação. Já as CART são excelentes preditores e avaliam as variáveis categóricas e fatores associados, fazendo todos os agrupamentos presumíveis, portanto, optamos por discutir melhor esse método. O método CART determina um ponto de corte no qual os metabólitos diferenciam os diagnósticos estudados com o parâmetro de acurácia do modelo. Valores de acurácia definem a proporção de pessoas classificadas corretamente em cada grupo diagnóstico. Além disso, esse modelo pode ser extrapolado para a população uma vez que tem como princípio a generalidade.

De acordo com a análise pelo método CART, para o grupo de demências encontramos que a combinação de 3 metabólitos: – duas acilcarnitinas - Dodecanedioilcarnitina (C12-DC) e dodecanoilcarnitina (C12) - e uma fosfatidilcolina

de cadeia longa e nenhuma insaturação (PC aa C26:0) - são capazes de diferenciar pacientes com DA, CCL e controles saudáveis com acurácia de 74,7%.

A caracterização do perfil fosfolipídico de indivíduos CCL se dá por níveis diminuídos das duas acilcarnitinas de cadeia longa. A diminuição dos níveis plasmáticos de AC no nosso estudo pode estar associada a uma cascata de neurodegeneração e perda de populações neuronais, visto que a diminuição de ACs pode representar uma diminuição na produção de acetil-CoA, alteração consistente descrita já em indivíduos CCL (Mufson et al., 2012). Isto pode marcar a transição entre cérebros saudáveis e doentes, nos quais a disfunção sináptica e a neurodegeneração precoce pode dar origem a alterações cognitivas sutis (Sperling et al., 2011), caso dos pacientes com diagnóstico de CCL. Nossos achados são consistentes com outros estudos (Kennedy e Weiss, 1956; Conquer et al., 2000; Mulder et al., 2003; Mapstone et al., 2014; Gonzalez-Dominguez et al., 2014a; Fiandaca et al., 2015) e fornece evidências da desregulação metabólica, especialmente relacionadas a lipídios plasmáticos, durante os estágios de CCL.

A caracterização do perfil DA é dada por alterações nos níveis plasmáticos de duas formas: aumento de C12-DC e PC aa C26:0 ou diminuição de C12-DC e aumento de C12. As ACs participam do processo de remodelação dos glicerofosfolípidos, transportando os AG de cadeia longa para dentro da mitocôndria para que ocorra a β -oxidação (Jones et al., 2010; Reuter e Evans, 2012) e liberação de AcetilCoA, importante na cascata colinérgica (Gongadze et al., 2008). A depleção de PC e AC no plasma pode assinalar indiretamente a existência de um processo de desregulação da integridade da membrana dos neurônios colinérgicos no cérebro (Mapstone et al., 2014). Portanto, esses resultados de que o perfil de DA pode ser definido em ambas as ramificações da árvore de decisão pode ser explicado pelo desbalanço originado pela doença e que, na fase inicial e/ou moderada da doença, como é o caso da nossa amostra, ainda há um mecanismo compensatório que age tentando regular para a normalidade esse desequilíbrio da membrana plasmática.

Modificações na membrana plasmática que acarretam em perda da funcionalidade têm sido descritas há mais de duas décadas em pacientes com DA (Nitsch et al., 1992; Gattaz et al., 1995; 1996; Di Paolo e Kim, 2011; Whiley et al., 2014; Trushina e Mielke, 2014; Chatterjee et al., 2016). Já foi descrita uma diminuição

de PC em plasma (Schaefer et al., 2006; Perttu et al., 2012) e soro (Gonzalez-Dominguez et al., 2014b) de pacientes com DA comparados com controles saudáveis, o que está de acordo com os resultados descritos nesse estudo. No entanto, no líquido cefalorraquidiano encontrou-se um aumento desse metabólito (Walter et al., 2004) e quando comparados controles saudáveis com pacientes com CCL e com DA, já foi descrito uma diminuição de PC somente entre controles e o grupo CCL (Fonteh et al., 2013), sugerindo que a composição de fosfolípides foi alterada com a progressão inicial da neurodegeneração e correspondentes aumentos na atividade da PLA₂ (Fonteh et al., 2013). Em tecido *post mortem* já foi descrita uma diminuição de PC 32:0 e PC 34:1, sugerindo que a regulação das PCs pode estar diretamente ligada com a atividade da PLA₂ (Nitsch et al., 1992; Klein et al., 2000) e formação do peptídeo β -amiloide, considerando a possibilidade de que as mudanças na atividade da PLA₂ podem estar causando a diminuição observada em PCs (Gaudin et al., 2012). Nossos resultados confirmam esses estudos, pois também observamos uma diminuição em PC 34:1 entre CCL e controles, sugerindo novamente que as alterações já podem ser vistas antes da doença integralmente estabelecida.

Nosso grupo já descreveu alterações no metabolismo de membrana em pacientes com CCL conversores para DA, no qual apresentaram diminuição da atividade da PLA₂ (Gattaz et al., 2014), principal enzima responsável pelo metabolismo dos fosfolípides (Gattaz et al., 1995; 1996; 2004) e já relacionada com a progressão da DA (Ross et al., 1998; Talbot et al., 2000; Colangelo et al., 2002; Kosicek and Hecimovic, 2013). No presente estudo, quando comparamos os subgrupos de pacientes CCL, observamos maiores níveis de hexadecanoilcarnitina (C16) e menores níveis de metilglutarilcarnitina (C5-MDC) e LPC a C17:0 em pacientes que não convertem para um quadro de DA quando comparados com os que convertem. Menores níveis de lisofosfolípides podem sinalizar uma diminuição da atividade da PLA₂ e consequente comprometimento do processo de remodelação da membrana plasmática, tornando-a mais rígida e prejudicando seu funcionamento (Burke e Dennis, 2009). Os resultados deste estudo mostraram um aumento de LPC a C17:0 (produto da degradação das PCs pela PLA₂), contrário aos nossos achados prévios que descrevem uma diminuição de atividade de PLA₂ em pacientes CCL conversores quando comparados a CCL não conversores (Gattaz et al., 2014). Podemos justificar

esse achado, visto que no plasma grande parte das LPCs são formadas por um sistema enzimático específico, o LCAT (Lecitina: Colesterol aciltransferase). Esse sistema catalisa a transferência do ácido graxo da posição sn-2 das PCs do plasma para o colesterol livre, formando ester de colesterol e LPCs (Cai et al., 2009). Essa hipótese é sustentada pela inexistência de alterações nas concentrações de LPCs quando analisamos esses metabólitos longitudinalmente nos pacientes conversores (apêndice F, tabela 5). De fato as diferenças encontradas quando analisamos longitudinalmente os pacientes CCL que converteram para DA recaem somente no aumento nos níveis de propenoilcarnitina (C3:1) pós conversão. Sendo a principal função das acilcarnitinas a remoção de ácidos graxos para formação de acetil-CoA (Pettegrew et al., 2000) e produção de acetilcolina, era de se esperar que após a conversão esses níveis tivessem diminuídos. Porém, as discrepâncias no comportamento das acilcarnitinas nessa casuística podem ser justificadas de duas maneiras: a) diminuição de ACs pela insuficiência do aporte de AG desses pacientes pela dieta (Innis, 2003; 2008) e/ou b) aumento de ACs para compensar a insuficiência de acetil-CoA e reestabelecer seus níveis fisiológicos. No entanto, maiores estudos devem ser realizados a fim de caracterizar de forma mais conclusiva as alterações metabólicas, já que não existe na literatura dados que justifiquem nossos achados.

Não foi possível comparar amostras de pacientes conversores e não conversores para DA com controles saudáveis e pacientes DA pela disparidade do tamanho da amostra em cada grupo, o que levaria a perda de confiabilidade da análise. Portanto, é necessário um estudo com uma coorte maior de pacientes com déficits cognitivos iniciais para discutirmos o comportamento desses metabólitos.

Nossos achados corroboram a hipótese de que realmente existem alterações nos componentes de membrana em pacientes em processo demencial. Além disso, todos esses achados sugerem que as alterações biológicas já ocorrem antes da progressão da doença. A utilização destes parâmetros pode permitir uma identificação da doença numa fase inicial dos déficits cognitivos. Os níveis desses metabólitos podem ser utilizados como preditores de conversão. Com isso, podem-se adotar tratamentos mais específicos de acordo com o prognóstico, visando a melhoria na qualidade de vida do paciente (Schneider et al., 2016).

Quando observamos a composição lipídica da membrana dos indivíduos do grupo de psicoses, observamos diferenças mais expressivas nos pacientes com TB, sugerindo alterações metabólicas específicas para este transtorno e, além disso, uma possibilidade de diferenciar pacientes com SCZ de pacientes com TB ainda no primeiro surto psicótico. O método CART realizado com este grupo mostrou que 4 metabólitos diferenciam os diagnósticos estudados: 3 fosfatidilcolinas de cadeia longa e variáveis graus de instauração (PC aa C26:0, PC aa C38:4, PC aa C34:3) e 1 acilcarnitina denominada Hidroxihexadecanoilcarnitina (C16-OH) com acurácia de 87,1%. A caracterização do perfil de indivíduos com TB é dada por um aumento de PC aa C26:0. Por sua vez, uma diminuição da PC aa C26:0 combinada com a diminuição de PC aa C38:4, aumento de PC aa C34:3 e diminuição de C16-OH caracteriza pacientes com SCZ. As outras combinações diferenciam indivíduos saudáveis.

Os estudos que avaliam metabólitos em pacientes com TB ou SCZ são inconclusivos, tanto no sistema nervoso central quanto periférico. Estudos com neuroimagem também mostram níveis aumentados de PC em hipocampo e córtex orbitofrontal em pacientes com TB em relação aos controles (Senaratne et al., 2009) e também um aumento de PC nas regiões corticais e subcorticais (Weber-Fahr et al., 2013), diminuição de PC no tálamo (Schmitt et al., 2001) e no lobo caudado (Yao et al., 2000) de pacientes com SCZ. Um estudo descreveu um aumento de AGs e PCs em pacientes com TB e SCZ em relação a controles saudáveis, tanto em tecido *post mortem* (substância branca e cinzenta) e glóbulos vermelhos (Schwarz et al., 2008). As diferenças nos achados se mantêm em matrizes periféricas. McEvoy e colegas (2013) encontraram uma diminuição de AG, mas não de PC em plasma de pacientes com SCZ, já em plaquetas foi descrito uma diminuição de PC (Schmitt et al., 2001).

Teorias sobre alterações bioquímicas na SCZ têm focado em irregularidades no metabolismo de fosfolípides, particularmente um aumento da atividade da PLA₂ (Gattaz et al., 1987; Schaeffer et al., 2012) e reduzida atividade do sistema que incorpora AGs em fosfolípides com um simultâneo aumento da hidrólise e diminuição da síntese destes (Horrobin, 2002; Berger et al., 2006). A hipótese da disfunção da membrana na SCZ baseia-se no pressuposto de que a atividade da PLA₂ no cérebro altera a composição das membranas neuronais de forma a produzir ou exacerbar os sintomas psicóticos (Horrobin et al., 1994; Gattaz e Brunner, 1996; Horrobin, 1998;

Gattaz et al., 2011). Em apoio a esta hipótese, vários estudos em plasma, plaquetas, glóbulos vermelhos (Gattaz et al., 1987; 1990; 1995; 2011; Ross et al., 1999; Bennett e Horrobin, 2000; Smesny et al., 2005; 2007, 2011) e cérebro *post-mortem* (Ross et al., 1999) de pacientes com SCZ e transtornos afetivos (Hibbeln et al., 1989, Ross et al., 2006) indicam aumento da atividade da PLA₂, bem como as reduções de fosfolípidos de membrana (Yao et al., 2000; Schmitt et al., 2004; Pearce et al., 2009), aumento de seus metabólitos (Komoroski et al., 2008) e alteração na fluidez da membrana (Eckert et al., 2011). Estudos *in vivo* de neuroimagem sugerem que há um metabolismo de membrana acelerado em SCZ (Pettegrew et al., 1991; Deicken et al., 1994; Stanley et al., 1995; Blüml et al., 1999; Auer et al., 2001; Jensen et al., 2004; Lutkenhoff et al., 2010; Miller et al., 2012). No entanto, alguns resultados conflitantes já foram relatados (Volz et al., 1998; Yacubian et al., 2002; Smesny et al., 2007). Todavia, em um estudo com pacientes com TB jovens e livre de medicações prévias foi descrito uma diminuição da atividade da PLA₂ (Ikenaga et al., 2015). Além disso, Cuturic e colegas (2016) estabeleceram recentemente uma relação causal entre o metabolismo de acilcarnitinas e pacientes com TB e SCZ, sugerindo que alterações nesses metabólitos podem causar os sintomas vistos nestas doenças, apoiando nosso achado de que as acilcarnitinas também desempenham um papel importante nestes transtornos.

A discriminação do diagnóstico entre SCZ e TB logo no início das manifestações clínicas e/ou psicóticas é de grande importância uma vez que ambas podem ter sintomas similares e a distinção nesta fase da doença pode levar a um tratamento específico com mais chances de sucesso na remissão dos sintomas e melhoria na qualidade de vida dos pacientes.

Os nossos resultados corroboram os achados da literatura indicando que alterações no metabolismo de fosfolípidos podem desempenhar um papel fundamental nos transtornos neuropsiquiátricos (Naudí et al., 2015). Nossos achados sugerem que as alterações nas diferentes doenças são difusas, afetando constelações de metabólitos que podem ser específicas para cada distúrbio. Portanto, estudos abrangentes de metabolômica, como o nosso, podem ser úteis para caracterizar processos básicos determinantes dos quadros neuropsiquiátricos, identificando assim marcadores biológicos para o seu diagnóstico precoce.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agranoff BW, Benjamins JA, Hajra AK. Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular, and Medical Aspects. *Lippincott-Raven Publishers*. 1999; 6:731-41.
- APA. Associação Psiquiátrica Americana. Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais DMS-IV-TR. 4ed. rev. e ampl. Porto Alegre: Artmed, 2002.
- Aronson JK. Biomarkers and surrogate endpoints. *Br J Clin Pharmacol*. 2005; 59(5):491-4.
- Arvindakshan M, Sitasawad S, Debsikdar V, Ghatte M, Evans D, Horrobin DF, et al. Essential polyunsaturated fatty acid and lipid peroxide levels in never medicated and medicated schizophrenia patients. *Biological Psychiatry*. 2003; 53:56-64.
- Auer DP, Wilke M, Grabner A, Heidenreich JO, Bronisch T, Wetter TC. Reduced NAA in the thalamus and altered membrane and glial metabolism in schizophrenic patients detected by 1H-MRS and tissue segmentation. *Schizophr Res*. 2001; 52:87-99.
- Bahn S, Schwarz E. Serum-based biomarkers for psychiatric disorders. *Nervenarzt*. 2011; 82(11):1395-1400.
- Bahn S, Schwraz E, Harris LW, Martins-de-Souza D, Rahmoune H, Guest PC. Biomarker blood tests for diagnosis and management of mental disorders: focus on schizophrenia. *Rev de Psiq Clin*. 2013; 40(1):2-9.
- Bales KR. Brain lipid metabolism, apolipoprotein E and the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*. 2010; 59:295-302.
- Barbosa NR, Junqueira RM, Vallada HP, Gattaz WF. Association between BanI genotype and increased phospholipase A2 activity in schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2007; 257(6):340-3.
- Batalla A, Bargalló N, Gassó P, Molina O, Pareto D, Mas S, et al. Apoptotic markers in cultured fibroblasts correlate with brain metabolites and regional brain volume in antipsychotic-naïve first-episode schizophrenia and healthy controls. *Transl Psychiatry*. 2015; 25:626.
- Bazan NG. Lipid signaling in neural plasticity, brain repair and neuroprotection. *Mol Neurobiol*. 2005; 32:89-103.
- Beach TG, Honer WG, Hughes LH. Cholinergic fibre loss associated with diffuse plaques in the non-demented elderly: The preclinical stage of Alzheimer's disease? *Acta Neuropathol*. 1997; 9(2):146-53.
- Beach TG, Sue L, Scott S, Layne K, Newell A, Walker D, Baker M, et al. Hippocampal sclerosis dementia with taupathy. *Brain Pathol*. 2003; 13(3):263-78.
- Bennett CN, Horrobin DF. Gene targets related to phospholipid and fatty acid metabolism in schizophrenia and other psychiatric disorders: an update. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2000; 63:47-59.
- Berger GE, Smesny S, Amminger GP. Bioactive lipids in schizophrenia. *Int Rev Psychiatry*. 2006; 18:85-98.

Bianchi L, De Micheli E, Bricolo A, Ballini C, Fattori M, Venturi C, et al. Extracellular levels of amino acids and choline in human high grade gliomas: an intraoperative microdialysis study. *Neurochem Res.* 2004; 29(1):325-34.

Bird MI, Munday LA, Saggerson ED, Clark JB. Carnitine acyltransferase activities in rat brain mitochondria. *Biochem J.* 1985; 226:323–330.

Blumberg HP, Krystal JH, Bansal R, Martin A, Dziura J, Durkin K, et al. Age, rapid-cycling, and pharmacotherapy effects on ventral prefrontal cortex in bipolar disorder: a cross-sectional study. *Biol Psychiatry.* 2006; 59(7):611-8.

Blüml S, Tan J, Harris K, Adatia N, Karme A, Sproull T, Ross B. Quantitative proton-decoupled ³¹P MRS of the schizophrenic brain in vivo. *J Comput Assist Tomogr.* 1999; 23:272-275.

Blusztajn JK, Gonzalez-Coviella I, Logue M, Growdon JH, Wurtman RJ. Levels of phospholipid catabolic intermediates, glycerophosphocholine and glycerophosphoethanolamine, are elevated in brains of Alzheimer's disease but not of Down's syndrome patients. *Brain Res.* 1990; 536:240-4.

Bogdanov M, Matson WR, Wang L, Matson T, Saunders-Pullman R, Bressman SS, Flint Beal M. Metabolomic profiling to develop blood biomarkers for Parkinson's disease. *Brain.* 2008; 131(2):389-96.

Boksa P. A way forward for research on biomarkers for psychiatric disorders. *J Psychiatry Neurosci.* 2013; 38(2):75-7.

Breiman L, Friedman JH, Olshen RA, Stone CJ. Classification and regression trees. 1984. Belmont, CA: Wadsworth.

Breiman L. Random forests. *Machine learning.* 2001; 45(1):5–32.

Breiman L, Cutler A. An introduction to random forest for beginners. *Salford Systems EUA.* 2014; 71: 24-27.

Bresolin N, Freddo L, Vergani L, Angelini C. Carnitine, carnitine acyltransferases, and rat brain function. *Exp Neurol.* 1982; 78:285–292.

Brown HA, Murphy RC. Working towards an exegesis for lipids in biology. *Nat Chem Biol.* 2009; 5:602–606.

Brunner J, Gattaz WF. Intracerebral injection of phospholipase A2 inhibits dopamine-mediated behavior in rats: possible implications for schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 1995; 246(1):13-6.

Buxbaum JD, Oishi M, Chen HI, Pinkas-Kramarski R, Jaffe EA, Gandy SE, Greengard P. Cholinergic agonists and interleukin 1 regulate processing and secretion of the Alzheimer beta/A4 amyloid protein precursor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992; 89(21):10075-8.

Burke JE, Dennis EA. Phospholipase A2 structure/function, mechanism and signaling. *J Lipid Res.* 2009; 237-42.

Calabrese V, Stella AMG, Calvani M, Butterfield DA. Acetylcarnitine and cellular stress response: roles in nutritional redox homeostasis and regulation of longevity genes. *J Nutr Biochem.* 2006; 17:73–88.

Calder PC. N-3 polyunsaturated fatty acids and inflammation: from molecular biology to the clinic. *Lipids*. 2003; 38(4):343–352.

Cai S, Huo T, Li N, Xiong Z, Li F. Lysophosphatidylcholine – biomarker of Metformin action: studied using UPLC/MS/MS. *Biomed Chromatogr*. 2009; 23:782–786.

Cao B, Stanley JA, Selvaraj S, Mwangi B, Passos IC, Zunta-Soares GB, Soares JC. Evidence of altered membrane phospholipid metabolism in the anterior cingulate cortex and striatum of patients with bipolar disorder I: A multi-voxel 1H MRS study. *J of Psych Res*. 2016; 81:48–55.

Caramelli P. Neuropatologia da Doença de Alzheimer. In: Forlenza OV, Caramelli P, editores. *Neuropsiquiatria Geriátrica*. São Paulo: Atheneu. 2001; 107–118.

Casanova R, Varma S, Simpson B, Kim M, An Y, Saldana S, Riveros C, et al. Blood metabolite markers of preclinical Alzheimer's disease in two longitudinally followed cohorts of older individuals. *Alzheimers Dement*. 2016; 15:1552–5260.

Chatterjee P, Lim WL, Shui G, Gupta VB, James I, Fagan AM, et al. Plasma Phospholipid and Sphingolipid Alterations in Presenilin1 Mutation Carriers: A Pilot Study. *J Alzheimers Dis*. 2016; 50(3):887–94.

Cherayil GD. Estimation of glycolipids in four selected lobes of human brain in neurological diseases. *J Neurochem*. 1969; 16(3):913–20.

Chevalleyre V, Takahashi KA, Castillo PE. Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity in the CNS. *Annu Rev Neurosci*. 2006; 29: 37–76.

Chiu CC, Huang SY, Su KP, Lu ML, Huang MC, Chen CC, et al. Polyunsaturated fatty acid deficit in patients with bipolar mania. *Europ Neuropsychophar*. 2003; 13:99–103.

Cho SM, Kim HV, Lee S, Kim HY, Kim W, Kim TS, et al. Correlations of amyloid- β concentrations between CSF and plasma in acute Alzheimer mouse model. *Sci Rep*. 2014; 27:4–6777.

Coetzee T, Fujita N, Dupree J, Shi R, Blight A, Suzuki K, et al. Myelination in the absence of galactocerebroside and sulfatide: normal structure with abnormal function and regional instability. *Cell*. 1996; 86:209–219.

Colangelo V, Schurr J, Ball MJ, Pelaez RP, Bazan NG, Lukiw WJ. Gene expression profiling of 12633 genes in Alzheimer hippocampal CA1: transcription and neurotrophic factor down-regulation and up-regulation of apoptotic and pro-inflammatory signaling. *J Neurosci Res*. 2002; 70:462–473.

Conquer JA, Tierney MC, Zecevic J, Bettger WJ, Fisher RH. Fatty acid analysis of blood plasma of patients with Alzheimer's disease, other types of dementia and cognitive impairment. *Lipids*. 2000; 35:1305–12.

Cuturic M, Abramson RK, Breen RJ, Edwards AC, Levy EE. Comparison of serum carnitine levels and clinical correlates between outpatients and acutely hospitalised individuals with bipolar disorder and schizophrenia: A cross-sectional study. *World J Biol Psychiatry*. 2016; 17(6):475–9.

Danielli JF, Davson HJ. A contribution to the theory of permeability of thin films. *Cell Comp Physiol*. 1935; 5:495–508.

Deicken RF, Calabrese G, Merrin EL, Meyerhoff DJ, Dillon WP, Weiner MW, Fein G. 31 phosphorus magnetic resonance spectroscopy of the frontal and parietal lobes in chronic schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 1994; 36:503-510.

Demirkan A, Isaacs A, Ugocsai P, Liebisch G, Struchalin M, Rudan I, et al. Plasma phosphatidylcholine and sphingomyelin concentrations are associated with depression and anxiety symptoms in a Dutch family-based lipidomics study. *J Psychiatr Res*. 2013; 47: 357-362.

Di Paolo G, Kim TW. Linking lipids to Alzheimer's disease: cholesterol and beyond. *Nat Rev Neurosci*. 2011; 12:284-296.

duBois TM, Deng C, Huang XF. Membrane phospholipid composition, alterations in neurotransmitter systems and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2005; 29:878-88.

Dudley E, Yousef M, Wang Y, Griffiths WJ. Targeted metabolomics and mass spectrometry. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2010; 80:45-83.

Ebert D, Haller RG, Walton ME. Energy contribution of octanoate to intact rat brain metabolism measured by C-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J Neurosci*. 2003; 23:5928-5935.

Eckert GP, Schaeffer EL, Schmitt A, Maras A, Gattaz WF. Increased brain membrane fluidity in schizophrenia. *Pharmacopsychiatry*. 2011; 44:161-162.

Ellis DI, Dunn WB, Griffin JL, Allwood JW, Goodacre R. Metabolic fingerprinting as a diagnostic tool. *Pharmacogenomics*. 2007; 8(9):1243-66.

Evangelisti E, Zampagni M, Cascella R, Becatti M, Fiorillo C, Caselli A, et al. Plasma membrane injury depends on bilayer lipid composition in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2014; 41(1):289-300.

Fahy E, Subramaniam S, Brown HA, Glass CK, Merrill Jr. AH, Murphy RC, et al. A comprehensive classification system for lipids. *J Lipid Res*. 2005; 46:839-861.

Fahy E, Subramaniam S, Murphy RC, Nishijima M, Raetz CRH, Shimizu T, et al. Update of the LIPID MAPS comprehensive classification system for lipids. *J Lipid Res*. 2009; 50:9-14.

Farooqui AA, Rapaport SI, Horrocks LA. Membrane phospholipid alterations in Alzheimer's disease: deficiency of ethanolamine plasmalogens. *Neurochem Res*. 1997; 22:523-7.

Farooqui AA, Horrocks LA, Farooqui T. Glycerophospholipids in brain: their metabolism, incorporation into membranes, functions, and involvement in neurological disorders. *Chem Phys Lipids*. 2000; 106:1-29.

Fenton WS, Hibbeln J, Knable M. Essential fatty acids, lipid membrane abnormalities, and the diagnosis and treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2000; 47:8-21.

Ferrucci L, Cherubini A, Bandinelli S, Bartali B, Corsi A, Lauretani F, et al. Relationship of plasma polyunsaturated fatty acids to circulating inflammatory markers. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(2):439-446.

Fiandaca MS, Zhong X, Cheema AK, Orquiza MH, Chidambaram S, Tan MT, et al. Plasma 24-

metabolite panel predicts preclinical transition to clinical stages of Alzheimer's disease. *Front Neurol*. 2015; 6:1-13.

First MB, Spitzer RL, Gibbon M, Williams JBW. Structured clinical interview for DSM-IV-TR Axis I Disorders. Research version. Non-patient edition (SCID-I/NP). New York: Biometrics Research. New York State Psychiatric Institute. November 2002.

Fonteh AN, Chiang J, Cipolla M, Hale J, Diallo F, Chirino A, et al. Alterations in cerebrospinal fluid glycerophospholipids and phospholipase A2 activity in Alzheimer's disease. *J Lipid Res*. 2013; 54:2884-97.

Forlenza OV, Wacker P, Nunes PV, Yacubian J, Castro CC, Otaduy MC, Gattaz WF. Reduced phospholipid breakdown in Alzheimer's brains: a ³¹P spectroscopy study. *Psychopharmacology*. 2005; 180(2):359-365.

Forlenza OV, Schaeffer EL, Gattaz WF. The role of phospholipase A2 in neuronal homeostasis and memory formation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Neural Transm*. 2007; 114:231-8.

Francis P, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999; 66:137-147.

Frangou S, Lewis M, Wollard J, Simmons A. Preliminary in vivo evidence of increased N-acetyl-aspartate following eicosapentanoic acid treatment in patients with bipolar disorder. *J Psychopharmacol*. 2007; 21(4):435-9.

Frisardi V, Panza F, Seripa D, Farooqui T, Farooqui AA. Glycerophospholipids and glycerophospholipid-derived lipid mediators: a complex meshwork in Alzheimer's disease pathology. 2011. *Prog Lipid Res*. 50, 313-330.

Fuentealba RA, Farias G, Scheu J, Bronfman M, Marzolo MP, Inestrosa NC. Signal transduction during amyloid β peptide neurotoxicity: Role in Alzheimer's disease. *Brain Research Reviews*. 2004; 47:275-289.

Fukuzako H, Kodama S, Fukuzako T, Yamada K, Doi W, Sato D, Takigawa M. Subtype-associated metabolite differences in the temporal lobe in schizophrenia detected by proton magnetic resonance spectroscopy. *Psychiatry Res*. 1999; 92(1):45-56.

Gallala HD, Breiden B, Sandhoff K. Regulation of the NPC2 protein-mediated cholesterol trafficking by membrane lipids. *J Neurochem*. 2011; 116:702-707.

Gattaz WF, Gattaz D, Beckmann H. Glutamate in schizophrenics and healthy controls. *Arch Psychiatr Nervenkr*. 1982; 231(3):221-5.

Gattaz WF, Köllisch M, Thuren T, Virtanen JA, Kinnunen PK. Increased plasma phospholipase-A2 activity in schizophrenic patients: reduction after neuroleptic therapy. *Biol Psychiatry*. 1987; 22:421-426.

Gattaz WF, Hübner CV, Nevalainen TJ, Thuren T, Kinnunen PK. Increased serum phospholipase A2 activity in schizophrenia: a replication study. *Biol Psychiatry*. 1990; 28: 495-501.

Gattaz WF, Nevalainen TJ, Kinnunen PK. Possible involvement of phospholipase A2 in the pathogenesis of schizophrenia. *Fortschr Neurol Psychiatr*. 1990; 58:148-53.

- Gattaz WF, Maras A, Cairns NJ, Levy R, Forst H. Decreased phospholipase A2 activity in Alzheimer brains. *Biol Psychiatry*. 1995; 37:13-17.
- Gattaz WF, Schmitt A, Maras A. Increased platelet phospholipase A2 activity in schizophrenia. *Schizophr. Res*. 1995; 16:1-6.
- Gattaz WF, Brunner J. Phospholipase A2 and the hypofrontality hypothesis of schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1996; 55:109-113.
- Gattaz WF, Cairns NJ, Levy R, Förstl H, Braus DF, Maras A. Decreased phospholipase A2 activity in the brain and in platelets of patients with Alzheimer's disease. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 1996; 246:129-31.
- Gattaz WF, Forlenza OV, Talib LL, Barbosa NR, Bottino CM. Platelet phospholipase A2 activity in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *J Neural Transm*. 2004; 111:591-601.
- Gattaz WF, Valente KD, Raposo NR, Vincentiis S, Talib LL. Increased PLA2 activity in the hippocampus of patients with temporal lobe epilepsy and psychosis. *J Psychiatr Res*. 2011; 45:1617-20.
- Gattaz WF, Talib LL, Schaeffer EL, Dinis BS, Forlenza OV. Low platelet iPLA2 activity predicts conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease: a 4-year follow-up study. *J Neural Transm*. 2014; 121:193-200.
- Gaudin M, Panchal M, Auzeil N, Duyckaerts C, Brunelle A, Laprevote O, Touboul D. Choline-containing phospholipids in microdissected human Alzheimer's disease brain senile plaque versus neuropil. *Bioanalysis*. 2012; 4:2153-5159.
- Gauthier S, Reisberg B, Zaudig M, Petersen RC, Ritchie K, Broich K et al. Mild cognitive impairment. *Lancet*. 2006; 367:1262–1270.
- Glenn AL. Neuroendocrine markers of psychopathy. In: Ritsner MS, editor. The handbook of neuropsychiatric biomarkers, endophenotypes and genes. Volume 3: Metabolic and peripheral biomarkers. 2009. New York, NY: Springer New York. pp 59–71.
- Goldsmith SK, Joyce JN. Alterations in Hippocampal Mossy Fiber pathway in schizophrenia and Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*. 1995; 37:122-126.
- Gongadze N, Antelava N, Kezeli T, Okudjava M, Pachkoria K. The mechanisms of neurodegenerative processes and current pharmacotherapy of Alzheimer's disease. *Georgian Med News*. 2008; 155:44-8.
- Gonzalez-Dominguez R, Garcia-Barrera T, Gomez-Ariza JL. Metabolomic study of lipids in serum for biomarker discovery in Alzheimer's disease using direct infusion mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*. 2014a; 98:321-6.
- Gonzalez-Dominguez R, Garcia-Barrera T, Gomez-Ariza JL. Using direct infusion mass spectrometry for serum metabolomics in Alzheimer's disease. *Anal Bioanal Chem*. 2014b; 406:7137-48.
- Goodenowe DB, Cook LL, Liu J, Lu Y, Jayasinghe DA, Ahiahonu OWK, et al. Peripheral ethanolamine plasmalogen deficiency: a logical causative factor in Alzheimer's disease and dementia. *J Lipid Res*. 2007; 48:2485-98.

- Gottfries CG, Karlsson I, Svennerholm L. Membrane components separate early-onset Alzheimer's disease from senile dementia of the Alzheimer type. *Int Psychogeriatr*. 1996; 8:365-72.
- Govindaraju V, Young K, Maudsley AA. Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. *NMR Biomed*. 2000; 13:129-153.
- Gracia-Garcia P, Rao V, Haughey NJ, Ratnam Banduru VV, Smith G, Rosenberg PB, Lobo A, et al. Elevated plasma ceramides in depression. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2011; 23:215-218.
- Gravaghi C, La Perle KM, Ogradowski P, Kang JX, Quimby F, Lipkin M, Lamprecht SA. Cox-2 expression, PGE(2) and cytokines production are inhibited by endogenously synthesized n-3 PUFAs in inflamed colon of fat-1 mice. *J Nutr Biochem*. 2011; 22(4):360-365.
- Grimm MO, Grimm HS, Patzold AJ, Zinser EG, Halonen R, Duering M, et al. Regulation of cholesterol and sphingomyelin metabolism by amyloid-beta and presenilin. *Nat Cell Biol*. 2005; 7:1118-23.
- Guest PC, Guest FL, Martins-de Souza D. Making Sense of Blood-Based Proteomics and Metabolomics in Psychiatric Research. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2015.
- Haass C. Take five-Bace and the γ -secretase quartet conduct Alzheimer's amyloid β -peptide generation. *The EMBO Journal*. 2004; 23(3):483-488.
- Hamazaki K, Choi KH, Kim HY. Phospholipid profile in the postmortem hippocampus of patients with schizophrenia and bipolar disorder: no changes in docosahexaenoic acid species. *J Psychiatr Res*. 2010; 44(11):688-93.
- Hamazaki K, Maekawa M, Toyota T, Dean B, Hamazaki T, Yoshikawa T. Fatty acid composition of the postmortem prefrontal cortex of patients with schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. *Psychiatry Res*. 2015; 227(2-3):353-9.
- Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1960; 23:56-62.
- Herrera E Jr, Caramelli P, Silveira ASB, Nitrini R. Epidemiologic survey of dementia in a Community-dwelling Brazilian population. *Alzheimer Disease and Associated Disorders*. 2002; 16(2):103-108.
- Hibbeln JR, Palmer JW, Davis JM. Are disturbances in lipid-protein interactions by phospholipase-A2 a predisposing factor in affective illness? *Biol Psychiatry*. 1989; 25:945-61.
- Hirashima F, Parow AM, Stoll AL, Demopulos CM, Damico KE, Rohan ML, et al. Omega-3 fatty acid treatment and T(2) whole brain relaxation times in bipolar disorder. *Am J Psychiatry*. 2004; 161(10):1922-1924.
- Horning N. Introduction to decision trees and random forests. *American Museum of Natural Historys and Center Biodiversity and Conservation*. 2013; Acesso em: 10 abril de 2014. 23-24.
- Horrobin DF, Manku MS, Hillman H, Iain A, Glen AIM. Fatty acid levels in the brains of schizophrenics and normal controls. *Biol Psychiatry*. 1991; 30:795-805.
- Horrobin DF, Glen AI, Vaddadi K. The membrane hypothesis of schizophrenia. *Schizophr Res*. 1994; 13:195-207.

Horrobin DF. The membrane phospholipid hypothesis as a biochemical basis for the neurodevelopmental concept of schizophrenia. *Schizophr Res*. 1998; 30:193-208.

Horrobin DF, Bennett CN. New gene targets related to schizophrenia and other psychiatric disorders: enzymes, binding proteins and transport proteins involved in phospholipid and fatty acid metabolism. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1999; 60:141-67.

Horrobin, DF. The lipid hypothesis of schizophrenia: Brain Lipids and Disorders in Biological Psychiatry. *Elsevier Science*. 2002; 39-52.

Horrobin DF, Bennett CN. Phospholipid Metabolism and the Pathophysiology of Psychiatry and Neurological Disorders in Peet M., Glen I, Horrobin DF. Phospholipid Spectrum Disorders in Psychiatry and Neurology. 2^a ed. Lancashire UK: Marius Press; 2003.

Howells FM, Ives-Deliperi VL, Horn NR, Stein DJ. Increased thalamic phospholipid concentration evident in bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2013; 41:1-5.

Huston JP, Kornhuber J, Mühle C, Japtok L, Komorowski M, Mattern C, et al. A sphingolipid mechanism for behavioral extinction. *J Neurochem*. 2016; 137(4):589-603.

Igarashi M, Ma K, Gao F, Kim HW, Greenstein D, Rapoport SI, Rao JS. Brain lipid concentrations in bipolar disorder. *J Psychiatr Res*. 2010; 44(3):177-82.

Ikenaga EH, Talib LL, Ferreira AS, Machado-Vieira R, Forlenza OV, Gattaz WF. Reduced activities of phospholipases A2 in platelets of drug-naïve bipolar disorder patients. *Bipolar Disord*. 2015; 17:97-101.

Innis SM. Perinatal biochemistry and physiology of long chain polyunsaturated fatty acids. *J Pediatr*. 2003; 143:1-8.

Innis SM. Dietary omega 3 fatty acids and the developing brain. *Brain Res*. 2008; 1237:35-43.

IUPAC Gold Book, http://mass-spec.lsu.edu/msterms/index.php/Category:Gold_Book_term.

Jenkins SM, Johnson VW. Modulation of Tau phosphorylation with ion its microtubule-binding domain by cellular thiols. *J of Neurochemistry*. 1999; 73:1843-1850.

Jensen JE, Miller J, Williamson PC, Neufeld RW, Menon RS, Malla A, Manchanda R, et al. Focal changes in brain energy and phospholipid metabolism in first-episode schizophrenia: 31P-MRS chemical shift imaging study at 4 Tesla. *Br J Psychiatry*. 2004; 184:409-415.

Jones LL, McDonald DA, Borum PR. Acylcarnitines: role in brain. *Prog Lipid Res*. 2010; 49: 61-75.

Josephs KA, Van Gerpen MW, Van Gerpen JA. Adult onset Niemann-Pick disease type C presenting with psychosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003; 74(4):528-9.

Jové M, Portero-Otín M, Naudí A, Ferrer I, Pamplona R. Metabolomics of human brain aging and age-related neurodegenerative diseases. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2014; 73(7):640-57.

Kaddurah-Daouk R, Krishnan KR. Metabolomics: a global biochemical approach to the study of central nervous system diseases. *Neuropsychopharmac*. 2009; 34(1):173-86.

Kapur S, Seeman P. Does fast dissociation from the dopamine d(2) receptor explain the action of atypical antipsychotics? A new hypothesis. *Am J Psychiatry*. 2001; 158:360-9.

Karlberg B, Pacey GE. Flow Injection Analysis - A Practical Guide: Technique and Instrumentation in Analytical Chemistry. 1989; v10. Elsevier; Amsterdam.

Katsel P, Li C, Haroutunian V. Gene expression alterations in the sphingolipid metabolism pathways during progression of dementia and Alzheimer's disease: a shift toward ceramide accumulation at the earliest recognizable stages of Alzheimer's disease? *Neurochem Res*. 2007; 32(4-5):845-56.

Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale for schizophrenia. *Schizophr Bull*. 1987; 13:261-76.

Kennedy EP, Weiss SB. The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipids. *J Biol Chem*. 1956; 222:193-214.

Khan MM, Evans DR, Gunna V, Scheffer RE, Parikh VV, Mahadik SP. Reduced erythrocyte membrane essential fatty acids and increased lipid peroxides in schizophrenia at the never-medicated first-episode of psychosis and after years of treatment with antipsychotics. *Schizophr Res*. 2002; 58:1-10.

Kido Y, Tamai I, Ohnari A, Sai Y, Kagami T, Nezu J, *et al*. Functional relevance of carnitine transporter OCTN2 to brain distribution of L-carnitine and acetyl-L-carnitine across the blood-brain barrier. *J Neurochem*. 2001; 79:959-969.

Kim JS, Kornhuber HH, Schmid-Burgk W, Holzmüller B. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. *Neurosci Lett*. 1980; 20:379-82.

Kimura S, Amemiya F. Brain and liver pathology in a patient with carnitine deficiency. *Brain Dev*. 1990; 12:436-439.

Klavins K, Koala T, Dallmann Guido, Marksteiner J, Kemmler G, Humpel C. The ratio of phosphatidylcholines to lysophosphatidylcholines in plasma differentiates healthy controls from patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Alzheimers Dement*. 2015; 1:295-302.

Klein J. Membrane breakdown in acute and chronic neurodegeneration: focus on choline-containing phospholipids. *J Neural Transm*. 2000; 107:1027-63.

Koal T, Digner HP. Challenges in mass spectrometry based targeted metabolomics. *Curr Mol Med*. 2010; 10(2):216-26.

Komoroski RA, Pearce JM, Mrak RE. ³¹P NMR spectroscopy of phospholipid metabolites in postmortem schizophrenic brain. *Magn Reson Med*. 2008; 59:469-474.

Konradi C, Eaton M, MacDonald ML, Walsh J, Benes FM, Heckers S. Molecular evidence for mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *Arch Gen Psych*. 2004; 61:300-308.

Kornhuber J, Müller CP, Becker KA, Reichel M, Gulbins E. The ceramide system as a novel antidepressant target. *Trends Pharmacol Sci*. 2014; 35:293-304.

Kosiec M, Kirsch S, Bene R, Trkanjec Z, Titlic M, Bindila L, *et al*. Nano-HPLC-MC analysis of

phospholipids in cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients – a pilot study. *Anal Bioanal Chem.* 2010; 398:2929-37.

Kosiec M, Zetterberg H, Andreasen N, Peter-Katalinic J, Hecimovic S. Elevated cerebrospinal fluid sphingomyelin levels in prodromal Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.* 2012; 516:302-5.

Kosicek M, Hecimovic S. Phospholipids and Alzheimer's disease: alterations, mechanisms and potential biomarkers. *Int J Mol Sci.* 2013; 14(1):1310-22.

Kurita M, Nishino S, Numata Y, Okubo Y, Sato T. The noradrenaline metabolite MHPG is a candidate biomarker between the depressive, remission, and manic states in bipolar disorder I: two long-term naturalistic case reports. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2015; 11:353–358.

Lacina O, Urbanova J, Poustka J, Hajslova J. Identification/quantification of multiple pesticide residues in food plants by ultra-high-performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2010; 1217(5):648-59.

Lahiri S, Futerman AH. The metabolism and function of sphingolipids and glycosphingolipids. *Cell Mol Life Sci.* 2007; 64:2270-2284.

Larsen TK, Melle I, Auestad B, Haahr U, Joa I, Johannessen JO, et al. Early detection of psychosis: positive effects on 5-year outcome. *Psychol Med.* 2011; 41(7):1461-9.

Laruelle M, Abi-Dargham A, van Dyck CH, Gil R, D'Souza CD, Erdos J, et al. Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine - induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996; 93:9235-40.

Laruelle M, Abi-Dargham A, Gil R, Kegeles L, Innis R. Increased dopamine transmission in schizophrenia: relationship to illness phases. *Biol Psychiatry.* 1999; 46:56-72.

Liu Y, Li N, Zhou L, Li Q, Li W. Plasma metabolic profiling of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease using liquid chromatography/mass spectrometry. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem.* 2014; 14(2):113-20.

Lovestone S, McLoughlin DM. Protein aggregates and dementia: is there a common toxicity? *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2002; 72(2):152-61.

Lutkenhoff ES, vanErp TG, Thomas MA, Therman S, Manninen M, Huttunen MO, et al. Proton MRS in twin pairs discordant for schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 2010; 15:308-318.

Mahadik SP, Evans DR. Is schizophrenia a metabolic brain disorder? Membrane phospholipid dysregulation and its therapeutic implications. *Psychiatr Clin North Am.* 2003; 26:85-102.

Malhi GS, Ivanovski B, Wen W, Lagopoulos J, Moss K, Sachdev P. Measuring mania metabolites: a longitudinal proton spectroscopy study of hypomania. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 2007; 434:57-66.

Mapstone M, Cheema AK, Fiandaca MS, Zhong X, Mhyre TR, MacArthur LH, et al. Plasma phospholipids identify antecedent memory impairment in older adults. *Nat Med.* 2014; 20:415-8.

McClay JL, Vunck SA, Batman AM, Crowley JJ, Vann RE, Beardsley PM, van den Oord EJ. Neurochemical Metabolomics Reveals Disruption to Sphingolipid Metabolism Following Chronic Haloperidol Administration. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2015; 10(3):425-34.

McClure RJ, Kanfer JN, Panchalingam K, Klunk WE, Pettegrew JW. Alzheimer's disease: membrane-associated metabolic changes. *Ann N Y Acad Sci.* 1994; 747:110-24.

McEvoy J, Baillie RA, Zhu H, Buckley P, Keshavan MS, Nasrallah HA, et al. Lipidomics reveals early metabolic changes in subjects with schizophrenia: effects of atypical antipsychotics. *PLoS One.* 2013; 68717.

McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology.* 1984; 34:939-44.

McNamara RK, Jandacek R, Rider T, Tso P, Stanford KE, Hahn CG, et al. Deficits in docosahexaenoic acid and associated elevations in the metabolism of arachidonic acid and saturated fatty acids in the postmortem orbitofrontal cortex of patients with bipolar disorder. *Psych Res.* 2008; 160:285–99.

McNamara RK. Role of Omega-3 Fatty Acids in the Etiology, Treatment, and Prevention of Depression: Current Status and Future Directions. *J Nutr Intermed Metab.* 2016; 5:96-106.

Miecz D, Januszewicz E, Czeredys M, Hinton BT, Berezowski V, Cecchelli R, Nalecz KA. Localization of organic cation/carnitine transporter [OCTN2] in cells forming the blood–brain barrier. *J Neurochem.* 2008; 104:113–123.

Mielke MM, Maetzler W, Haughey NJ, Bandaru VVR, Savica R, Deuschle C, et al. Plasma ceramide and glucosylceramide metabolism is altered in sporadic Parkinson's disease and associated with cognitive impairment: a pilot study. *PLoS ONE.* 2013; 8:73094.

Miller J, Drost DJ, Jensen E, Manchanda R, Northcott S, Neufeld RW, et al. Progressive membrane phospholipid changes in first episode schizophrenia with high field magnetic resonance spectroscopy. *Psychiatry Res.* 2012; 201:25-33.

Mishur RJ, Rea SL. Applications of mass spectrometry to metabolomics and metabonomics: detection of biomarkers of aging and of age-related diseases. *Mass Spectrom Rev.* 2012; 31(1):70-95.

Mohs RC, Haroutunian V. Alzheimer disease: from earliest symptoms to end stage. In: Davis KL, Charney D, Coyle JT, Nemeroff C, editores. Neuropsychopharmacology: The fifth generation of progress. *Am Coll of Neuropsychopharmac.* 2002; 1189-1197.

Moorhead TW, McKirdy J, Sussmann JE, Hall J, Lawrie SM, Johnstone EC, McIntosh AM. Progressive gray matter loss in patients with bipolar disorder. *Biol Psychiatry.* 2007; 62(8):894-900.

Morgado I, Garvey M. Lipids in Amyloid- β Processing, Aggregation, and Toxicity. *Adv Exp Med Biol.* 2015; 855:67-94.

Mufson EJ, Binder L, Counts SE, DeKosky ST, de Toledo-Morrell L, Ginsberg SD, et al. Mild cognitive impairment: pathology and mechanisms. *Acta Neuropathol.* 2012; 123(1):13-30.

Mulder C, Wahlund LO, Teerlink T, Blomberg M, Veerhuis R, van Kamp GJ, et al. Decreased lysophosphatidylcholine/phosphatidylcholine ratio in cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease. *J Neural Transm.* 2003; 110:949–955.

Mulder M, Ravid R, Swaab DF, de Kloet ER, Haasdijk ED, Jolk J, et al. Reduced levels of cholesterol, phospholipids, and fatty acids in cerebrospinal fluid of Alzheimer disease patients are not related to apolipoprotein E4. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 1998; 12:198-203.

Müller CP, Reichel M, Mühle C, Rhein C, Gulbins E, Kornhuber J. Brain membrane lipids in major depression and anxiety disorders. *Biochim Biophys Acta*. 2015; 1851:1052-65.

Nakanishi T, Hatanaka T, Huang W, Prasad PD, Leibach FH, Ganapathy ME, Ganapathy V. Na⁺- and Cl⁻-coupled active transport of carnitine by the amino acid transporter ATB[0, +] from mouse colon expressed in HRPE cells and *Xenopus* oocytes. *J Physiol-London*. 2001; 532:297-304.

Nalecz KA, Miecz D, Berezowski V, Cecchelli R. Carnitine: transport and physiological functions in the brain. *Mol Aspects Med*. 2004; 25:551-567.

Narayan S, Thomas EA. Sphingolipid abnormalities in psychiatric disorders: a missing link in pathology? *Frontiers in Bioscience*. 2011; 16:1797-1810.

Narayan S, Head SR, Gilmartin TJ, Dean B, Thomas EA. Evidence for disruption of sphingolipid metabolism in schizophrenia. *J Neurosci Res*. 2009; 87(1):278-88.

Naudí A, Cabré R, Jové M, Ayala V, Gonzalo H, Portero-Otín M, et al. Lipidomics of human brain aging and Alzheimer's disease pathology. *Int Rev Neurobiol*. 2015; 122:133-89.

Nitsch RM, Blusztajn JK, Pittas AG, Slack BE, Growdon JH, Wurtman RJ. Evidence for a membrane defect in Alzheimer disease brain. *Proc Natl Acad Sci*. 1992; 89:1671-5.

Oberacher H, Arnhard K, Linhart C, Diwo A, Marksteiner J, Humpel C. Targeted metabolomic analysis of soluble lysates from platelets of patients with Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease compared to healthy controls: Is PC ae C40:4 a promising diagnostic tool? *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017; xx:xx-xx.

Ohi K, Ursini G, Li M, Shin JH, Ye T, Chen Q, et al. DEGS2 polymorphism associated with cognition in schizophrenia is associated with gene expression in brain. *Transl Psychiatry*. 2015; 5:550.

Ojopi EPB; Bertoncini AB; Dias-Neto E. Apolipoproteína E e a doença de Alzheimer. *Arch of Clin Psych*. 2004; 31:1.

Olazarán J, Gil-de-Gómez L, Rodríguez-Martín A, Valentí-Soler M, Frades-Payo B, Marín-Muñoz J, et al. A blood-based, 7-metabolite signature for the early diagnosis of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2015; 45(4):1157-73.

Pan X, Nasaruddin MB, Elliott CT, McGuinness B, Passmore AP, Kehoe PG, et al. Alzheimer's disease-like pathology has transient effects on the brain and blood metabolome. *Neurobiol Aging*. 2016

Pearce JM, Komoroski RA, Mrazek RE. Phospholipid composition of postmortem schizophrenic brain by 31P NMR spectroscopy. *Magn Reson Med*. 2009; 61:28-34.

Peet M, Laugharne JDE, Horrobin DF, Reynolds GP. Arachidonic acid: a common link in the biology of schizophrenia? *Arch Gen Psychiatry*. 1994; 51:665-666.

Perttu EK, Kohli AG, Szoka Jr FC. Inverse-phosphocholine lipids: a remix of a common

phospholipid. *J Am Chem Soc.* 2012. 134:4485-4488.

Petersen RC, Stevens JC, Ganguli M, Tangalos EG, Cummings JL, DeKosky ST. Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology.* 2001; 56:1133–1142.

Petersen RC. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Intern Med.* 2004; 256:183–94.

Peterson BL, Cummings BS. A review of chromatographic methods for the assessment of phospholipids in biological samples. *Biomed Chromatogr.* 2006; 20(3):227-43.

Pettegrew JW, Keshavan MS, Panchalingam K, Strychor S, Kaplan DB, Tretta MG, Allen M. Alterations in brain highenergy phosphate and membrane phospholipid metabolism in first episode, drug-naïve schizophrenics. A pilot study of the dorsal prefrontal cortex by in vivo phosphorus 31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Arch Gen Psychiatry.* 1991; 48:563-568.

Pettegrew JW, Levine J, McClure RJ. Acetyl-L-carnitine physical–chemical, metabolic, and therapeutic properties: relevance for its mode of action in Alzheimer’s disease and geriatric depression. *Mol Psychiatry.* 2000; 5:616–632.

Pettegrew JW, Panchalingam K, Hamilton RL, McClure RJ. Brain membrane phospholipid alterations in Alzheimer’s disease. *Neurochem Res.* 2001; 26:771-82.

Phillips ML, Kupfer DJ. Bipolar disorder diagnosis: challenges and future directions. *Lancet.* 2013; 381:1663–1671.

Prasad MR, Lovell MA, Yatin M, Dhillon H, Markesbery WR. Regional membrane phospholipid alterations in Alzheimer’s disease. *Neurochem Res.* 1998; 23:81-8.

Racchi M, Govoni S. The pharmacology of amyloid precursor protein processing. *Experimental Gerontology.* 2003; 38:145-157.

Ranjekar PK, Hinge A, Hegde MV, Ghate M, Kale A, Sitasawad S, et al. Decreased antioxidant enzymes and membrane essential polyunsaturated fatty acids in schizophrenic and bipolar mood disorder patients. *Psychiatry Research.* 2003; 121:109-22.

Rapoport SI. Lithium and the other mood stabilizers effective in bipolar disorder target the rat brain arachidonic acid cascade. *ACS Chem Neurosci.* 2014; 5(6):459–467.

Rebouche CJ, Engel AJ. Tissue distribution of carnitine biosynthetic enzymes in man. *Biochim Biophys Acta.* 1980; 630:22-29.

Regehr WG, Carey MR, Best AR. Activity-dependent regulation of synapses by retrograde messengers. *Neuron.* 2009; 63:154–170.

Regehr KJ, Domenech M, Koepsel JT, Carver KC, Ellison-Zelski SJ, Murphy WL, et al. Biological implications of polydimethylsiloxane-based microfluidic cell culture. *Lab Chip.* 2009; 9(15):2132-9.

Reis BF; Giné MF; Kronka EAM. Quím. Nova 1989; 12:82.

Reis BF, Bergamin FH. Quím. Nova 1993; 16:570.

Reuter SE, Evans AM. Carnitine and acylcarnitines. *Clinical Pharmacokinetics*. 2012; 51:553-572.

Richardson AJ, Ross MA. Fatty acid metabolism in neurodevelopmental disorder: a new perspective on associations between attention-deficit/hyperactivity disorder, dyslexia, dyspraxia and the autistic spectrum. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2000; 63:1-9.

Rietkerk T, Boks MP, Sommer IE, de Jong S, Kahn RS, Ophoff RA. Network analysis of positional candidate genes of schizophrenia highlights myelin-related pathways. *Mol Psychiatry*. 2009; 14(4):353-5.

Roher AE, Baudry J, Chanev MO, Kuo YM, Stine WB, Emmerling MR. Oligomerization and fibril assembly of the amyloid-beta protein. *Biochim Biophys Acta*. 2000; 26:1502(1):31-43.

Ross BM, Moszczynska A, Erlich J, Kish SJ. Phospholipid-metabolizing enzymes in Alzheimer's disease: increased lysophospholipid acyltransferase activity and decreased phospholipase A2 activity. *J Neurochem*. 1998; 70:786-793.

Ross BM, Turenne S, Moszczynska A, Warsh JJ, Kish SJ. Differential alteration of phospholipase A2 activities in brain of patients with schizophrenia. *Brain Res*. 1999; 821:407-413.

Ross BM, Hughes B, Kish SJ, Warsh JJ. Serum calcium-independent phospholipase A2 activity in bipolar affective disorder. *Bipolar Disord*. 2006; 8:265-270.

Ruzicka J, Hansen EH. Flow Injection Analysis. 2a ed., New York, 1988.

Sanchez MP, Alvarez-Tallada V, Avila J. The microtubule-associated protein tau in neurodegenerative diseases. *Rev Neurol*. 2001; 33(2):169-177.

Sarter M. Neuronal mechanisms of the attentional dysfunctions in senile dementia and schizophrenia: two sides of the same coin? *Psychopharmacology*. 1994; 114:539-550.

Saunders EF, Ramsden CE, Sherazy MS, Gelenberg AJ, Davis JM, Rapoport SI. Omega-3 and Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids in Bipolar Disorder: A Review of Biomarker and Treatment Studies. *J Clin Psychiatry*. 2016; 77(10):1301-1308.

Schaefer EJ, Bongard V, Beiser AS, Lamon-Fava S, Robins SJ, Au R, et al. Plasma phosphatidylcholine docosahexaenoic acid content and risk of dementia and Alzheimer disease: the Framingham Heart Study. *Arch Neurol*. 2006; 63:1545-1550.

Schaeffer EL, Bassi F Jr, Gattaz WF. Inhibition of phospholipase A2 activity reduces membrane fluidity in rat hippocampus. *J Neural Transm*. 2005; 112:641-7.

Schaeffer EL, Gattaz WF. Cholinergic and glutamatergic alterations beginning at the early stages of Alzheimer disease: participation of the phospholipase A2 enzyme. *Psychopharmacology*. 2008; 198:1-27.

Schaeffer EL, Gattaz WF, Eckert GP. Alterations of brain membranes in schizophrenia: Impact of Phospholipase A2. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2012; 12:2314-2323.

Schmitt A, Maras A, Braus DF, Petroianu G, Jatzko A, Gattaz WF. Antipsychotics and phospholipid metabolism in schizophrenia. *Fortschr Neurol Psychiatr*. 2001; 69:503-9.

- Schmitt A, Wilczek K, Blennow K, Maras A, Jatzko A, Petroianu G, et al. Altered thalamic membrane phospholipids in schizophrenia: a postmortem study. *Biol Psychiatry*. 2004; 56:41-45.
- Schnaar RL. Brain gangliosides in axon–myelin stability and axon regeneration. *FEBS Lett*. 2010; 584:1741–1747.
- Schneider M, Levant B, Reichelc M, Gulbins E, Kornhuber J, Müller CP. Lipids in psychiatric disorders and preventive medicine. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016.
- Schwarz E, Prabakaran S, Whitfield P, Major H, Leweke FM, Koethe D, et al. High throughput lipidomic profiling of schizophrenia and bipolar disorder brain tissue reveals alterations of free fatty acids, phosphatidylcholines, and ceramides. *J Proteome Res*. 2008; 7:4266-77.
- Selvaraj S, Arnone D, Job D, Stanfield A, Farrow TF, Nugent AC, et al. Grey matter differences in bipolar disorder: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies. *Bipolar Disord*. 2012; 14:135-145.
- Senaratne R, Milne AM, MacQueen GM, Hall GB. Increased choline-containing compounds in the orbitofrontal cortex and hippocampus in euthymic patients with bipolar disorder: a proton magnetic resonance spectroscopy study. *Psychiatry Res*. 2009; 172:205-9.
- Sethi S, Brietzke E. Omics-based biomarkers: application of metabolomics in neuropsychiatric disorders. *Inter J of Neuropsychopharmacology*. 2016; 19(3):1-13.
- Seung Kim HF, Weeber EJ, Sweatt JD, Stoll AL, Marangell LB. Inhibitory effects of omega-3 fatty acids on protein kinase C activity in vitro. *Mol Psychiatry*. 2001; 6(2):246–248.
- Shi XF, Carlson PJ, Sung YH, Fiedler KK, Forrest LN, Hellem TL, et al. Decreased brain PME/PDE ratio in bipolar disorder: a preliminary (31) P magnetic resonance spectroscopy study. *Bipolar Disord*. 2015; 17(7):743-52.
- Singer SJ, Nicolson GL. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*. 1972; 175(4023):720–731.
- Sloan JL, Mager S. Cloning and functional expression of a human Na⁺ and Cl[–]-dependent neutral and cationic amino acid transporter B⁰,⁺. *J Biol Chem*. 1999; 274:23740–23745.
- Smesny S, Kinder D, Willhardt I, Rosburg T, Lasch J, Berger G, Sauer H. Increased calcium-independent phospholipase A2 activity in first but not in multiepisode chronic schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2005; 57:399-405.
- Smesny S, Rosburg T, Nenadic I, Fenk KP, Kunstmann S, Rzanny R, et al. Metabolic mapping using 2D 31P-MR spectroscopy reveals frontal and thalamic metabolic abnormalities in schizophrenia. *Neuroimage*. 2007; 35:729-737.
- Smesny S, Kunstmann C, Kunstmann S, Willhardt I, Lasch J, Yotter RA, et al. Phospholipase A2 activity in first episode schizophrenia: associations with symptom severity and outcome at week 12. *World J Biol Psychiatry*. 2011; 12:598-607.
- Smesny S, Schmelzer CE, Hinder A, Köhler A, Schneider C, Rudzok M, et al. Skin ceramide alterations in first-episode schizophrenia indicate abnormal sphingolipid metabolism. *Schizophr Bull*. 2013; 39(4):933-41.

- Soares JC. Contributions from brain imaging to the elucidation of pathophysiology of bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2003; 6(2):171-80.
- Soares JC, Kochunov P, Monkul ES, Nicoletti MA, Brambilla P, Sassi RB, et al. Structural brain changes in bipolar disorder using deformation field morphometry. *Neuroreport*. 2005; 16(6):541-4.
- Söderberg M, Edlund C, Alafuzoff I, Kristensson K, Dallner G. Lipid composition in different regions of the brain in Alzheimer's disease/senile dementia of Alzheimer's type. *J Neurochem*. 1992; 59:1646-53.
- Soeiro-de-Souza MG, Henning A, Machado-Vieira R, Moreno RA, Pastorello BF, da Costa Leite C, et al. Anterior cingulate Glutamate-Glutamine cycle metabolites are altered in euthymic bipolar I disorder. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2015; 25(12):2221-9.
- Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: the Journal of the Alzheimer's Association*. 2011; 7:280-292.
- Stanley JA, Williamson PC, Drost DJ, Carr TJ, Rylett RJ, Malla A, Thompson RT. An in vivo study of the prefrontal cortex of schizophrenic patients at different stages of illness via phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *Arch Gen Psychiatry*. 1995; 52:399-406.
- Stokes CE, Hawthorne JN. Reduced phosphoinositide concentrations in anterior temporal cortex of Alzheimer diseased brains. *J Neurochem* 1987;48:1018-21.
- Stoll AL, Severus WE, Freeman MP, Rueter S, Zboyan HA, Diamond E, et al. Omega 3 fatty acids in bipolar disorder: a preliminary double-blind, placebo-controlled trial. *Arc of Gen Psychiatry*. 1999; 56:407-12.
- Stork C, Renshaw PF. Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder: evidence from magnetic resonance spectroscopy research. *Mol Psychiatry*. 2005; 10:900-919.
- Strakowski SM, Delbello MP, Adler CM. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimaging findings. *Mol Psychiatry*. 2005; 10:105-116.
- Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*. 2010; 5(6):463-6.
- Suppes T; Dennehy EB. *Transtorno Bipolar*. Porto Alegre: Artmed, 2009.
- Svennerholm L, Bostrom K, Jungbjer B. Changes in weight and compositions of major membrane components of human brain during the span of adult human life of Swedes. *Acta Neuropathology*. 1997; 94:345-52.
- Talbot K, Young RA, Jolly-Tornetta C, Lee VM, Trojanowski JQ, Wolf BA. A frontal variant of Alzheimer's disease exhibits decreased calciumindependent phospholipase A2 activity in the prefrontal cortex. *Neurochem Int*. 2000; 37:17-31.
- Talesa VN. Acetylcholinesterase in Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev*. 2001; 122(16):1961-9.
- Tamboli IY, Prager K, Barth E, Heneka M, Sandhoff K, Walter J. Inhibition of glycosphingolipid biosynthesis reduces secretion of the beta-amyloid precursor protein and amyloid beta-

peptide. *J Biol Chem*. 2005; 280(30):28110-7.

Terry AV Jr, Buccafusco JJ. The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003; 306:821–827.

Trushina E, Mielke MM. Recent advances in the application of metabolomics to Alzheimer's Disease. *Biochim Biophys Acta*. 2014; 1842(8):1232-9.

Vajn K, Viljetic B, Degmecic IV, Schnaar RL, Heffer M. Differential distribution of major brain gangliosides in the adult mouse central nervous system. *PLoS ONE*. 2013; 8:75720.

van Meer G, Voelker DR, Feigenson GW. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008; 9:112–124.

Vargas G. Biomarkers in schizophrenia. *Biomark Med*. 2014; 8(1):1-3.

Virmani A, Binienda Z. Role of carnitine esters in brain neuropathology. *Mol Aspects Med*. 2004; 25:533–549.

Volz HP, Rzanny R, Rössger G, Hübner G, KreitschmannAndermahr I, Kaiser WA, Sauer H. 31 Phosphorus magnetic resonance spectroscopy of the dorsolateral prefrontal region in schizophrenics--a study including 50 patients and 36 controls. *Biol Psychiatry*. 1998; 44:399-404.

Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science*. 1999; 283:1482–8.

Walsh D, Selkoe DJ. Deciphering the molecular basis of memory failure in Alzheimer's disease. *Neuron*. 2004; 44:181-193.

Walter A, Korth U, Hilgert M, Hartmann J, Weichel O, Fassbender K, et al. Glycerophosphocholine is elevated in cerebrospinal fluid of Alzheimer patients. *Neurobiol Aging*. 2004; 25:1299–1303.

Walterfang M, Fietz M, Fahey M, Sullivan D, Leane P, Lubman DI, Velakoulis D. The neuropsychiatry of Niemann-Pick type C disease in adulthood. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2006; 18(2):158-70.

Wang G, Zhou Y, Huang FJ, Tang HD, Xu XH, Liu JJ, Wang Y, et al. Plasma metabolite profiles of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *J Proteome Res*. 2014; 13(5):2649-58.

Wawrzenczyk A, Nalecz KA, Nalecz MJ. Effect of externally added carnitine on the synthesis of acetylcholine in rat cerebral cortex cells. *Neurochem Int*. 1995; 26:635–641.

Weber-Fahr W, Englisch S, Esser A, Tunc-Skarka N, Meyer-Lindenberg A, Ende G, Zink M. Altered phospholipid metabolism in schizophrenia: a phosphorus 31 nuclear magnetic resonance spectroscopy study. *Psychiatry Res*. 2013; 214:365-73.

Wells K, Farooqui AA, Liss L, Harrocks LA. Neural membrane phospholipids in Alzheimer disease. *Neurochem Res*. 1995; 20:1329-33.

Whiley L, Sen A, Heaton J, Proitsi P, García-Gómez D, Leung R, et al. Evidence of altered phosphatidylcholine metabolism in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 2014; 35:271-278.

Wibom C, Surowiec I, Mören L, Bergström P, Johansson M, Antti H, Bergenheim AT. Metabolomic patterns in glioblastoma and changes during radiotherapy: a clinical microdialysis study. *J Proteome Res*. 2010; 9(6):2909-19.

Wong MW, Braidy N, Poljak A, Pickford R, Thambisetty M, Sachdev PS. Dysregulation of lipids in Alzheimer's disease and their role as potential biomarkers. *Alzheimers Dement*. 2017 Feb 24. pii: S1552-5260(17)30012-2.

World Health Organization. Mental disorders, 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs396/en/>>. Acesso em: 31 de maio de 2016.

World Health Organization. Mental health and older adults, 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs381/en/>>. Acesso em: 18 de maio de 2016.

Xu J, Dydak U, Harezlak J, Nixon J, Dziedzic M, Gunn AD, et al. Neurochemical abnormalities in unmedicated bipolar depression and mania: a 2D 1H MRS investigation. *Psychiatry Res*. 2013; 213(3):235-41.

Yacubian J, de Castro CC, Ometto M, Barbosa E, de Camargo CP, Tavares H, et al. 31P spectroscopy of frontal lobe in schizophrenia: alterations in phospholipid and high-energy phosphate metabolism. *Schizophr Res*. 2002; 58:117-122.

Yao JK, van Kammen DP. Red blood cell membrane dynamics in schizophrenia. I. Membrane fluidity. *Schizophr Res*. 1994; 11:209 –216.

Yao JK, Leonard S, Reddy RD. Membrane phospholipid abnormalities in postmortem brains from schizophrenic patients. *Schizophr Res*. 2000; 42:7-17.

Young RC, Biggs JT, Ziegler VE, Meyer DA. A rating scale for mania: reliability, validity and sensitivity. *Br J Psychiatry*. 1978; 133:429-35.

Zanelli SA, Solenski NJ, Rosenthal RE, Fiskum G. Mechanisms of ischemic neuroprotection by acetyl-L-carnitine. *New York Acad Sciences*. 2005.

Zhang C, Mao JY, Hou YZ. Advance of data collection and analysis in metabonomics research. 2009; 29(10):949-52.

Zheng P, Gao HC, Li Q, Shao WH, Zhang ML, Cheng K, et al. Plasma metabonomics as a novel diagnostic approach for major depressive disorder. *J Proteome Res*. 2012; 11(3):1741-8

Zinser EG, Hartmann T, Grimm MO. Amyloid beta-protein and lipid metabolism. *Biochim Biophys Acta*. 2007; 1768:1991-2001.

ANEXOS

Anexo A. Aprovação do Comitê de Ética

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq

PROJETO DE PESQUISA

Título: DETERMINAÇÃO DE FOSFOLÍPIDES PLASMÁTICOS NAS DOENÇAS NEUROPSIQUIÁTRICAS.	
Pesquisador Responsável: Wagner Farid Gattaz	Versão: 1
Pesquisador Executante: Alana Caroline Costa	CAAE: 39464314.6.0000.0068
Finalidade Acadêmica: Mestrado	
Instituição: HCFMUSP	
Departamento: PSIQUIATRIA	

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Registro on-line: 12867
Número do Parecer: 943.883
Data da Relatoria: 28/01/2015

Apresentação do Projeto: O estudo vai comparar três grupos de indivíduos com comprometimentos neuropsíquicos e um grupo controle, analisando o perfil fosfolipídico que será determinado por cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massas.

Objetivo da Pesquisa: Comparar os perfis fosfolipídicos dos grupos com Doença de Alzheimer, Transtorno Bipolar, Esquizofrenia e o grupo controle, para identificar eventuais diferenças nos perfis que discriminem estes grupos e possam ser preditores das doenças.

Avaliação dos Riscos e Benefícios: Os resultados dos exames relacionados à pesquisa podem vir a auxiliar os médicos na condução dos tratamentos, segundo os autores. Os riscos relacionados à coleta do sangue são baixos e não comprometem em nada a participação dos sujeitos de pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: A pesquisa utiliza métodos simples e bem estabelecidos não havendo problemas previsíveis em sua execução. Os objetivos científicos podem ser atingidos plenamente.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: O TCLE tem clareza mas deve melhorar suas colocações iniciais, reforçando o seu possível endereçamento aos responsáveis pelos participantes com transtornos cognitivos.

Recomendações: A comissão recomenda que o TCLE tenha a redação alterada com referência direta à eventual necessidade de consentimento dos responsáveis pelos participantes com impedimentos cognitivos e que se faça uma versão separada para os participantes do grupo controle.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: O estudo tem as condições necessárias para sua execução sem ocasionar problemas de natureza ética, podendo ser aprovado pela comissão.

Situação do Parecer: Aprovado
Necessita Apreciação da CONEP: Não

Considerações Finais a critério do CEP: Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d)

Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar
 CEP 05403-010 - São Paulo - SP.
 55 11 2661-7585 - 55 11 2661-6442 ramais: 16, 17, 18 | Cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Cópia aos pesquisadores em 11/2/15

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq

manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

São Paulo, 06 de Fevereiro de 2015

Prof. Dr. Alfredo José Mansur

Coordenador

Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

APÊNDICES

Apêndice A. Modelo do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME: _____

DOCUMENTO DE IDENTIDADE: _____ SEXO: M ☐ F ☐ DATA
NASCIMENTO: ____/____/____

ENDEREÇO: _____ Nº: _____ APTO: _____

BAIRRO: _____ CIDADE: _____

CEP: _____ TELEFONE: DDD (____) _____

2. RESPONSÁVEL LEGAL: _____

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.): _____

DOCUMENTO DE IDENTIDADE: _____

SEXO: M ☐ F ☐ DATA NASCIMENTO: ____/____/____

ENDEREÇO: _____ Nº: _____

APTO: _____ BAIRRO: _____

CIDADE: _____ CEP: _____

TELEFONE: DDD (____) _____ CEL: _____

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **Determinação de fosfolípides plasmáticos nas doenças neuropsiquiátricas.**

PESQUISADOR: Prof. Dr. Wagner Farid Gattaz

CARGO/FUNÇÃO: Professor Titular/Psiquiatria

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº

25956

UNIDADE DO HCFMUSP: Laboratório de Neurociências (LIM-27), Departamento de Psiquiatria.

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	■	RISCO MÉDIO	□
RISCO BAIXO	□	RISCO MAIOR	□

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 24 meses

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

1- Desenho e objetivos do estudo: O objetivo deste estudo é caracterizar o perfil fosfolipídico de pacientes com doenças neuropsiquiátricas (esquizofrenia, doença de Alzheimer e transtorno bipolar) e controles saudáveis. Estas informações nos ajudarão a compreender melhor as causas destas doenças e, assim, contribuirão para melhorarmos os cuidados as pessoas portadoras destes transtornos, incluindo o desenvolvimento de novos tratamentos no futuro.

2- Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros: Os participantes da pesquisa realizarão entrevista médica com profissional treinado, visando confirmação diagnóstica e avaliação de gravidade clínica nos pacientes, e a exclusão de sintomas psiquiátricos e outras patologias médicas nos voluntários controles. Além disso, coleta de sangue, para determinação de fosfolípidos plasmáticos. Para isto, serão coletados 10 mL de sangue por profissional treinado.

3- Desconfortos e riscos esperados: As entrevistas serão realizadas por profissionais de saúde treinados para a aplicação das mesmas. A coleta de sangue pode produzir desconforto transitório no local da picada. O risco devido à participação no estudo é mínimo.

4- Potenciais benefícios para o participante: Os participantes poderão receber orientações sobre acesso ao tratamento na rede de saúde, e os resultados dos exames realizados poderão auxiliar seu médico na condução do caso.

5- Garantia de acesso: Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr. Wagner Farid Gattaz, que pode ser encontrado no endereço Rua Dr.

Ovídio Pires de Campos, 785, Instituto de Psiquiatria, 1º andar, CEP 05403-010, São Paulo (SP), Telefone (11) 2661-7283. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – Prédio da Administração, 5º andar – Tel: 2661-7585 ou 2661-6442 (ramais 16 e 17), e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br.

6- É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

7- Direito de confidencialidade: As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente.

9- Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

10- Despesas e compensações: Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

11- Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Determinação de fosfolípides plasmáticos em doenças neuropsiquiátricas”.

Eu discuti com o Dr. Wagner Farid Gattaz sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de

despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

_____ Data: ____/____/____
Assinatura do paciente/representante legal

_____ Data: ____/____/____
Assinatura da testemunha para casos de pacientes menores de 18 anos, anbetabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do estudo)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

_____ Data: ____/____/____
Assinatura do responsável pelo estudo

Apêndice B. Dados referentes à concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos indivíduos idosos.

Tabela 1 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos indivíduos idosos (continua).

Classe	Metabólito	DA	CCL	Controle
Acilcarnitinas	C0	17,87 $\pm$ 6,45	20,69 $\pm$ 11,68	16,50 $\pm$ 4,11
	C10	0,81 $\pm$ 0,46	0,53 $\pm$ 0,42	0,70 $\pm$ 0,27
	C10:1	0,56 $\pm$ 0,21	0,41 $\pm$ 0,12	0,63 $\pm$ 0,30
	C10:2	0,53 $\pm$ 0,40	0,31 $\pm$ 0,06	0,74 $\pm$ 0,82
	C12	0,18 $\pm$ 0,14	0,14 $\pm$ 0,07	0,27 $\pm$ 0,45
	C12-DC	0,14 $\pm$ 0,09	0,05 $\pm$ 0,03	0,18 $\pm$ 0,12
	C12:1	0,44 $\pm$ 0,21	0,33 $\pm$ 0,11	0,53 $\pm$ 0,43
	C14	0,19 $\pm$ 0,27	0,09 $\pm$ 0,05	0,47 $\pm$ 0,78
	C14:1	0,20 $\pm$ 0,16	0,09 $\pm$ 0,04	0,30 $\pm$ 0,32
	C14:1-OH	0,06 $\pm$ 0,05	0,02 $\pm$ 0,02	0,15 $\pm$ 0,27
	C14:2	2,55 $\pm$ 2,71	1,50 $\pm$ 0,22	5,12 $\pm$ 7,90
	C14:2-OH	0,08 $\pm$ 0,13	0,03 $\pm$ 0,03	0,23 $\pm$ 0,46
	C16	0,27 $\pm$ 0,43	0,18 $\pm$ 0,06	0,53 $\pm$ 0,78
	C16-OH	0,06 $\pm$ 0,12	0,02 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,33
	C16:1	0,08 $\pm$ 0,13	0,04 $\pm$ 0,04	0,20 $\pm$ 0,35
	C16:1-OH	0,08 $\pm$ 0,15	0,03 $\pm$ 0,03	0,20 $\pm$ 0,40
	C16:2	0,08 $\pm$ 0,16	0,02 $\pm$ 0,03	0,17 $\pm$ 0,37
	C16:2-OH	0,08 $\pm$ 0,14	0,02 $\pm$ 0,03	0,20 $\pm$ 0,38
	C18	0,26 $\pm$ 0,63	0,08 $\pm$ 0,04	0,31 $\pm$ 0,64
	C18:1	0,18 $\pm$ 0,45	0,10 $\pm$ 0,04	0,22 $\pm$ 0,32
	C18:1-OH	0,14 $\pm$ 0,45	0,03 $\pm$ 0,02	0,25 $\pm$ 0,50
	C18:2	0,15 $\pm$ 0,38	0,04 $\pm$ 0,03	0,27 $\pm$ 0,51
	C2	8,61 $\pm$ 2,74	10,74 $\pm$ 3,67	8,52 $\pm$ 3,07
	C3	0,34 $\pm$ 0,24	0,28 $\pm$ 0,11	0,39 $\pm$ 0,21

C0 = Carnitina; C10 = Decanoilcarnitina; C10:1 = Decenoilcarnitina; C10:2 = Decadienilcarnitina; C12 = Dodecanoilcarnitina; C12-DC = Dodecanedioilcarnitina; C12:1 = Dodecenoilcarnitina; C14 = Tetradecanoilcarnitina; C14:1 = Tetradecenoilcarnitina; C14:1-OH = Hidroxitetradecenoilcarnitina; C14:2 = Tetradecadienilcarnitina; C14:2-OH = Hidroxitetradecadienilcarnitina; C16 = Hexadecanoilcarnitina; C16-OH = Hidroxihexadecanoilcarnitina; C16:1 = Hexadecenoilcarnitina; C16:1-OH = Hidroxihexadecenoilcarnitina; C16:2 = Hexadecadienilcarnitina; C16:2-OH = Hidroxihexadecadienilcarnitina; C18 = Octadecanoilcarnitina; C18:1 = Octadecenoilcarnitina; C18:1-OH = Hidroxioctadecenoilcarnitina; C18:2 = Octadecadienilcarnitina; C2 = Acetilcarnitina; C3 = Propionilcarnitina; DA = Doença de Alzheimer; CCL = Comprometimento Cognitivo Leve.

Tabela 1 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos indivíduos idosos (continuação).

Classe	Metabólito	DA	CCL	Controle
Acilcarnitinas	C3-OH	0,06 $\pm$ 0,05	0,07 $\pm$ 0,05	0,05 $\pm$ 0,06
	C3:1	0,13 $\pm$ 0,18	0,07 $\pm$ 0,06	0,12 $\pm$ 0,11
	C4	0,32 $\pm$ 0,16	0,31 $\pm$ 0,14	0,29 $\pm$ 0,11
	C3-DC (C4-OH)	0,31 $\pm$ 0,09	0,29 $\pm$ 0,13	0,24 $\pm$ 0,08
	C4:1	0,34 $\pm$ 0,21	0,39 $\pm$ 0,09	0,33 $\pm$ 0,14
	C5	0,41 $\pm$ 0,11	0,32 $\pm$ 0,08	0,45 $\pm$ 0,18
	C5-M-DC	0,17 $\pm$ 0,06	0,15 $\pm$ 0,04	0,13 $\pm$ 0,08
	C5-OH (C3-DC-M)	0,12 $\pm$ 0,07	0,08 $\pm$ 0,05	0,10 $\pm$ 0,07
	C5:1	0,13 $\pm$ 0,09	0,13 $\pm$ 0,05	0,18 $\pm$ 0,10
	C5:1-DC	0,06 $\pm$ 0,05	0,04 $\pm$ 0,04	0,05 $\pm$ 0,06
	C6 (C4:1-DC)	0,13 $\pm$ 0,07	0,10 $\pm$ 0,07	0,12 $\pm$ 0,10
	C5-DC (C6-OH)	0,15 $\pm$ 0,08	0,10 $\pm$ 0,09	0,16 $\pm$ 0,09
	C6:1	0,11 $\pm$ 0,09	0,08 $\pm$ 0,05	0,21 $\pm$ 0,35
	C7-DC	0,02 $\pm$ 0,02	0,01 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,10
	C8	0,15 $\pm$ 0,17	0,08 $\pm$ 0,08	0,19 $\pm$ 0,27
	C9	0,15 $\pm$ 0,13	0,08 $\pm$ 0,10	0,24 $\pm$ 0,36
Lisofosfolípides	LPC a C14:0	5,19 $\pm$ 1,95	4,23 $\pm$ 0,74	4,92 $\pm$ 1,53
	LPC a C16:0	139,82 $\pm$ 29,38	113,49 $\pm$ 26,92	130,69 $\pm$ 2,28
	LPC a C16:1	4,32 $\pm$ 1,47	3,20 $\pm$ 1,18	3,80 $\pm$ 2,03
	LPC a C17:0	3,19 $\pm$ 1,17	2,45 $\pm$ 0,78	2,99 $\pm$ 1,25
	LPC a C18:0	48,62 $\pm$ 14,44	36,39 $\pm$ 12,22	46,41 $\pm$ 2,84
	LPC a C18:1	29,29 $\pm$ 9,71	22,09 $\pm$ 6,72	27,78 $\pm$ 8,14
	LPC a C18:2	47,61 $\pm$ 16,92	40,59 $\pm$ 13,79	42,21 $\pm$ 14,79
	LPC a C20:3	4,48 $\pm$ 1,64	3,54 $\pm$ 1,39	4,02 $\pm$ 1,98
	LPC a C20:4	12,44 $\pm$ 3,89	10,14 $\pm$ 3,05	9,78 $\pm$ 4,59

C3-OH = Hidroxipropionilcarnitina; C3:1 = Propenoilcarnitina; C4 = Butirilcarnitina; C4-OH (C3-DC) = Hidroxibutirilcarnitina; C4:1 = Butenilcarnitina; C5 = Valerilcarnitina; C5-M-DC = Metilglutarilcarnitina; C5-OH (C3-DC-M) = Hidroxivalerilcarnitina (Metilmalonilcarnitina); C5:1 = Tiglilcarnitina; C5:1-DC = Glutaconilcarnitina; C6 (C4:1-DC) = Hexanoilcarnitina (Fumarilcarnitina); C5-DC (C6-OH) = Glutarilcarnitina (Hidroxihexanoilcarnitina); C6:1 = Hexenoilcarnitina; C7-DC = Pimelilcarnitina; C8 = Octanoilcarnitina; C9 = Nonailcarnitina; LPC = lisofosfatidilcolina; DA = Doença de Alzheimer; CCL = Comprometimento Cognitivo Leve.

Tabela 1 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos indivíduos idosos (continuação).

Classe	Metabólito	DA	CCL	Controle
Lisofosfolípides	LPC a C24:0	1,12 $\pm$ 2,22	0,482 $\pm$ 0,195	0,601 $\pm$ 0,318
	LPC a C26:0	1,60 $\pm$ 1,80	0,757 $\pm$ 0,31	1,599 $\pm$ 1,704
	LPC a C26:1	0,65 $\pm$ 0,27	0,43 $\pm$ 0,13	1,046 $\pm$ 1,819
	LPC a C28:0	1,08 $\pm$ 0,45	0,71 $\pm$ 0,23	2,045 $\pm$ 3,198
	LPC a C28:1	1,10 $\pm$ 0,42	0,715 $\pm$ 0,21	1,044 $\pm$ 0,732
Fosfolípides	PC aa C24:0	0,29 $\pm$ 0,12	0,21 $\pm$ 0,08	0,75 $\pm$ 1,92
	PC aa C26:0	1,61 $\pm$ 0,53	1,33 $\pm$ 0,39	1,65 $\pm$ 1,65
	PC aa C28:1	2,00 $\pm$ 0,79	1,60 $\pm$ 0,49	2,32 $\pm$ 1,95
	PC aa C30:0	3,51 $\pm$ 2,98	2,14 $\pm$ 1,09	3,98 $\pm$ 3,10
	PC aa C32:0	12,30 $\pm$ 10,32	8,34 $\pm$ 2,21	15,46 $\pm$ 14,35
	PC aa C32:1	11,21 $\pm$ 6,60	7,69 $\pm$ 6,06	12,57 $\pm$ 9,37
	PC aa C32:3	0,44 $\pm$ 0,35	0,31 $\pm$ 0,10	0,47 $\pm$ 0,59
	PC aa C34:1	182,84 $\pm$ 62,04	138,95 $\pm$ 50,86	201,04 $\pm$ 96,42
	PC aa C34:2	401,12 $\pm$ 92,85	340,75 $\pm$ 102,52	371,68 $\pm$ 153,67
	PC aa C34:3	14,70 $\pm$ 5,00	11,38 $\pm$ 5,46	14,46 $\pm$ 6,06
	PC aa C34:4	1,49 $\pm$ 0,63	1,31 $\pm$ 0,83	1,43 $\pm$ 0,64
	PC aa C36:0	3,58 $\pm$ 3,97	2,73 $\pm$ 0,91	4,74 $\pm$ 5,83
	PC aa C36:1	35,54 $\pm$ 16,08	24,45 $\pm$ 8,97	39,94 $\pm$ 33,18
	PC aa C36:2	221,26 $\pm$ 49,11	169,81 $\pm$ 52,07	222,80 $\pm$ 83,49
	PC aa C36:3	116,18 $\pm$ 37,61	91,82 $\pm$ 36,62	107,00 $\pm$ 37,59
	PC aa C36:4	198,12 $\pm$ 50,99	169,06 $\pm$ 59,11	175,72 $\pm$ 49,27
	PC aa C36:5	12,29 $\pm$ 3,84	10,75 $\pm$ 6,25	13,62 $\pm$ 7,55
	PC aa C36:6	0,61 $\pm$ 0,53	0,47 $\pm$ 0,29	1,14 $\pm$ 1,47
	PC aa C38:0	2,12 $\pm$ 0,67	1,98 $\pm$ 0,68	2,56 $\pm$ 1,45
	PC aa C38:3	44,22 $\pm$ 13,04	33,93 $\pm$ 14,45	44,96 $\pm$ 17,76
	PC aa C38:4	111,32 $\pm$ 30,82	86,67 $\pm$ 25,05	109,30 $\pm$ 47,52
	PC aa C38:5	45,46 $\pm$ 10,37	36,50 $\pm$ 11,96	44,08 $\pm$ 0,96
	PC aa C38:6	58,11 $\pm$ 13,17	51,92 $\pm$ 18,34	60,75 $\pm$ 27,39
	PC aa C40:1	0,72 $\pm$ 2,06	0,33 $\pm$ 0,05	0,47 $\pm$ 0,83
	PC aa C40:2	0,27 $\pm$ 0,082	0,22 $\pm$ 0,07	0,95 $\pm$ 2,46
	PC aa C40:3	0,82 $\pm$ 1,93	0,36 $\pm$ 0,12	1,48 $\pm$ 2,49
	PC aa C40:4	4,87 $\pm$ 3,99	3,24 $\pm$ 1,17	4,13 $\pm$ 2,51
	PC aa C40:5	10,76 $\pm$ 3,77	7,70 $\pm$ 2,772	11,57 $\pm$ 6,10

DA = Doença de Alzheimer; CCL = Comprometimento Cognitivo Leve; LPC = lisofosfatidilcolina; PC = fosfatidilcolina; a = ligação acil; aa = ligação diacil.

Tabela 1 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos indivíduos idosos (continuação).

Classe	Metabólito	DA	CCL	Controle
Fosfolípides	PC aa C40:6	23,27 $\pm$ 5,00	19,51 $\pm$ 7,90	27,04 $\pm$ 12,05
	PC aa C42:0	0,52 $\pm$ 0,17	0,43 $\pm$ 0,075	0,74 $\pm$ 1,56
	PC aa C42:1	0,29 $\pm$ 0,09	0,24 $\pm$ 0,041	0,32 $\pm$ 0,38
	PC aa C42:2	0,56 $\pm$ 1,70	0,23 $\pm$ 0,085	0,52 $\pm$ 1,13
	PC aa C42:4	0,47 $\pm$ 1,32	0,18 $\pm$ 0,049	0,43 $\pm$ 0,83
	PC aa C42:5	0,32 $\pm$ 0,10	0,25 $\pm$ 0,085	0,75 $\pm$ 1,45
	PC aa C42:6	0,48 $\pm$ 0,14	0,38 $\pm$ 0,123	0,49 $\pm$ 0,45
	PC ae C30:0	0,39 $\pm$ 0,13	0,32 $\pm$ 0,077	0,94 $\pm$ 2,02
	PC ae C30:1	0,02 $\pm$ 0,05	0 $\pm$ 0	0,16 $\pm$ 0,77
	PC ae C30:2	0,16 $\pm$ 0,06	0,13 $\pm$ 0,044	0,24 $\pm$ 0,44
	PC ae C32:1	1,99 $\pm$ 3,49	1,18 $\pm$ 0,365	2,48 $\pm$ 3,44
	PC ae C32:2	0,46 $\pm$ 0,15	0,38 $\pm$ 0,1	0,81 $\pm$ 0,94
	PC ae C34:0	1,91 $\pm$ 2,54	1,07 $\pm$ 0,319	2,47 $\pm$ 2,79
	PC ae C34:1	8,20 $\pm$ 11,26	5,15 $\pm$ 1,634	9,26 $\pm$ 8,20
	PC ae C34:2	9,18 $\pm$ 7,09	7,11 $\pm$ 2,251	9,22 $\pm$ 5,12
	PC ae C34:3	5,45 $\pm$ 1,74	5,26 $\pm$ 1,688	6,14 $\pm$ 4,08
	PC ae C36:0	1,084 $\pm$ 1,73	0,61 $\pm$ 0,155	1,67 $\pm$ 2,86
	PC ae C36:1	12,03 $\pm$ 11,42	7,97 $\pm$ 2,526	14,10 $\pm$ 10,85
	PC ae C36:2	14,31 $\pm$ 8,13	11,27 $\pm$ 3,704	15,56 $\pm$ 8,36
	PC ae C36:3	5,98 $\pm$ 4,19	4,78 $\pm$ 1,693	6,62 $\pm$ 4,50
	PC ae C36:4	11,52 $\pm$ 2,34	10,67 $\pm$ 2,732	11,77 $\pm$ 6,24
	PC ae C36:5	9,05 $\pm$ 2,53	8,47 $\pm$ 2,334	8,97 $\pm$ 3,52
	PC ae C38:0	1,57 $\pm$ 1,55	1,07 $\pm$ 0,451	1,30 $\pm$ 0,72
	PC ae C38:1	0,94 $\pm$ 5,45	0 $\pm$ 0	1,28 $\pm$ 4,49
	PC ae C38:2	0,50 $\pm$ 0,33	0,55 $\pm$ 0,391	1,30 $\pm$ 3,59
	PC ae C38:3	6,25 $\pm$ 5,54	4,47 $\pm$ 1,656	5,65 $\pm$ 3,51
	PC ae C38:4	11,16 $\pm$ 3,07	9,50 $\pm$ 2,157	11,02 $\pm$ 6,24
	PC ae C38:5	11,80 $\pm$ 2,53	10,63 $\pm$ 2,139	12,56 $\pm$ 4,88
	PC ae C38:6	5,21 $\pm$ 2,47	4,47 $\pm$ 1,249	5,03 $\pm$ 1,86
	PC ae C40:1	1,22 $\pm$ 2,13	0,68 $\pm$ 0,262	0,85 $\pm$ 0,76
	PC ae C40:2	1,37 $\pm$ 0,42	1,17 $\pm$ 0,33	2,81 $\pm$ 3,51
	PC ae C40:3	3,27 $\pm$ 10,47	1,09 $\pm$ 0,244	4,10 $\pm$ 7,59
	PC ae C40:4	3,12 $\pm$ 6,12	1,71 $\pm$ 0,309	2,84 $\pm$ 3,09

DA = Doença de Alzheimer; CCL = Comprometimento Cognitivo Leve; PC = fosfatidilcolina; aa = ligação diacil; ae = ligação acil-alquil.

Tabela 1 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos indivíduos idosos (conclusão).

Classe	Metabólito	DA	CCL	Controle
Fosfolípides	PC ae C40:5	3,11 $\pm$ 0,85	2,77 $\pm$ 0,511	3,73 $\pm$ 2,02
	PC ae C40:6	3,32 $\pm$ 0,99	3,06 $\pm$ 0,846	3,97 $\pm$ 2,13
	PC ae C42:0	0,73 $\pm$ 0,15	0,68 $\pm$ 0,11	1,09 $\pm$ 1,19
	PC ae C42:1	0,41 $\pm$ 0,12	0,33 $\pm$ 0,113	0,95 $\pm$ 1,50
	PC ae C42:2	0,75 $\pm$ 1,48	0,40 $\pm$ 0,126	0,66 $\pm$ 0,81
	PC ae C42:3	1,32 $\pm$ 3,52	0,57 $\pm$ 0,147	1,60 $\pm$ 2,19
	PC ae C42:4	0,72 $\pm$ 0,23	0,57 $\pm$ 0,127	1,63 $\pm$ 2,75
	PC ae C42:5	1,60 $\pm$ 0,46	1,34 $\pm$ 0,166	1,46 $\pm$ 0,80
	PC ae C44:3	0,14 $\pm$ 0,04	0,10 $\pm$ 0,023	0,11 $\pm$ 0,05
	PC ae C44:4	0,29 $\pm$ 0,09	0,23 $\pm$ 0,047	0,23 $\pm$ 0,12
	PC ae C44:5	1,19 $\pm$ 0,42	0,98 $\pm$ 0,187	1,78 $\pm$ 2,23
	PC ae C44:6	1,12 $\pm$ 0,37	0,92 $\pm$ 0,12	1,96 $\pm$ 2,58
Esfingomielinas	SM (OH) C14:1	12,78 $\pm$ 4,13	11,37 $\pm$ 2,9	11,86 $\pm$ 4,60
	SM (OH) C16:1	8,52 $\pm$ 2,85	7,26 $\pm$ 1,561	9,39 $\pm$ 7,02
	SM (OH) C22:1	82,27 $\pm$ 26,97	62,34 $\pm$ 18,599	91,97 $\pm$ 43,20
	SM (OH) C22:2	76,81 $\pm$ 18,90	61,55 $\pm$ 15,514	93,8 $\pm$ 61,26
	SM (OH) C24:1	4,17 $\pm$ 1,48	3,44 $\pm$ 0,972	4,52 $\pm$ 1,68
	SM C16:0	242,79 $\pm$ 47,01	222,50 $\pm$ 45,999	213,79 $\pm$ 43,24
	SM C16:1	35,38 $\pm$ 9,37	33,46 $\pm$ 7,324	33,41 $\pm$ 6,14
	SM C18:0	63,33 $\pm$ 14,63	49,60 $\pm$ 15,914	64,26 $\pm$ 28,00
	SM C18:1	30,20 $\pm$ 6,64	25,01 $\pm$ 7,046	27,32 $\pm$ 9,45
	SM C20:2	1,65 $\pm$ 0,56	1,36 $\pm$ 0,535	1,42 $\pm$ 0,64
	SM C24:0	73,73 $\pm$ 29,47	53,88 $\pm$ 14,293	82,07 $\pm$ 59,51
	SM C24:1	276,26 $\pm$ 64,76	230,75 $\pm$ 56,928	299,79 $\pm$ 122,16
	SM C26:0	1,05 $\pm$ 2,56	0,49 $\pm$ 0,159	1,27 $\pm$ 2,44
	SM C26:1	0,97 $\pm$ 0,31	0,80 $\pm$ 0,204	0,86 $\pm$ 0,36
Hexose	H1	8489,86 $\pm$ 3372,28	11055,24 $\pm$ 6085,71	10111,6 $\pm$ 4245,04

DA = Doença de Alzheimer; CCL = Comprometimento Cognitivo Leve; PC = fosfatidilcolina; ae = ligação acil-alquil; SM = esfingomielinas.

Apêndice C. Valores de significância das análises *post-hoc* do grupo de indivíduos idosos.

Tabela 2 – Valores de significância das análises *post-hoc* do grupo idosos (continua).

Classe	Metabólito (nM)	DA x Controle	CCL x DA	Controles x CCL
Acilcarnitinas	C10	0,934	0,042	0,462
	C10:1	0,636	0,057	0,004
	C10:2	0,416	0,421	0,025
	C12-DC	0,218	0,003	<0,001
	C14	0,080	1,000	0,030
	C14:1	0,196	0,196	0,003
	C14:1-OH	0,085	1,000	0,020
	C14:2	0,135	1,000	0,041
	C14:2-OH	0,134	1,000	0,052
	C16:1	0,143	1,000	0,055
	C16:2-OH	0,201	0,945	0,035
	C2	1,000	0,052	0,071
	C3-DC (C4-OH)	0,048	1,000	0,322
	C5	0,734	0,052	0,004
	C5:1	0,067	1,000	0,099
	C7-DC	0,080	1,000	0,018
Lisofosfolípides	LPC a C16:0	0,922	0,019	0,278
	LPC a C16:1	0,677	0,047	0,671
	LPC a C18:0	1,000	0,005	0,048
	LPC a C18:1	1,000	0,011	0,094
	LPC a C20:4	0,040	0,126	1,000
	LPC a C28:0	0,145	1,000	0,050
	LPC a C28:1	1,000	0,024	0,101
Fosfolípides	PC aa C34:1	1,000	0,105	0,017
	PC aa C36:2	1,000	0,014	0,018
	PC aa C36:6	0,084	1,000	0,047
	PC aa C38:3	1,000	0,052	0,050
	PC aa C38:4	1,000	0,050	0,115
	PC aa C38:5	1,000	0,015	0,073
	PC aa C40:5	1,000	0,050	0,015
	PC aa C40:6	0,288	0,364	0,013
	PC ae C32:2	0,047	1,000	0,026

Tabela 2 - Valores de significância das análises *post-hoc* do grupo idosos (conclusão).

Classe	Metabólito (nM)	DA x Controle	CCL x DA	Controles x CCL
Fosfolípides	PC ae C40:2	0,024	1,000	0,024
	PC ae C40:5	0,216	1,000	0,045
	PC ae C42:1	0,059	1,000	0,056
	PC ae C42:4	0,090	1,000	0,082
	PC ae C44:3	0,040	0,014	1,000
	PC ae C44:4	0,050	0,085	1,000
	PC ae C44:6	0,101	1,000	0,062
Esfingomielinas	SM-OH C22:1	0,746	0,080	0,008
	SM-OH C22:2	0,267	0,443	0,016
	SM-OH C24:1	1,000	0,231	0,046
	SM C16:0	0,059	0,356	1,000
	SM C18:0	1,000	0,051	0,053
	SM C24:1	0,909	0,185	0,027

Apêndice D. Dados referentes à concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos indivíduos jovens.

Tabela 3 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos indivíduos jovens (continua).

Classe	Metabólito	SCZ	TB	Controle
Acilcarnitinas	C0	15,84 $\pm$ 4,43	15,21 $\pm$ 4,38	16,74 $\pm$ 4,3
	C10	0,53 $\pm$ 0,24	0,58 $\pm$ 0,23	0,60 $\pm$ 0,19
	C10:1	0,40 $\pm$ 0,14	0,43 $\pm$ 0,11	0,46 $\pm$ 0,10
	C10:2	0,36 $\pm$ 0,12	0,38 $\pm$ 0,18	0,37 $\pm$ 0,12
	C12	0,13 $\pm$ 0,05	0,12 $\pm$ 0,03	0,15 $\pm$ 0,05
	C12-DC	0,06 $\pm$ 0,04	0,11 $\pm$ 0,08	0,06 $\pm$ 0,04
	C12:1	0,35 $\pm$ 0,08	0,32 $\pm$ 0,07	0,38 $\pm$ 0,09
	C14	0,12 $\pm$ 0,06	0,12 $\pm$ 0,07	0,12 $\pm$ 0,05
	C14:1	0,11 $\pm$ 0,04	0,15 $\pm$ 0,0	0,11 $\pm$ 0,03
	C14:1-OH	0,03 $\pm$ 0,03	0,06 $\pm$ 0,07	0,03 $\pm$ 0,04
	C14:2	1,71 $\pm$ 0,47	1,72 $\pm$ 0,72	1,88 $\pm$ 0,75
	C14:2-OH	0,03 $\pm$ 0,03	0,05 $\pm$ 0,05	0,03 $\pm$ 0,03
	C16	0,17 $\pm$ 0,09	0,16 $\pm$ 0,09	0,21 $\pm$ 0,05
	C16-OH	0,02 $\pm$ 0,02	0,04 $\pm$ 0,04	0,04 $\pm$ 0,03
	C16:1	0,05 $\pm$ 0,04	0,08 $\pm$ 0,05	0,05 $\pm$ 0,04
	C16:1-OH	0,05 $\pm$ 0,05	0,06 $\pm$ 0,06	0,11 $\pm$ 0,40
	C16:2	0,04 $\pm$ 0,03	0,06 $\pm$ 0,05	0,03 $\pm$ 0,03
	C16:2-OH	0,03 $\pm$ 0,03	0,06 $\pm$ 0,05	0,04 $\pm$ 0,03
	C18	0,09 $\pm$ 0,05	0,14 $\pm$ 0,08	0,10 $\pm$ 0,05
	C18:1	0,08 $\pm$ 0,05	0,09 $\pm$ 0,05	0,10 $\pm$ 0,05
	C18:1-OH	0,03 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,04	0,03 $\pm$ 0,03
	C18:2	0,05 $\pm$ 0,04	0,08 $\pm$ 0,05	0,05 $\pm$ 0,04
	C2	8,48 $\pm$ 3,23	8,58 $\pm$ 2,92	9,87 $\pm$ 3,18
	C3	0,32 $\pm$ 0,11	0,29 $\pm$ 0,09	0,33 $\pm$ 0,11

C0 = Carnitina; C10 = Decanoilcarnitina; C10:1 = Decenoilcarnitina; C10:2 = Decadienilcarnitina; C12 = Dodecanoilcarnitina; C12-DC = Dodecanedioilcarnitina; C12:1 = Dodecenoilcarnitina; C14 = Tetradecanoilcarnitina; C14:1 = Tetradecenoilcarnitina; C14:1-OH = Hidroxitetradecenoilcarnitina; C14:2 = Tetradecadienilcarnitina; C14:2-OH = Hidroxitetradecadienilcarnitina; C16 = Hexadecanoilcarnitina; C16-OH = Hidroxihexadecanoilcarnitina; C16:1 = Hexadecenoilcarnitina; C16:1-OH = Hidroxihexadecenoilcarnitina; C16:2 = Hexadecadienilcarnitina; C16:2-OH = Hidroxihexadecadienilcarnitina; C18 = Octadecanoilcarnitina; C18:1 = Octadecenoilcarnitina; C18:1-OH = Hidroxioctadecenoilcarnitina; C18:2 = Octadecadienilcarnitina; C2 = Acetilcarnitina; C3 = Propionilcarnitina; SCZ = Esquizofrenia; TB = Transtorno Bipolar.

Tabela 3 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos indivíduos jovens (continuação).

Classe	Metabólito	SCZ	TB	Controle
Acilcarnitinas	C3-OH	0,10 $\pm$ 0,06	0,04 $\pm$ 0,04	0,08 $\pm$ 0,07
	C3:1	0,09 $\pm$ 0,07	0,08 $\pm$ 0,05	0,09 $\pm$ 0,07
	C4	0,31 $\pm$ 0,13	0,24 $\pm$ 0,08	0,33 $\pm$ 0,21
	C3-DC (C4-OH)	0,31 $\pm$ 0,13	0,24 $\pm$ 0,10	0,37 $\pm$ 0,16
	C4:1	0,35 $\pm$ 0,1	0,27 $\pm$ 0,06	0,36 $\pm$ 0,13
	C5	0,37 $\pm$ 0,13	0,34 $\pm$ 0,13	0,36 $\pm$ 0,08
	C5-M-DC	0,17 $\pm$ 0,06	0,15 $\pm$ 0,06	0,16 $\pm$ 0,05
	C5-OH (C3-DC-M)	0,08 $\pm$ 0,07	0,11 $\pm$ 0,06	0,08 $\pm$ 0,08
	C5:1	0,16 $\pm$ 0,06	0,16 $\pm$ 0,08	0,18 $\pm$ 0,04
	C5:1-DC	0,03 $\pm$ 0,04	0,06 $\pm$ 0,05	0,04 $\pm$ 0,04
	C6 (C4:1-DC)	0,09 $\pm$ 0,06	0,11 $\pm$ 0,05	0,10 $\pm$ 0,04
	C5-DC (C6-OH)	0,11 $\pm$ 0,11	0,13 $\pm$ 0,07	0,12 $\pm$ 0,14
	C6:1	0,08 $\pm$ 0,05	0,08 $\pm$ 0,04	0,08 $\pm$ 0,05
	C7-DC	0,10 $\pm$ 0,10	0,02 $\pm$ 0,02	0,02 $\pm$ 0,02
	C8	0,07 $\pm$ 0,03	0,10 $\pm$ 0,04	0,07 $\pm$ 0,05
	C9	0,09 $\pm$ 0,07	0,11 $\pm$ 0,07	0,12 $\pm$ 0,08
Lisofosfolípides	LPC a C14:0	4,62 $\pm$ 0,55	4,71 $\pm$ 0,73	4,28 $\pm$ 0,65
	LPC a C16:0	126,69 $\pm$ 29,98	139,02 $\pm$ 31,23	125,63 $\pm$ 25,42
	LPC a C16:1	3,57 $\pm$ 1,04	4,06 $\pm$ 1,17	3,54 $\pm$ 1,02
	LPC a C17:0	3,05 $\pm$ 1,22	3,16 $\pm$ 0,94	2,85 $\pm$ 0,80
	LPC a C18:0	44,98 $\pm$ 13,57	49,77 $\pm$ 14,02	44,81 $\pm$ 12,54
	LPC a C18:1	25,24 $\pm$ 8,12	28,68 $\pm$ 6,66	25,75 $\pm$ 6,95
	LPC a C18:2	47,85 $\pm$ 17,70	48,22 $\pm$ 14,21	48,54 $\pm$ 14,25
	LPC a C20:3	3,85 $\pm$ 1,25	4,40 $\pm$ 1,14	3,87 $\pm$ 1,34
	LPC a C20:4	10,62 $\pm$ 3,88	11,00 $\pm$ 2,96	12,22 $\pm$ 3,55

C3-OH = Hidroxipropionilcarnitina; C3:1 = Propenoilcarnitina; C4 = Butirilcarnitina; C4-OH (C3-DC) = Hidroxibutirilcarnitina; C4:1 = Butenilcarnitina; C5 = Valerilcarnitina; C5-M-DC = Metilglutarilcarnitina; C5-OH (C3-DC-M) = Hidroxivalerilcarnitina (Metilmalonilcarnitina); C5:1 = Tiglilcarnitina; C5:1-DC = Glutaconilcarnitina; C6 (C4:1-DC) = Hexanoilcarnitina (Fumarilcarnitina); C5-DC (C6-OH) = Glutarilcarnitina (Hidroxihexanoilcarnitina); C6:1 = Hexenoilcarnitina; C7-DC = Pimelilcarnitina; C8 = Octanoilcarnitina; C9 = Nonailcarnitina; SCZ = Esquizofrenia; TB = Transtorno Bipolar; LPC = lisofosfatidilcolina; PC = fosfatidilcolina; a = ligação acil.

Tabela 3 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos indivíduos jovens (continuação).

Classe	Metabólito	SCZ	TB	Controle
Lisofosfolípides	LPC a C24:0	0,52 $\pm$ 0,26	0,83 $\pm$ 0,22	0,46 $\pm$ 0,17
	LPC a C26:0	0,77 $\pm$ 0,52	1,61 $\pm$ 0,36	0,53 $\pm$ 0,17
	LPC a C26:1	0,38 $\pm$ 0,21	0,67 $\pm$ 0,25	0,30 $\pm$ 0,11
	LPC a C28:0	0,73 $\pm$ 0,37	1,39 $\pm$ 0,24	0,56 $\pm$ 0,30
	LPC a C28:1	0,71 $\pm$ 0,32	1,29 $\pm$ 0,30	0,62 $\pm$ 0,18
Fosfolípides	PC aa C24:0	0,20 $\pm$ 0,15	0,40 $\pm$ 0,17	0,16 $\pm$ 0,04
	PC aa C26:0	1,19 $\pm$ 0,81	2,23 $\pm$ 0,54	0,86 $\pm$ 0,15
	PC aa C28:1	1,66 $\pm$ 0,49	1,78 $\pm$ 0,45	1,70 $\pm$ 0,60
	PC aa C30:0	2,44 $\pm$ 0,92	2,99 $\pm$ 1,33	1,99 $\pm$ 1,022
	PC aa C32:0	8,55 $\pm$ 1,75	9,96 $\pm$ 3,04	8,59 $\pm$ 2,44
	PC aa C32:1	6,90 $\pm$ 3,22	10,05 $\pm$ 6,53	7,02 $\pm$ 6,46
	PC aa C32:3	0,31 $\pm$ 0,06	0,37 $\pm$ 0,09	0,29 $\pm$ 0,09
	PC aa C34:1	139,01 $\pm$ 35,74	171,95 $\pm$ 66,67	141,79 $\pm$ 60,27
	PC aa C34:2	352,32 $\pm$ 74,80	375,74 $\pm$ 62,52	342,67 $\pm$ 89,02
	PC aa C34:3	11,69 $\pm$ 2,75	13,71 $\pm$ 4,45	11,52 $\pm$ 4,79
	PC aa C34:4	1,32 $\pm$ 0,49	1,35 $\pm$ 0,52	1,24 $\pm$ 0,59
	PC aa C36:0	3,96 $\pm$ 5,04	2,58 $\pm$ 0,70	3,61 $\pm$ 3,14
	PC aa C36:1	27,02 $\pm$ 6,84	34,34 $\pm$ 12,93	28,28 $\pm$ 13,31
	PC aa C36:2	194,93 $\pm$ 40,87	212,18 $\pm$ 36,49	185,15 $\pm$ 49,51
	PC aa C36:3	96,89 $\pm$ 18,02	111,61 $\pm$ 29,04	92,39 $\pm$ 31,63
	PC aa C36:4	162,86 $\pm$ 42,23	175,25 $\pm$ 46,21	175,97 $\pm$ 41,16
	PC aa C36:5	10,38 $\pm$ 3,70	13,73 $\pm$ 8,98	11,47 $\pm$ 4,71
	PC aa C36:6	0,48 $\pm$ 0,17	0,52 $\pm$ 0,23	0,45 $\pm$ 0,20
	PC aa C38:0	1,87 $\pm$ 0,59	2,07 $\pm$ 0,45	2,03 $\pm$ 0,64
	PC aa C38:3	35,56 $\pm$ 8,42	42,30 $\pm$ 13,71	36,64 $\pm$ 15,73
	PC aa C38:4	88,34 $\pm$ 29,22	97,74 $\pm$ 26,84	99,08 $\pm$ 31,49
	PC aa C38:5	37,55 $\pm$ 9,49	43,34 $\pm$ 13,89	39,61 $\pm$ 11,76
	PC aa C38:6	50,2 $\pm$ 15,79	56,65 $\pm$ 20,11	55,4 $\pm$ 18,11
	PC aa C40:1	0,32 $\pm$ 0,07	0,37 $\pm$ 0,06	0,33 $\pm$ 0,06
	PC aa C40:2	0,23 $\pm$ 0,07	0,28 $\pm$ 0,06	0,22 $\pm$ 0,07
	PC aa C40:3	0,34 $\pm$ 0,07	0,45 $\pm$ 0,11	0,38 $\pm$ 0,10
	PC aa C40:4	3,39 $\pm$ 0,98	3,90 $\pm$ 1,47	3,76 $\pm$ 1,85
	PC aa C40:5	8,48 $\pm$ 2,55	10,07 $\pm$ 4,48	9,05 $\pm$ 4,18

SCZ = Esquizofrenia; TB = Transtorno Bipolar; LPC = lisofosfatidilcolina; PC = fosfatidilcolina; a = ligação acil; aa = ligação diacil.

Tabela 3 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos indivíduos jovens (continuação).

Classe	Metabólito	SCZ	TB	Controle
Fosfolípides	PC aa C40:6	20,17 $\pm$ 6,92	23,89 $\pm$ 11,71	22,26 $\pm$ 8,75
	PC aa C42:0	0,47 $\pm$ 0,16	0,50 $\pm$ 0,13	0,48 $\pm$ 0,09
	PC aa C42:1	0,24 $\pm$ 0,08	0,29 $\pm$ 0,07	0,26 $\pm$ 0,06
	PC aa C42:2	0,22 $\pm$ 0,05	0,27 $\pm$ 0,05	0,23 $\pm$ 0,07
	PC aa C42:4	0,19 $\pm$ 0,05	0,23 $\pm$ 0,05	0,20 $\pm$ 0,06
	PC aa C42:5	0,26 $\pm$ 0,06	0,31 $\pm$ 0,08	0,28 $\pm$ 0,10
	PC aa C42:6	0,40 $\pm$ 0,09	0,48 $\pm$ 0,07	0,43 $\pm$ 0,16
	PC ae C30:0	0,33 $\pm$ 0,11	0,40 $\pm$ 0,11	0,28 $\pm$ 0,11
	PC ae C30:1	0,03 $\pm$ 0,08	0,07 $\pm$ 0,08	0,01 $\pm$ 0,01
	PC ae C30:2	0,12 $\pm$ 0,05	0,18 $\pm$ 0,04	0,11 $\pm$ 0,04
	PC ae C32:1	1,10 $\pm$ 0,29	1,31 $\pm$ 0,31	1,04 $\pm$ 0,32
	PC ae C32:2	0,37 $\pm$ 0,1	0,47 $\pm$ 0,09	0,36 $\pm$ 0,09
	PC ae C34:0	1,16 $\pm$ 0,32	1,29 $\pm$ 0,45	1,06 $\pm$ 0,34
	PC ae C34:1	5,32 $\pm$ 1,37	5,85 $\pm$ 1,78	5,16 $\pm$ 1,64
	PC ae C34:2	7,63 $\pm$ 1,92	7,65 $\pm$ 1,72	7,11 $\pm$ 1,98
	PC ae C34:3	5,33 $\pm$ 1,55	5,11 $\pm$ 0,99	4,98 $\pm$ 1,54
	PC ae C36:0	0,62 $\pm$ 0,17	0,74 $\pm$ 0,19	0,60 $\pm$ 0,17
	PC ae C36:1	8,33 $\pm$ 2,25	9,63 $\pm$ 2,69	8,10 $\pm$ 2,55
	PC ae C36:2	12,29 $\pm$ 3,77	12,21 $\pm$ 2,30	11,22 $\pm$ 3,18
	PC ae C36:3	4,95 $\pm$ 1,20	5,07 $\pm$ 1,06	4,72 $\pm$ 1,35
	PC ae C36:4	10,41 $\pm$ 1,77	10,2 $\pm$ 3,08	10,82 $\pm$ 2,15
	PC ae C36:5	7,66 $\pm$ 1,76	7,56 $\pm$ 1,86	7,97 $\pm$ 1,92
	PC ae C38:0	1,12 $\pm$ 0,32	1,29 $\pm$ 0,39	1,17 $\pm$ 0,38
	PC ae C38:1	0,01 $\pm$ 0,04	0,02 $\pm$ 0,10	0,01 $\pm$ 0,02
	PC ae C38:2	0,58 $\pm$ 0,40	0,57 $\pm$ 0,33	0,44 $\pm$ 0,31
	PC ae C38:3	4,52 $\pm$ 0,99	4,91 $\pm$ 1,21	4,38 $\pm$ 1,32
	PC ae C38:4	9,44 $\pm$ 2,03	9,25 $\pm$ 1,88	9,8 $\pm$ 1,72
	PC ae C38:5	10,38 $\pm$ 2	10,38 $\pm$ 2,28	10,99 $\pm$ 2,17
	PC ae C38:6	4,23 $\pm$ 1,04	4,41 $\pm$ 1,04	4,59 $\pm$ 1,21
	PC ae C40:1	0,74 $\pm$ 0,22	0,89 $\pm$ 0,24	0,76 $\pm$ 0,21
	PC ae C40:2	1,18 $\pm$ 0,40	1,25 $\pm$ 0,30	1,24 $\pm$ 0,39
	PC ae C40:3	1,14 $\pm$ 0,31	1,41 $\pm$ 0,26	1,08 $\pm$ 0,25
	PC ae C40:4	1,74 $\pm$ 0,35	1,83 $\pm$ 0,36	1,78 $\pm$ 0,32

SCZ = Esquizofrenia; TB = Transtorno Bipolar; LPC = lisofosfatidilcolina; PC = fosfatidilcolina; a = ligação acil; aa = ligação diacil; ae = ligação acil-alquil.

Tabela 3 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos indivíduos jovens (conclusão).

Classe	Metabólito	SCZ	TB	Controle
Fosfolípides	PC ae C40:5	2,81 $\pm$ 0,67	2,93 $\pm$ 0,60	2,89 $\pm$ 0,53
	PC ae C40:6	3,10 $\pm$ 0,94	3,21 $\pm$ 0,70	3,24 $\pm$ 0,87
	PC ae C42:0	0,66 $\pm$ 0,09	0,74 $\pm$ 0,07	0,67 $\pm$ 0,10
	PC ae C42:1	0,34 $\pm$ 0,09	0,44 $\pm$ 0,09	0,34 $\pm$ 0,10
	PC ae C42:2	0,42 $\pm$ 0,09	0,46 $\pm$ 0,11	0,44 $\pm$ 0,11
	PC ae C42:3	0,62 $\pm$ 0,17	0,72 $\pm$ 0,16	0,63 $\pm$ 0,15
	PC ae C42:4	0,64 $\pm$ 0,18	0,70 $\pm$ 0,17	0,64 $\pm$ 0,13
	PC ae C42:5	1,42 $\pm$ 0,38	1,47 $\pm$ 0,30	1,45 $\pm$ 0,28
	PC ae C44:3	0,11 $\pm$ 0,0	0,15 $\pm$ 0,03	0,11 $\pm$ 0,02
	PC ae C44:4	0,26 $\pm$ 0,06	0,28 $\pm$ 0,07	0,25 $\pm$ 0,05
	PC ae C44:5	1,02 $\pm$ 0,30	1,04 $\pm$ 0,26	1,07 $\pm$ 0,27
	PC ae C44:6	1,00 $\pm$ 0,25	1,03 $\pm$ 0,25	1,07 $\pm$ 0,24
Esfingomielinas	SM (OH) C14:1	10,56 $\pm$ 3,35	10,47 $\pm$ 3,02	11,77 $\pm$ 3,44
	SM (OH) C16:1	7,27 $\pm$ 2,33	7,22 $\pm$ 2,10	8,05 $\pm$ 2,22
	SM (OH) C22:1	63,76 $\pm$ 16,34	71,85 $\pm$ 14,64	67,08 $\pm$ 18,03
	SM (OH) C22:2	62,19 $\pm$ 16,29	71,58 $\pm$ 14,87	65,76 $\pm$ 18,47
	SM (OH) C24:1	3,45 $\pm$ 1,27	3,84 $\pm$ 0,98	3,63 $\pm$ 1,00
	SM C16:0	202,89 $\pm$ 47,30	200,33 $\pm$ 43,22	225,73 $\pm$ 53,40
	SM C16:1	30,21 $\pm$ 7,36	30,70 $\pm$ 7,19	34,94 $\pm$ 10,88
	SM C18:0	51,40 $\pm$ 12,78	54,24 $\pm$ 13,73	55,85 $\pm$ 15,90
	SM C18:1	24,74 $\pm$ 7,02	25,16 $\pm$ 6,70	28,19 $\pm$ 9,00
	SM C20:2	1,33 $\pm$ 0,33	1,52 $\pm$ 0,37	1,39 $\pm$ 0,41
	SM C24:0	56,36 $\pm$ 13,82	61,70 $\pm$ 11,80	58,65 $\pm$ 14,46
	SM C24:1	226,43 $\pm$ 55,72	257,26 $\pm$ 56,27	241,13 $\pm$ 56,08
	SM C26:0	0,50 $\pm$ 0,15	0,62 $\pm$ 0,17	0,52 $\pm$ 0,16
	SM C26:1	0,84 $\pm$ 0,25	0,99 $\pm$ 0,30	0,88 $\pm$ 0,27
Hexose	H1	9207,84 $\pm$ 3612,34	8813,67 $\pm$ 3595,50	8438,12 $\pm$ 3344,15

SCZ = Esquizofrenia; TB = Transtorno Bipolar; LPC = lisofosfatidilcolina; PC = fosfatidilcolina; ae = ligação acil-alquil; SM = esfingomielinas.

Apêndice E. Valores de significância das análises *post-hoc* do grupo de indivíduos jovens.

Tabela 4 – Valores de significância das análises *post-hoc* do grupo jovens (continua).

Classe	Metabólito (nM)	Controle x SCZ	SCZ x TB	Controle x TB
Acilcarnitinas	C12	0,170	1,000	0,043
	C12-DC	1,000	0,001	0,003
	C12:1	0,597	0,619	0,035
	C14:1	1,000	0,006	0,019
	C14:1-OH	1,000	0,050	0,101
	C16-OH	0,072	0,112	1,000
	C16:1	1,000	0,039	0,102
	C16:2	1,000	0,099	0,032
	C16:2-OH	1,000	0,005	0,060
	C18	1,000	0,009	0,052
	C18:1-OH	1,000	0,040	0,043
	C18:2	1,000	0,018	0,068
	C3-OH	0,575	0,001	0,043
	C4-OH (C3-DC)	0,272	0,130	0,001
	C8	1,000	0,005	0,013
Lisofosfolípides	LPC a C14:0	0,159	1,0000	0,046
	LPC a C24:0	0,816	<0,001	<0,001
	LPC a C26:0	0,049	<0,001	<0,001
	LPC a C26:1	0,376	<0,001	<0,001
	LPC a C28:0	0,138	<0,001	<0,001
	LPC a C28:1	0,718	<0,001	<0,001
Fosfolípides	PC aa C24:0	0,670	<0,001	<0,001
	PC aa C26:0	0,084	<0,001	<0,001
	PC aa C30:0	0,367	0,201	0,003
	PC aa C32:3	1,000	0,042	0,006
	PC aa C36:1	1,000	0,061	0,148
	PC aa C36:3	1,000	0,026	0,139
	PC aa C40:1	1,000	0,013	0,084
	PC aa C40:2	1,000	0,056	0,009
	PC aa C40:3	0,523	<0,001	0,015
	PC aa C42:1	1,000	0,036	0,167
	PC aa C42:2	1,000	0,008	0,053

Tabela 4 - Valores de significância das análises *post-hoc* do grupo jovens (conclusão).

Classe	Metabólito (nM)	Controle x SCZ	SCZ x TB	Controle x TB
Fosfolípides	PC aa C42:4	1,000	0,024	0,106
	PC aa C42:6	1,000	0,036	0,250
	PC ae C30:0	0,424	0,054	0,001
	PC ae C30:1	0,347	0,162	0,002
	PC ae C30:2	0,976	<0,001	<0,001
	PC ae C32:1	1,000	0,039	0,004
	PC ae C32:2	1,000	0,001	<0,001
	PC ae C36:0	1,000	0,036	0,010
	PC ae C40:1	1,000	0,039	0,084
	PC ae C40:3	1,000	0,001	<0,001
	PC ae C42:0	1,000	0,002	0,015
	PC ae C42:1	1,000	<0,001	0,001
	PC ae C42:3	1,000	0,082	0,114
	PC ae C44:3	1,000	<0,001	<0,001
Esfingomielina	SM C26:0	1,000	0,019	0,083

Apêndice F. Dados referentes à concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos pacientes CCL que converteram para DA.

Tabela 5 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos pacientes CCL que converteram para DA (continua).

Classe	Metabólito	T0	T1	p
Acilcarnitinas	C0	19,82 $\pm$ 9,41	14,29 $\pm$ 8,17	0,401
	C10	0,65 $\pm$ 0,64	0,45 $\pm$ 0,18	0,484
	C10:1	0,45 $\pm$ 0,16	0,42 $\pm$ 0,18	0,575
	C10:2	0,32 $\pm$ 0,04	0,34 $\pm$ 0,09	0,575
	C12	0,16 $\pm$ 0,08	0,16 $\pm$ 0,05	1,0000
	C12-DC	0,04 $\pm$ 0,03	0,06 $\pm$ 0,04	0,237
	C12:1	0,33 $\pm$ 0,15	0,35 $\pm$ 0,08	0,779
	C14	0,09 $\pm$ 0,04	0,10 $\pm$ 0,04	0,674
	C14:1	0,09 $\pm$ 0,05	0,09 $\pm$ 0,02	0,779
	C14:1-OH	0,02 $\pm$ 0,03	0,03 $\pm$ 0,03	0,674
	C14:2	1,54 $\pm$ 0,26	1,52 $\pm$ 0,33	0,674
	C14:2-OH	0,02 $\pm$ 0,03	0,02 $\pm$ 0,03	1,000
	C16	0,14 $\pm$ 0,04	0,13 $\pm$ 0,06	0,833
	C16-OH	0,02 $\pm$ 0,03	0,02 $\pm$ 0,03	0,917
	C16:1	0,04 $\pm$ 0,05	0,03 $\pm$ 0,03	0,612
	C16:1-OH	0,03 $\pm$ 0,04	0,04 $\pm$ 0,04	0,528
	C16:2	0,02 $\pm$ 0,03	0,03 $\pm$ 0,03	0,225
	C16:2-OH	0,02 $\pm$ 0,03	0,03 $\pm$ 0,03	0,345
	C18	0,06 $\pm$ 0,04	0,09 $\pm$ 0,02	0,263
	C18:1	0,10 $\pm$ 0,03	0,07 $\pm$ 0,03	0,123
	C18:1-OH	0,04 $\pm$ 0,02	0,03 $\pm$ 0,03	0,624
	C18:2	0,05 $\pm$ 0,03	0,05 $\pm$ 0,04	0,674
	C2	11,17 $\pm$ 4,61	8,61 $\pm$ 2,94	0,161
	C3	0,33 $\pm$ 0,09	0,27 $\pm$ 0,14	0,484
	C3-OH	0,09 $\pm$ 0,05	0,07 $\pm$ 0,05	0,779

C0 = Carnitina; C10 = Decanoilcarnitina; C10:1 = Decenoilcarnitina; C10:2 = Decadienilcarnitina; C12 = Dodecanoilcarnitina; C12-DC = Dodecanedioilcarnitina; C12:1 = Dodecenoilcarnitina; C14 = Tetradecanoilcarnitina; C14:1 = Tetradecenoilcarnitina; C14:1-OH = Hidroxitetradecenoilcarnitina; C14:2 = Tetradecadienilcarnitina; C14:2-OH = Hidroxitetradecadienilcarnitina; C16 = Hexadecanoilcarnitina; C16-OH = Hidroxihexadecanoilcarnitina; C16:1 = Hexadecenoilcarnitina; C16:1-OH = Hidroxihexadecenoilcarnitina; C16:2 = Hexadecadienilcarnitina; C16:2-OH = Hidroxihexadecadienilcarnitina; C18 = Octadecanoilcarnitina; C18:1 = Octadecenoilcarnitina; C18:1-OH = Hidroxiocetadecenoilcarnitina; C18:2 = Octadecadienilcarnitina; C2 = Acetilcarnitina; C3 = Propionilcarnitina; C3-OH = Hidroxipropionilcarnitina; p = valor de significância usando o teste Wilcoxon.

Tabela 5 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos pacientes CCL que converteram para DA (continuação).

Classe	Metabólito	T0	T1	p
Acilcarnitinas	C3:1	0,08 $\pm$ 0,07	0,14 $\pm$ 0,07	0,017
	C4	0,34 $\pm$ 0,22	0,39 $\pm$ 0,23	0,208
	C3-DC (C4-OH)	0,34 $\pm$ 0,17	0,35 $\pm$ 0,12	0,161
	C4:1	0,36 $\pm$ 0,12	0,36 $\pm$ 0,09	0,889
	C5	0,33 $\pm$ 0,09	0,37 $\pm$ 0,13	0,484
	C5-M-DC	0,18 $\pm$ 0,05	0,16 $\pm$ 0,05	0,575
	C5-OH (C3-DC-M)	0,08 $\pm$ 0,04	0,10 $\pm$ 0,06	0,327
	C5:1	0,12 $\pm$ 0,06	0,10 $\pm$ 0,07	0,575
	C5:1-DC	0,04 $\pm$ 0,05	0,06 $\pm$ 0,04	0,398
	C6 (C4:1-DC)	0,12 $\pm$ 0,11	0,09 $\pm$ 0,08	0,674
	C5-DC (C6-OH)	0,12 $\pm$ 0,12	0,13 $\pm$ 0,09	0,779
	C6:1	0,05 $\pm$ 0,05	0,08 $\pm$ 0,04	0,263
	C7-DC	0,01 $\pm$ 0,01	0,01 $\pm$ 0,01	0,345
	C8	0,10 $\pm$ 0,12	0,06 $\pm$ 0,01	0,400
	C9	0,09 $\pm$ 0,08	0,11 $\pm$ 0,10	1,000
Lisofosfolípides	LPC a C14:0	4,41 $\pm$ 0,73	4,58 $\pm$ 0,72	0,779
	LPC a C16:0	124,69 $\pm$ 26,28	119,62 $\pm$ 19,50	0,779
	LPC a C16:1	3,39 $\pm$ 1,27	3,49 $\pm$ 0,82	0,575
	LPC a C17:0	2,92 $\pm$ 0,75	2,90 $\pm$ 0,71	0,889
	LPC a C18:0	42,66 $\pm$ 10,65	41,29 $\pm$ 11,83	0,889
	LPC a C18:1	24,67 $\pm$ 7,94	24,11 $\pm$ 5,11	0,889
	LPC a C18:2	43,94 $\pm$ 14,21	43,45 $\pm$ 14,75	0,899
	LPC a C20:3	3,82 $\pm$ 1,47	3,99 $\pm$ 1,28	0,726
	LPC a C20:4	11,12 $\pm$ 3,85	10,36 $\pm$ 1,46	0,779
	LPC a C24:0	0,48 $\pm$ 0,10	0,44 $\pm$ 0,14	0,398
	LPC a C26:0	0,66 $\pm$ 0,17	0,66 $\pm$ 0,16	0,889
	LPC a C26:1	0,40 $\pm$ 0,09	0,41 $\pm$ 0,18	0,889
	LPC a C28:0	0,69 $\pm$ 0,14	0,64 $\pm$ 0,18	0,484
	LPC a C28:1	0,70 $\pm$ 0,14	0,70 $\pm$ 0,14	0,779

C3:1 = Propenilcarnitina; C4 = Butirilcarnitina; C4-OH (C3-DC) = Hidroxibutirilcarnitina; C4:1 = Butenilcarnitina; C5 = Valerilcarnitina; C5-M-DC = Metilglutarilcarnitina; C5-OH (C3-DC-M) = Hidroxivalerilcarnitina (Metilmalonilcarnitina); C5:1 = Tigililcarnitina; C5:1-DC = Glutaconilcarnitina; C6 (C4:1-DC) = Hexanoilcarnitina (Fumarilcarnitina); C5-DC (C6-OH) = Glutarilcarnitina (Hidroxihexanoilcarnitina); C6:1 = Hexenoilcarnitina; C7-DC = Pimelilcarnitina; C8 = Octanoilcarnitina; C9 = Nonailcarnitina; LPC = lisofosfatidilcolina; a = ligação acil; p = valor de significância usando o teste Wilcoxon.

Tabela 5 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos pacientes CCL que converteram para DA (continuação).

Classe	Metabólito	T0	T1	p
Fosfolípides	PC aa C24:0	0,18 $\pm$ 0,06	0,18 $\pm$ 0,063	0,889
	PC aa C26:0	1,15 $\pm$ 0,25	1,09 $\pm$ 0,22	0,575
	PC aa C28:1	1,53 $\pm$ 0,50	1,80 $\pm$ 0,69	0,263
	PC aa C30:0	2,13 $\pm$ 1,21	2,39 $\pm$ 1,07	0,779
	PC aa C32:0	7,87 $\pm$ 2,13	8,37 $\pm$ 1,49	0,575
	PC aa C32:1	7,06 $\pm$ 5,22	8,03 $\pm$ 5,71	0,674
	PC aa C32:3	0,29 $\pm$ 0,08	0,34 $\pm$ 0,08	0,183
	PC aa C34:1	133,41 $\pm$ 54,74	139,21 $\pm$ 41,85	0,674
	PC aa C34:2	318,12 $\pm$ 87,77	364,25 $\pm$ 112,85	0,779
	PC aa C34:3	10,33 $\pm$ 4,94	13,08 $\pm$ 5,40	0,499
	PC aa C34:4	1,15 $\pm$ 0,54	1,53 $\pm$ 0,76	0,327
	PC aa C36:0	2,33 $\pm$ 0,58	2,71 $\pm$ 1,13	0,575
	PC aa C36:1	24,77 $\pm$ 9,11	26,70 $\pm$ 8,81	0,674
	PC aa C36:2	171,25 $\pm$ 51,21	191,37 $\pm$ 45,14	0,327
	PC aa C36:3	88,10 $\pm$ 33,59	109,34 $\pm$ 50,01	0,401
	PC aa C36:4	153,75 $\pm$ 29,95	173,25 $\pm$ 51,47	0,401
	PC aa C36:5	9,01 $\pm$ 3,77	10,86 $\pm$ 4,19	0,401
	PC aa C36:6	0,40 $\pm$ 0,21	0,53 $\pm$ 0,20	0,401
	PC aa C38:0	1,75 $\pm$ 0,58	2,03 $\pm$ 0,81	0,674
	PC aa C38:3	33,92 $\pm$ 13,97	39,67 $\pm$ 17,03	0,575
	PC aa C38:4	85,95 $\pm$ 19,40	92,08 $\pm$ 26,98	0,484
	PC aa C38:5	34,07 $\pm$ 8,58	37,06 $\pm$ 9,67	0,401
	PC aa C38:6	44,92 $\pm$ 18,79	54,90 $\pm$ 12,14	0,233
	PC aa C40:1	0,31 $\pm$ 0,05	0,34 $\pm$ 0,07	0,575
	PC aa C40:2	0,20 $\pm$ 0,06	0,24 $\pm$ 0,06	0,263
	PC aa C40:3	0,32 $\pm$ 0,09	0,40 $\pm$ 0,14	0,263
	PC aa C40:4	3,29 $\pm$ 1,04	3,17 $\pm$ 0,77	0,575
	PC aa C40:5	7,67 $\pm$ 2,88	7,46 $\pm$ 2,14	1,000
	PC aa C40:6	18,31 $\pm$ 8,29	20,89 $\pm$ 5,36	0,401
	PC aa C42:0	0,42 $\pm$ 0,08	0,45 $\pm$ 0,16	0,779
	PC aa C42:1	0,22 $\pm$ 0,03	0,25 $\pm$ 0,11	0,779
	PC aa C42:2	0,20 $\pm$ 0,04	0,23 $\pm$ 0,07	0,208
	PC aa C42:4	0,16 $\pm$ 0,03	0,18 $\pm$ 0,04	0,327

PC = fosfatidilcolina; aa = ligação diacil; p = valor de significância usando o teste Wilcoxon.

Tabela 5 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos pacientes CCL que converteram para DA (continuação).

Classe	Metabólito	T0	T1	p
Fosfolípides	PC aa C42:5	0,25 $\pm$ 0,07	0,24 $\pm$ 0,03	0,623
	PC aa C42:6	0,36 $\pm$ 0,08	0,36 $\pm$ 0,09	0,833
	PC ae C30:0	0,31 $\pm$ 0,08	0,31 $\pm$ 0,12	1,000
	PC ae C30:1	0,00 $\pm$ 0,00	0,02 $\pm$ 0,03	0,109
	PC ae C30:2	0,12 $\pm$ 0,02	0,12 $\pm$ 0,02	0,574
	PC ae C32:1	1,10 $\pm$ 0,37	1,11 $\pm$ 0,41	0,401
	PC ae C32:2	0,33 $\pm$ 0,09	0,36 $\pm$ 0,12	1,000
	PC ae C34:0	1,07 $\pm$ 0,39	1,17 $\pm$ 0,43	0,327
	PC ae C34:1	5,18 $\pm$ 2,28	5,57 $\pm$ 1,57	0,401
	PC ae C34:2	6,67 $\pm$ 2,30	7,63 $\pm$ 1,58	0,575
	PC ae C34:3	4,69 $\pm$ 1,34	4,86 $\pm$ 1,54	0,484
	PC ae C36:0	0,56 $\pm$ 0,17	0,63 $\pm$ 0,18	0,327
	PC ae C36:1	8,22 $\pm$ 3,23	8,81 $\pm$ 2,96	0,362
	PC ae C36:2	11,33 $\pm$ 4,02	12,93 $\pm$ 3,23	0,362
	PC ae C36:3	4,43 $\pm$ 1,47	5,07 $\pm$ 1,35	0,401
	PC ae C36:4	9,43 $\pm$ 1,66	10,33 $\pm$ 2,78	0,674
	PC ae C36:5	7,58 $\pm$ 1,39	7,74 $\pm$ 3,04	1,000
	PC ae C38:0	0,94 $\pm$ 0,34	1,20 $\pm$ 0,31	0,327
	PC ae C38:1	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1,000
	PC ae C38:2	0,49 $\pm$ 0,43	0,55 $\pm$ 0,40	0,779
	PC ae C38:3	4,34 $\pm$ 1,65	5,42 $\pm$ 2,41	0,208
	PC ae C38:4	9,06 $\pm$ 1,49	9,97 $\pm$ 2,70	0,401
	PC ae C38:5	9,82 $\pm$ 1,76	10,61 $\pm$ 3,16	0,575
	PC ae C38:6	3,90 $\pm$ 0,78	4,52 $\pm$ 1,69	0,779
	PC ae C40:1	0,59 $\pm$ 0,16	0,72 $\pm$ 0,19	0,263
	PC ae C40:2	1,16 $\pm$ 0,30	1,32 $\pm$ 0,46	0,575
	PC ae C40:3	1,01 $\pm$ 0,22	1,24 $\pm$ 0,41	0,161
	PC ae C40:4	1,65 $\pm$ 0,23	1,82 $\pm$ 0,47	0,401
	PC ae C40:5	2,55 $\pm$ 0,41	2,75 $\pm$ 0,69	0,575
	PC ae C40:6	2,85 $\pm$ 0,78	3,28 $\pm$ 1,16	0,484
	PC ae C42:0	0,65 $\pm$ 0,06	0,71 $\pm$ 0,08	0,161
	PC ae C42:1	0,31 $\pm$ 0,06	0,32 $\pm$ 0,05	0,401
	PC ae C42:2	0,38 $\pm$ 0,12	0,44 $\pm$ 0,12	0,327

PC = fosfatidilcolina; aa = ligação diacil; ae = ligação acil-alquil; p = valor de significância usando o teste Wilcoxon.

Tabela 5 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos pacientes CCL que converteram para DA (conclusão).

Classe	Metabólito	T0	T1	p
Fosfolípides	PC ae C42:3	0,52 $\pm$ 0,12	0,64 $\pm$ 0,19	0,176
	PC ae C42:4	0,56 $\pm$ 0,13	0,62 $\pm$ 0,19	0,779
	PC ae C42:5	1,28 $\pm$ 0,14	1,37 $\pm$ 0,28	0,575
	PC ae C44:3	0,09 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,02	0,575
	PC ae C44:4	0,23 $\pm$ 0,06	0,24 $\pm$ 0,06	0,674
	PC ae C44:5	0,99 $\pm$ 0,25	0,96 $\pm$ 0,23	0,889
	PC ae C44:6	0,92 $\pm$ 0,14	0,91 $\pm$ 0,26	0,889
Esfingomielinas	SM (OH) C14:1	11,56 $\pm$ 3,42	11,76 $\pm$ 4,19	0,779
	SM (OH) C16:1	7,31 $\pm$ 1,82	8,19 $\pm$ 2,12	0,327
	SM (OH) C22:1	63,57 $\pm$ 12,68	68,49 $\pm$ 17,22	0,779
	SM (OH) C22:2	61,17 $\pm$ 14,08	69,67 $\pm$ 20,67	0,401
	SM (OH) C24:1	3,65 $\pm$ 0,78	3,43 $\pm$ 0,89	0,575
	SM C16:0	213,25 $\pm$ 47,06	221,50 $\pm$ 42,56	0,779
	SM C16:1	31,38 $\pm$ 6,83	32,49 $\pm$ 7,09	0,779
	SM C18:0	48,31 $\pm$ 15,99	57,00 $\pm$ 11,29	0,263
	SM C18:1	23,06 $\pm$ 7,04	29,24 $\pm$ 5,66	0,123
	SM C20:2	1,27 $\pm$ 0,34	1,67 $\pm$ 0,49	0,123
	SM C24:0	55,85 $\pm$ 11,86	56,70 $\pm$ 11,22	0,779
	SM C24:1	231,12 $\pm$ 58,93	232,37 $\pm$ 59,78	0,944
	SM C26:0	0,46 $\pm$ 0,12	0,51 $\pm$ 0,13	0,208
	SM C26:1	0,88 $\pm$ 0,14	0,81 $\pm$ 0,20	0,674
Hexose	H1	8303,57 $\pm$ 2527,43	8200,20 $\pm$ 2619,73	0,500

PC = fosfatidilcolina; ae = ligação acil-alquil; SM = esfingomielinas; p = valor de significância usando o teste Wilcoxon.

Apêndice G. Dados referentes à concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos pacientes CCL conversores e não conversores para DA.

Tabela 6 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos pacientes CCL conversores e não conversores para DA (continua).

Classe	Metabólito	CCL conversores	CCL não conversores	p
Acilcarnitinas	C0	19,82 $\pm$ 9,41	21,26 $\pm$ 13,36	0,939
	C10	0,65 $\pm$ 0,64	0,44 $\pm$ 0,17	0,589
	C10:1	0,45 $\pm$ 0,16	0,38 $\pm$ 0,08	0,643
	C10:2	0,32 $\pm$ 0,04	0,29 $\pm$ 0,07	0,165
	C12	0,16 $\pm$ 0,08	0,12 $\pm$ 0,06	0,217
	C12-DC	0,04 $\pm$ 0,03	0,05 $\pm$ 0,03	0,727
	C12:1	0,33 $\pm$ 0,15	0,34 $\pm$ 0,09	0,643
	C14	0,09 $\pm$ 0,04	0,10 $\pm$ 0,06	1,000
	C14:1	0,09 $\pm$ 0,05	0,08 $\pm$ 0,04	0,335
	C14:1-OH	0,02 $\pm$ 0,03	0,02 $\pm$ 0,02	0,459
	C14:2	1,54 $\pm$ 0,26	1,47 $\pm$ 0,19	0,487
	C14:2-OH	0,02 $\pm$ 0,03	0,03 $\pm$ 0,03	0,434
	C16	0,14 $\pm$ 0,04	0,20 $\pm$ 0,07	0,045
	C16-OH	0,02 $\pm$ 0,03	0,03 $\pm$ 0,02	0,592
	C16:1	0,04 $\pm$ 0,05	0,04 $\pm$ 0,03	1,000
	C16:1-OH	0,03 $\pm$ 0,04	0,04 $\pm$ 0,03	0,536
	C16:2	0,02 $\pm$ 0,03	0,03 $\pm$ 0,04	0,433
	C16:2-OH	0,02 $\pm$ 0,03	0,02 $\pm$ 0,03	0,856
	C18	0,06 $\pm$ 0,04	0,08 $\pm$ 0,03	0,589
	C18:1	0,10 $\pm$ 0,03	0,09 $\pm$ 0,04	0,563
	C18:1-OH	0,04 $\pm$ 0,02	0,03 $\pm$ 0,02	0,816
	C18:2	0,05 $\pm$ 0,03	0,05 $\pm$ 0,03	0,938
	C2	11,17 $\pm$ 4,61	10,45 $\pm$ 3,08	0,700
	C3	0,33 $\pm$ 0,09	0,25 $\pm$ 0,11	0,217
	C3-OH	0,09 $\pm$ 0,05	0,06 $\pm$ 0,05	0,228

C0 = Carnitina; C10 = Decanoilcarnitina; C10:1 = Decenoilcarnitina; C10:2 = Decadienilcarnitina; C12 = Dodecanoilcarnitina; C12-DC = Dodecanedioilcarnitina; C12:1 = Dodecenoilcarnitina; C14 = Tetradecanoilcarnitina; C14:1 = Tetradecenoilcarnitina; C14:1-OH = Hidroxitetradecenoilcarnitina; C14:2 = Tetradecadienilcarnitina; C14:2-OH = Hidroxitetradecadienilcarnitina; C16 = Hexadecanoilcarnitina; C16-OH = Hidroxihexadecanoilcarnitina; C16:1 = Hexadecenoilcarnitina; C16:1-OH = Hidroxihexadecenoilcarnitina; C16:2 = Hexadecadienilcarnitina; C16:2-OH = Hidroxihexadecadienilcarnitina; C18 = Octadecanoilcarnitina; C18:1 = Octadecenoilcarnitina; C18:1-OH = Hidroxioctadecenoilcarnitina; C18:2 = Octadecadienilcarnitina; C2 = Acetilcarnitina; C3 = Propionilcarnitina; C3-OH = Hidroxipropionilcarnitina; p = valor de significância usando o teste Mann-Whitney U.

Tabela 6 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos pacientes CCL conversores e não conversores para DA (continuação).

Classe	Metabólito	CCL conversores	CCL não conversores	p
Acilcarnitinas	C3:1	0,08 $\pm$ 0,07	0,05 $\pm$ 0,05	0,506
	C4	0,34 $\pm$ 0,22	0,28 $\pm$ 0,06	0,589
	C3-DC (C4-OH)	0,34 $\pm$ 0,17	0,26 $\pm$ 0,10	0,280
	C4:1	0,36 $\pm$ 0,12	0,29 $\pm$ 0,06	0,280
	C5	0,33 $\pm$ 0,09	0,31 $\pm$ 0,07	1,000
	C5-M-DC	0,18 $\pm$ 0,05	0,14 $\pm$ 0,03	0,037
	C5-OH (C3-DC-M)	0,08 $\pm$ 0,04	0,08 $\pm$ 0,06	0,510
	C5:1	0,12 $\pm$ 0,06	0,14 $\pm$ 0,04	0,537
	C5:1-DC	0,04 $\pm$ 0,05	0,03 $\pm$ 0,03	0,577
	C6 (C4:1-DC)	0,11 $\pm$ 0,12	0,10 $\pm$ 0,04	0,463
	C5-DC (C6-OH)	0,12 $\pm$ 0,12	0,08 $\pm$ 0,07	0,463
	C6:1	0,05 $\pm$ 0,05	0,09 $\pm$ 0,04	0,129
	C7-DC	0,01 $\pm$ 0,01	0,01 $\pm$ 0,01	0,576
	C8	0,10 $\pm$ 0,12	0,06 $\pm$ 0,02	0,189
	C9	0,09 $\pm$ 0,08	0,08 $\pm$ 0,12	0,373
Lisofosfolípides	LPC a C14:0	4,41 $\pm$ 0,73	4,12 $\pm$ 0,75	0,463
	LPC a C16:0	124,69 $\pm$ 26,28	106,03 $\pm$ 25,69	0,082
	LPC a C16:1	3,39 $\pm$ 1,27	3,07 $\pm$ 1,16	0,396
	LPC a C17:0	2,92 $\pm$ 0,75	2,13 $\pm$ 0,65	0,037
	LPC a C18:0	42,66 $\pm$ 10,65	32,22 $\pm$ 11,75	0,054
	LPC a C18:1	24,67 $\pm$ 7,94	20,36 $\pm$ 5,46	0,280
	LPC a C18:2	43,94 $\pm$ 14,21	38,36 $\pm$ 13,66	0,354
	LPC a C20:3	3,82 $\pm$ 1,47	3,35 $\pm$ 1,36	0,396
	LPC a C20:4	11,12 $\pm$ 3,85	9,49 $\pm$ 2,35	0,396
	LPC a C24:0	0,49 $\pm$ 0,10	0,48 $\pm$ 0,24	0,643
	LPC a C26:0	0,66 $\pm$ 0,17	0,82 $\pm$ 0,37	0,190
	LPC a C26:1	0,40 $\pm$ 0,09	0,46 $\pm$ 0,15	0,123
	LPC a C28:0	0,68 $\pm$ 0,14	0,73 $\pm$ 0,27	0,700
	LPC a C28:1	0,70 $\pm$ 0,14	0,72 $\pm$ 0,25	0,758

C3:1 = Propenilcarnitina; C4 = Butirilcarnitina; C4-OH (C3-DC) = Hidroxibutirilcarnitina; C4:1 = Butenilcarnitina; C5 = Valerilcarnitina; C5-M-DC = Metilglutarilcarnitina; C5-OH (C3-DC-M) = Hidroxivalerilcarnitina (Metilmalonilcarnitina); C5:1 = Tigililcarnitina; C5:1-DC = Glutaconilcarnitina; C6 (C4:1-DC) = Hexanoilcarnitina (Fumarilcarnitina); C5-DC (C6-OH) = Glutarilcarnitina (Hidroxihexanoilcarnitina); C6:1 = Hexenoilcarnitina; C7-DC = Pimelilcarnitina; C8 = Octanoilcarnitina; C9 = Nonailcarnitina; LPC = lisofosfatidilcolina; a = ligação acil; p = valor de significância usando o teste Mann-Whitney U.

Tabela 6 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos pacientes CCL conversores e não conversores para DA (continuação).

Classe	Metabólito	CCL conversores	CCL não conversores	p
Fosfolípides	PC aa C24:0	0,18 $\pm$ 0,06	0,23 $\pm$ 0,08	0,190
	PC aa C26:0	1,15 $\pm$ 0,25	1,44 $\pm$ 0,43	0,097
	PC aa C28:1	1,53 $\pm$ 0,50	1,65 $\pm$ 0,49	0,355
	PC aa C30:0	2,13 $\pm$ 1,21	2,14 $\pm$ 1,06	0,877
	PC aa C32:0	7,87 $\pm$ 2,13	8,65 $\pm$ 2,31	0,418
	PC aa C32:1	7,06 $\pm$ 5,22	8,11 $\pm$ 6,75	0,758
	PC aa C32:3	0,29 $\pm$ 0,09	0,32 $\pm$ 0,11	0,355
	PC aa C34:1	133,41 $\pm$ 54,74	142,65 $\pm$ 50,24	0,643
	PC aa C34:2	318,12 $\pm$ 87,77	355,83 $\pm$ 112,38	0,487
	PC aa C34:3	10,33 $\pm$ 4,94	12,07 $\pm$ 5,88	0,512
	PC aa C34:4	1,15 $\pm$ 0,54	1,41 $\pm$ 0,99	0,758
	PC aa C36:0	2,33 $\pm$ 0,58	2,99 $\pm$ 1,01	0,113
	PC aa C36:1	24,77 $\pm$ 9,11	24,24 $\pm$ 9,27	0,908
	PC aa C36:2	171,25 $\pm$ 51,21	168,86 $\pm$ 54,88	0,877
	PC aa C36:3	88,10 $\pm$ 33,59	94,31 $\pm$ 39,77	0,700
	PC aa C36:4	153,75 $\pm$ 29,95	179,27 $\pm$ 71,97	0,463
	PC aa C36:5	9,01 $\pm$ 3,77	11,90 $\pm$ 7,40	0,396
	PC aa C36:6	0,40 $\pm$ 0,21	0,52 $\pm$ 0,33	0,589
	PC aa C38:0	1,75 $\pm$ 0,58	2,13 $\pm$ 0,72	0,280
	PC aa C38:3	33,92 $\pm$ 13,97	33,94 $\pm$ 15,38	0,817
	PC aa C38:4	85,95 $\pm$ 19,40	87,16 $\pm$ 29,04	0,938
	PC aa C38:5	34,07 $\pm$ 8,58	38,12 $\pm$ 13,90	0,512
	PC aa C38:6	44,92 $\pm$ 18,79	56,59 $\pm$ 17,24	0,076
	PC aa C40:1	0,31 $\pm$ 0,05	0,34 $\pm$ 0,06	0,280
	PC aa C40:2	0,20 $\pm$ 0,06	0,23 $\pm$ 0,08	0,512
	PC aa C40:3	0,32 $\pm$ 0,10	0,38 $\pm$ 0,13	0,247
	PC aa C40:4	3,28 $\pm$ 1,04	3,21 $\pm$ 1,29	0,817
	PC aa C40:5	7,67 $\pm$ 2,88	7,72 $\pm$ 2,82	0,758
	PC aa C40:6	18,31 $\pm$ 8,29	20,31 $\pm$ 7,88	0,316
	PC aa C42:0	0,42 $\pm$ 0,08	0,44 $\pm$ 0,07	0,537
	PC aa C42:1	0,22 $\pm$ 0,03	0,25 $\pm$ 0,04	0,054
	PC aa C42:2	0,20 $\pm$ 0,04	0,25 $\pm$ 0,10	0,143
	PC aa C42:4	0,16 $\pm$ 0,03	0,19 $\pm$ 0,05	0,153

PC = fosfatidilcolina; aa = ligação diacil; p = valor de significância usando o teste Mann-Whitney U.

Tabela 6 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos pacientes CCL conversores e não conversores para DA (continuação).

Classe	Metabólito	CCL conversores	CCL não conversores	p
Fosfolípides	PC aa C42:5	0,25 $\pm$ 0,07	0,25 $\pm$ 0,10	0,700
	PC aa C42:6	0,36 $\pm$ 0,08	0,40 $\pm$ 0,14	0,700
	PC ae C30:0	0,31 $\pm$ 0,08	0,32 $\pm$ 0,08	0,643
	PC ae C30:1	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1,000
	PC ae C30:2	0,12 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,05	0,064
	PC ae C32:1	1,10 $\pm$ 0,37	1,24 $\pm$ 0,36	0,440
	PC ae C32:2	0,33 $\pm$ 0,09	0,40 $\pm$ 0,10	0,076
	PC ae C34:0	1,07 $\pm$ 0,37	1,07 $\pm$ 0,28	0,877
	PC ae C34:1	5,18 $\pm$ 2,28	5,13 $\pm$ 1,13	0,758
	PC ae C34:2	6,68 $\pm$ 2,30	7,39 $\pm$ 2,27	0,440
	PC ae C34:3	4,69 $\pm$ 1,34	5,64 $\pm$ 1,84	0,247
	PC ae C36:0	0,56 $\pm$ 0,17	0,64 $\pm$ 0,14	0,190
	PC ae C36:1	8,22 $\pm$ 3,23	7,81 $\pm$ 2,07	0,938
	PC ae C36:2	11,33 $\pm$ 4,02	11,24 $\pm$ 3,66	0,939
	PC ae C36:3	4,43 $\pm$ 1,47	5,01 $\pm$ 1,85	0,537
	PC ae C36:4	9,43 $\pm$ 1,66	11,49 $\pm$ 3,04	0,090
	PC ae C36:5	7,58 $\pm$ 1,39	9,07 $\pm$ 2,68	0,105
	PC ae C38:0	0,94 $\pm$ 0,34	1,15 $\pm$ 0,51	0,280
	PC ae C38:1	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1,000
	PC ae C38:2	0,49 $\pm$ 0,43	0,59 $\pm$ 0,38	0,537
	PC ae C38:3	4,34 $\pm$ 1,65	4,55 $\pm$ 1,73	0,758
	PC ae C38:4	9,06 $\pm$ 1,49	9,79 $\pm$ 2,53	0,333
	PC ae C38:5	9,82 $\pm$ 1,76	11,17 $\pm$ 2,26	0,114
	PC ae C38:6	3,90 $\pm$ 0,78	4,84 $\pm$ 1,39	0,090
	PC ae C40:1	0,59 $\pm$ 0,16	0,74 $\pm$ 0,30	0,217
	PC ae C40:2	1,16 $\pm$ 0,30	1,17 $\pm$ 0,36	0,938
	PC ae C40:3	1,10 $\pm$ 0,22	1,14 $\pm$ 0,25	0,231
	PC ae C40:4	1,65 $\pm$ 0,23	1,74 $\pm$ 0,36	0,316
	PC ae C40:5	2,55 $\pm$ 0,41	2,91 $\pm$ 0,53	0,053
	PC ae C40:6	2,85 $\pm$ 0,78	3,20 $\pm$ 0,89	0,217
	PC ae C42:0	0,65 $\pm$ 0,06	0,70 $\pm$ 0,13	0,463
	PC ae C42:1	0,31 $\pm$ 0,06	0,35 $\pm$ 0,14	0,671
	PC ae C42:2	0,38 $\pm$ 0,11	0,41 $\pm$ 0,14	0,589

PC = fosfatidilcolina; aa = ligação diacil; ae = ligação acil-alquil; p = valor de significância usando o teste Mann-Whitney U.

Tabela 6 - Dados (média $\pm$ desvio padrão) da concentração em nM de todos os metabólitos analisados nos pacientes CCL conversores e não conversores para DA (conclusão).

Classe	Metabólito	CCL conversores	CCL não conversores	p
Fosfolípides	PC ae C42:3	0,52 $\pm$ 0,12	0,60 $\pm$ 0,16	0,247
	PC ae C42:4	0,56 $\pm$ 0,13	0,59 $\pm$ 0,13	0,643
	PC ae C42:5	1,27 $\pm$ 0,14	1,38 $\pm$ 0,17	0,231
	PC ae C44:3	0,09 $\pm$ 0,02	0,11 $\pm$ 0,02	0,164
	PC ae C44:4	0,23 $\pm$ 0,06	0,24 $\pm$ 0,04	0,418
	PC ae C44:5	0,99 $\pm$ 0,25	0,97 $\pm$ 0,14	0,643
	PC ae C44:6	0,92 $\pm$ 0,14	0,92 $\pm$ 0,11	0,969
Esfingomielinas	SM (OH) C14:1	11,56 $\pm$ 3,42	11,24 $\pm$ 2,65	0,847
	SM (OH) C16:1	7,31 $\pm$ 1,82	7,22 $\pm$ 1,44	0,247
	SM (OH) C22:1	63,57 $\pm$ 12,68	61,52 $\pm$ 22,21	0,643
	SM (OH) C22:2	61,17 $\pm$ 14,08	61,81 $\pm$ 17,01	0,938
	SM (OH) C24:1	3,65 $\pm$ 0,78	3,30 $\pm$ 1,09	0,418
	SM C16:0	213,25 $\pm$ 47,06	228,67 $\pm$ 46,28	0,589
	SM C16:1	31,39 $\pm$ 6,82	34,85 $\pm$ 7,60	0,343
	SM C18:0	48,31 $\pm$ 15,99	50,46 $\pm$ 16,51	0,624
	SM C18:1	23,06 $\pm$ 7,04	26,32 $\pm$ 7,04	0,343
	SM C20:2	1,27 $\pm$ 0,34	1,42 $\pm$ 0,64	0,969
	SM C24:0	55,85 $\pm$ 11,6	52,57 $\pm$ 16,08	0,758
	SM C24:1	231,12 $\pm$ 58,93	230,50 $\pm$ 58,20	0,939
	SM C26:0	0,46 $\pm$ 0,12	0,51 $\pm$ 0,18	0,589
	SM C26:1	0,88 $\pm$ 0,14	0,74 $\pm$ 0,22	0,181
Hexose	H1	8303,57 $\pm$ 2527,43	12981,40 $\pm$ 7181,34	0,109

PC = fosfatidilcolina; ae = ligação acil-alquil; SM = esfingomielinas; p = valor de significância usando o teste Mann-Whitney U.