MAURÍCIO HENRIQUES SERPA

**Avaliação longitudinal de alterações microestruturais
cerebrais estado-dependentes em indivíduos com primeiro
episódio psicótico, associadas à atividade da enzima
fosfolipase A2**

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

Programa de: Psiquiatria

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho

São Paulo

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Serpa, Mauricio Henriques

Avaliação longitudinal de alterações microestruturais cerebrais estado-dependentes em indivíduos com primeiro episódio psicótico, associadas à atividade da enzima fosfolipase A2 / Mauricio Henriques Serpa. -- São Paulo, 2016.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Psiquiatria.

Orientador: Geraldo Busatto Filho.

Descritores: 1.Transtornos psicóticos 2.Esquizofrenia 3.Espectro da esquizofrenia e outros transtornos psicóticos 4.Imagem por ressonância magnética 5.Imagem de difusão por ressonância magnética 6.Substância branca 7.Estudos longitudinais 8.Encéfalo 9.Fosfolípidos 10.Fosfolípases A2 11.Primeiro episódio psicótico

USP/FM/DBD-459/16

DEDICATÓRIA

A Fernanda, minha amada companheira, que sempre está ao meu lado.

Aos meus pais, Paulo e Vera, que sempre estimularam minha curiosidade pelo
mundo natural e do homem.

AGRADECIMENTOS

Este projeto só foi possível graças ao apoio e colaboração de muitas pessoas e instituições:

Ao Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho, por todos os incentivos, oportunidades e orientações, essenciais ao desenvolvimento deste projeto e à minha formação como psiquiatra e pesquisador, assim como por sua amizade e sabedoria, que me ajudaram em momentos de dificuldade.

Ao Dr. Marcus Vinícius Zanetti, também por sua fundamental orientação, apoio, oportunidades e amizade, também essenciais à minha formação como pesquisador e psiquiatra, e sem o qual este projeto não poderia existir.

A minha companheira Fernanda, por ser sempre tão alegre, carinhosa e companheira, me incentivando em todos os momentos.

A minha mãe, Vera, por todo seu amor, preocupação e dedicação, assim como por seu apoio em momentos difíceis e orientações sobre o mundo acadêmico.

A meu pai, Paulo, por todo amor e incentivo, especialmente nos momentos difíceis.

A minhas irmãs, por toda amor, amizade e carinho.

A Hélio, companheiro de minha mãe, por todo o amor e por suas orientações nesta etapa de minha vida.

A Maria Ignez, minha segunda mãe, por todo amor e cuidados carinhosos desde minha infância.

À Dra. Tiffany Moukbel Chaim-Avancini, por todo o apoio e colaboração no angariamento de sujeitos saudáveis.

Ao Prof. Dr. Wagner Farid Gattaz e à equipe do Laboratório de Neurociências (LIM-27), em especial a Leda Talib e Helena Giroud, pela colaboração, análise de dados bioquímicos e orientações sobre a área.

Ao Dr. Martinus van der Bilt e aos colegas do Grupo de Psicoses do LIM-27, pelo apoio na captação e seguimento de pacientes.

Ao Dr. Paulo Clemente Sallet, pelo auxílio no arrolamento, avaliação e seguimento dos pacientes.

Aos membros da banca de Exame de Qualificação, Prof. Dr. Helio Elkis, Profa. Dra. Sheila Cavalcante Caetano e Dr. Alexandre Andrade Loch, pelos excelentes comentários e sugestões, que auxiliaram no desenvolvimento final deste projeto.

Aos amigos do Laboratório de Neuroimagem (LIM-21), por todo o apoio e auxílio nas mais diversas etapas deste projeto, em especial a Fábio Luís de Souza Duran, Paula Squarzoni e Luciana Cristina Santos.

Ao Prof. Dr. Marcel Jacowski e ao Dr. Fabrício Pereira, pelo auxílio na concepção da metodologia em neuroimagem e pela orientação em questões técnicas de DTI e tecnologia da informação.

Ao Prof. Dr. Christos Davatzikos e a toda a equipe do *Section of Bioimaging Analysis, University of Pennsylvania*, EUA, em especial a Jimit Doshi e Erus Guray, por toda a colaboração, apoio e ensinamentos quanto ao processamento e análise das imagens.

Aos profissionais do Serviço de Ressonância Magnética do Instituto de Psiquiatria, pelo auxílio na aquisição de imagens.

Aos pacientes e seus familiares, assim como aos voluntários saudáveis, por aceitarem participar deste projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por me conceder auxílio financeiro para o desenvolvimento da minha tese através da bolsa de doutorado.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pelos financiamentos que propiciaram a realização dos projetos de pesquisa dos quais a presente tese se originou.

A Eliza Fukushima e Isabel Ataíde, por toda apoio e orientações durante o decorrer do meu doutorado.

À Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e ao seu Instituto de Psiquiatria, por toda a estrutura física e de pessoal necessárias ao meu desenvolvimento acadêmico e profissional desde a época do curso médico.

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

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

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

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

SUMÁRIO

Lista de figuras.....	xii
Lista de tabelas.....	xiii
Lista de abreviaturas.....	xiv
Resumo.....	xvi
Abstract.....	xviii
1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1. EPIDEMIOLOGIA DOS TRANSTORNOS PSICÓTICOS: PREVALÊNCIA E IMPACTOS.....	01
1.2. ACHADOS DE ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS CEREBRAIS <i>IN VIVO</i> EM TRANSTORNOS PSICÓTICOS USANDO RESSONANCIA MAGNÉTICA.....	02
1.2.1. ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS DE SUBSTÂNCIA CINZENTA.....	02
1.2.2. ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS DE SUBSTÂNCIA BRANCA.....	04
1.2.3. EVIDÊNCIAS DE ALTERAÇÕES CEREBRAIS DINÂMICAS, ESTADO- DEPENDENTES, EM TRANSTORNOS PSICÓTICOS.....	05
1.3. IMAGEM POR TENSOR DE DIFUSÃO NOS TRANSTORNOS PSICÓTICOS.....	06
1.3.1. MÉTODOS DE ANÁLISE EM DTI.....	09
1.3.2. ALTERAÇÕES MICROESTRUTURAIS DE SUBSTÂNCIA BRANCA NOS TRANSTORNOS PSICÓTICOS.....	10
1.3.3. LIMITAÇÕES DE ESTUDOS PRÉVIOS.....	12
1.3.4. ESTUDOS DE PACIENTES EM PRIMEIRO EPISÓDIO PSICÓTICO SEM USO PRÉVIO DE PSICOTRÓPICOS.....	12

1.3.5. ESTUDOS LONGITUDINAIS DE DTI E A INVESTIGAÇÃO DE ALTERAÇÕES ESTADO-DEPENDENTES EM PACIENTES EM PRIMEIRO EPISÓDIO PSICÓTICO.....	13
1.4. O POTENCIAL PAPEL DA ENZIMA FOSFOLIPASE A2 (PLA2) NOS TRANSTORNOS PSICÓTICOS.....	15
1.4.1. OS FOSFOLÍPEDES DE MEMBRANA CELULAR E SUA CATÁLISE PELA PLA2.....	15
1.4.2. O METABOLISMO DOS FOSFOLÍPEDES DE MEMBRANA EM PACIENTES COM ESQUIZOFRENIA.....	16
1.4.3. ESTUDOS PRÉVIOS DA ATIVIDADE DE PLA2 EM PACIENTES COM ESQUIZOFRENIA.....	17
1.4.4. ALTERAÇÕES ESTADO-DEPENDENTES DE PLA2 E DE MICROESTRUTURA DE SUBSTÂNCIA BRANCA.....	20
2. OBJETIVOS E HIPÓTESES.....	21
3. MÉTODOS.....	23
3.1. PARTICIPANTES.....	23
3.1.1. RECRUTAMENTO E DIVULGAÇÃO.....	23
3.1.2. TRIAGEM.....	23
3.1.3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	24
3.1.4. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	24
3.2. INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO CLÍNICA.....	25
3.3. DESENHO DO ESTUDO.....	25
3.4. ANÁLISES DE MICROESTRUTURA DE SUBSTÂNCIA BRANCA POR IMAGENS CEREBRAIS.....	28

3.4.1. SESSÃO DE COLETA E PARÂMETROS DE AQUISIÇÃO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA.....	28
3.4.2. PRÉ-PROCESSAMENTO DE IMAGENS PONDERADAS EM DIFUSÃO.....	29
3.4.3. EXTRAÇÃO DOS MAPAS DE DTI.....	29
3.5. ANÁLISES DA ATIVIDADE DE PLA2 EM PLAQUETAS.....	30
3.5.1. COLETA E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS DE SANGUE.....	30
3.5.2. DOSAGEM DA ATIVIDADE DE PLA2.....	31
3.6. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	33
3.7. ASPECTOS ÉTICOS.....	34
4. RESULTADOS.....	36
4.1. DESCRIÇÃO DA AMOSTRA: DADOS DEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS.....	36
4.2. ANÁLISES ESTATÍSTICAS NO <i>BASELINE</i>	40
4.2.1. ANÁLISES DE DTI VOXEL-A-VOXEL.....	40
4.2.1.1. <i>COMPARAÇÕES ENTRE OS GRUPOS: PACIENTES VS.</i> <i>CONTROLES</i>	40
4.2.1.2. <i>CORRELAÇÕES ENTRE VARIÁVEIS CLÍNICAS E ÍNDICES DE DTI</i> <i>PARA O GRUPO DE PACIENTES</i>	44
4.2.2. ANÁLISES DA ATIVIDADE DE PLA2: COMPARAÇÕES ENTRE OS GRUPOS.....	47
4.2.3. CORRELAÇÕES ENTRE ÍNDICES DE DTI E ATIVIDADE DE PLA2 PARA O GRUPO DE PACIENTES.....	48
4.3. ANÁLISES ESTATÍSTICAS LONGITUDINAIS.....	49
4.3.1. ANÁLISES DE DTI VOXEL-A-VOXEL.....	49

4.3.1.1.	<i>COMPARAÇÕES ENTRE OS GRUPOS: PACIENTES VS.</i>	
	<i>CONTROLE.....</i>	<i>49</i>
4.3.1.2.	<i>CORRELAÇÕES ENTRE VARIÁVEIS CLÍNICAS E ÍNDICES DE DTI</i>	
	<i>PARA O GRUPO DE PACIENTES.....</i>	<i>52</i>
4.3.2.	ANÁLISES DA ATIVIDADE DE PLA2: COMPARAÇÕES ENTRE OS	
	GRUPOS.....	64
4.3.3.	CORRELAÇÕES ENTRE AS TAXAS DE MUDANÇAS LONGITUDINAIS	
	DOS ÍNDICES DE DTI E DE ATIVIDADE DE PLA2.....	66
5.	DISCUSSÃO.....	67
5.1.	MUDANÇAS DA MICROESTRUTURA DE SUBSTÂNCIA BRANCA CEREBRAL EM	
	DIFERENTES FASES DAS PSICOSES NÃO-AFETIVAS.....	68
5.1.1.	CONTEXTUALIZAÇÃO DOS ACHADOS DE FASE AGUDA COM	
	RESULTADOS DE ESTUDOS PRÉVIOS.....	68
5.1.2.	CONTEXTUALIZAÇÃO DOS ACHADOS LONGITUDINAIS COM	
	RESULTADOS DE ESTUDOS PRÉVIOS.....	69
5.1.3.	DIFERENÇA DE SENSIBILIDADE ENTRE OS ÍNDICES DE ANISOTROPIA E	
	DE DIFUSIVIDADE.....	72
5.1.4.	IMPLICAÇÕES NEUROBIOLÓGICAS.....	73
5.1.5.	CONSIDERAÇÕES SOBRE ALTERAÇÕES ESTADO-DEPENDENTES EM	
	FACE DAS EVIDÊNCIAS DE PROGRESSÃO DE ANORMALIDADES	
	CEREBRAIS NAS PSICOSES.....	74
5.2.	ANORMALIDADES NA ATIVIDADE DE PLA2 EM DIFERENTES FASES DE	
	PSICOSES NÃO-AFETIVAS.....	75

5.2.1. CONTEXTUALIZAÇÃO DOS ACHADOS DE FASE AGUDA COM RESULTADOS DE ESTUDOS PRÉVIOS.....	75
5.2.2. CONTEXTUALIZAÇÃO DOS ACHADOS LONGITUDINAIS COM RESULTADOS DE ESTUDOS PRÉVIOS.....	77
5.3. CORRELAÇÕES ENTRE METABOLISMO DE FOSFOLÍPEDES E MICROESTRUTURA DE SUBSTÂNCIA BRANCA.....	78
5.4. LIMITAÇÕES DO PRESENTE ESTUDO.....	79
6. CONCLUSÕES.....	82
7. REFERÊNCIAS.....	83

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação gráfica tridimensional de um tensor de difusão.....	07
Figura 2. Desenho do estudo: fluxograma de seguimento e avaliação de pacientes PEP.....	27
Figura 3. Comparação entre os grupos de PEP e de CS dos mapas de FA no <i>baseline</i> (T0).....	40
Figura 4. Diagrama em <i>box-plot</i> dos níveis de atividade de PLA2 dos sujeitos PEP e CS no <i>baseline</i> (T0).....	48
Figura 5. Comparação longitudinal entre os grupos de PEP e de CS dos mapas de FA.....	50
Figura 6. Correlações entre as taxas de mudanças longitudinais dos escores totais da PANSS e de FA para o grupo de pacientes.....	52
Figura 7. Diagrama em <i>box-plot</i> da taxa de mudança longitudinal da atividade de PLA2 dos sujeitos PEP e CS.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Informações demográficas e clínicas para pacientes de primeiro episódio psicótico (PEP) e controles saudáveis (CS).....	38
Tabela 2. Comparação entre grupos de PEP e de CS dos mapas de FA e TR no <i>baseline</i> (T0).....	42
Tabela 3. Correlações entre variáveis clínicas e índices de DTI no <i>baseline</i> (T0) para o grupo de pacientes com PEP.....	45
Tabela 4. Comparações entre os grupos de PEP e de CS da atividade de PLA2 no <i>baseline</i> (T0).....	47
Tabela 5. Correlações entre os índices de DTI e a atividade de PLA2 no <i>baseline</i> (T0) para o grupo de pacientes com PEP.....	49
Tabela 6. Comparação entre os grupos de PEP e de CS dos mapas de taxas de mudanças longitudinais de FA e TR.....	51
Tabela 7. Correlações entre as taxas de mudanças longitudinais das variáveis clínicas e dos índices de DTI para o grupo de pacientes com PEP.....	54
Tabela 8. Correlações entre variáveis clínicas no seguimento e taxas de mudanças longitudinais dos índices de DTI para o grupo de pacientes com PEP.....	62
Tabela 9. Comparações entre os grupos de PEP e de CS das taxas de mudanças longitudinais da atividade de PLA2.....	64
Tabela 10. Correlações entre as taxas de mudanças longitudinais dos índices de DTI e de atividade de PLA2 para o grupo de pacientes com PEP.....	66

LISTA DE ABREVIATURAS

- AD:** difusividade axial (*axial diffusivity*)
- AP:** antipsicóticos
- AUDIT:** *Alcohol Use Disorders Identification Test*
- BSA:** albumina de soro bovino (*bovine serum albumin*)
- CAPPesq:** Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMUSP
- CC:** corpo caloso
- CCA:** córtex do cíngulo anterior
- CPF:** córtex pré-frontal
- cPLA2:** PLA2 intracelular cálcio-dependente
- CPM:** contagens por minuto
- CS:** controle saudável
- DSM-IV:** *Diagnostic and Statistical Manual for Mental Disorders*
- DTI:** imagem por tensor de difusão (*diffusion tensor imaging*)
- DUP:** duração de psicose não tratada (*duration of untreated psychosis*)
- DWI:** imagem ponderada em difusão (*diffusion weighted imaging*)
- EPI:** *echo-planar image*
- FA:** anisotropia fracionada (*fractional anisotropy*)
- FDR:** *false discovery rate*
- FFOI:** fascículo fronto-occipital inferior
- FLAIR:** *fluid attenuated inversion recovery*
- FLI:** fascículo longitudinal inferior
- FLS:** fascículo longitudinal superior
- FMUSP:** Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
- FU:** fascículo uncinado
- FWHM:** largura total pela metade do máximo (*full-width at half-maximum*)
- GLM:** Modelo Linear Geral (*General Linear Model*)
- GSK:** enzima glicogênio sintase quinase-3 (*glycogen synthase kinase-3*)
- IPAP:** *The International Psychopharmacology Algorithm Project*
- iPLA2:** PLA2 intracelular cálcio-independente
- HCFMUSP:** Hospital das Clínicas da FMUSP

IPq/HCFMUSP: Instituto de Psiquiatria do HCFMUSP

LIM-21: Laboratório de Neuroimagem e Psiquiatria da FMUSP

LIM-27: Laboratório de Neurociências da FMUSP

MD: difusividade média (*mean diffusivity*)

MPRAGE: *Magnetization-Prepared Rapid Gradient Echo Sequence*

OMS: Organização Mundial da Saúde

PANSS: *Positive and Negative Syndrome Scale*

PEP: primeiro episódio psicótico

PDE: fosforodiestéres

PKA: proteína quinase A (*protein kinase A*)

PLA2: fosfolipase A2 (*phospholipase A2*)

PME: fosforomonoésteres

PRP: plasma rico em plaquetas

RD: difusividade radial (*radial diffusivity*)

RM: ressonância magnética

ROI: região de interesse (*region-of-interest*)

RTA: radiação talâmica anterior

SACI: segmento anterior da cápsula interna

SB: substância branca

SC: substância cinzenta

SCID: *Structured Clinical Interview for DSM-IV*

sPLA2: PLA2 extracelular cálcio-dependente

SNP: *single nucleotide polymorphism*

TBSS: *Tract-Based Spatial Statistics*

TR: *trace*

T0: avaliação inicial (*baseline*)

T1: avaliação no seguimento (*follow-up*)

VBA: análise baseada em voxel (*voxel-based analysis*)

RESUMO

Serpa MH. *Avaliação longitudinal de alterações microestruturais cerebrais estado-dependentes em indivíduos com primeiro episódio psicótico, associadas à atividade da enzima fosfolipase A2* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2016.

INTRODUÇÃO: Os transtornos mentais psicóticos são condições frequentes na população geral e estão associados a grande morbidade e disfuncionalidade. Apesar disso, as bases fisiopatológicas destes transtornos ainda estão em investigação. Estudos neuropatológicos *post-mortem* e de neuroimagem *in vivo* sugerem haver comprometimento da microestrutura de substância branca (SB) cerebral nestas condições clínicas, associado a alterações da conectividade cerebral. No entanto, nenhuma investigação prévia de neuroimagem avaliou especificamente se tais anormalidades microestruturais podem ser dependentes do estado clínico do paciente, i.e., se tais alterações podem variar de acordo com a fase da doença. Outra linha de investigação biológica em psicoses aponta para alterações na atividade da fosfolipase A2 (PLA2), uma enzima essencial a diversas funções na homeostase cerebral, incluindo manutenção de membrana celular, mielinização e atividade inflamatória. Estudos prévios sugerem haver relação entre alterações na atividade desta enzima e as fases da esquizofrenia. Entretanto, não há estudos translacionais que tenham avaliado como tais alterações se relacionam com anormalidades microestruturais de SB em pacientes psicóticos. **OBJETIVOS:** Investigar a hipótese de que alterações de microestrutura de SB presentes em pacientes em fase aguda do primeiro episódio psicótico (PEP) sejam potencialmente reversíveis após estabilização clínica; investigar também possíveis alterações estado-dependentes da atividade de PLA2 no PEP; e examinar interações entre manifestações clínicas, microestrutura de SB cerebral e atividade de PLA2 na fisiopatologia do PEP. **METODOLOGIA:** Pacientes em PEP não afetivo foram avaliados em dois períodos no tempo: durante a fase aguda da doença (T0); após remissão estável de sintomas (T1). Um grupo controle de voluntários saudáveis (CS) também foi avaliado longitudinalmente. Para investigar alterações de microestrutura de SB estado-dependentes, análises voxel-a-voxel de mapas cerebrais de índices de anisotropia (*fractional anisotropy*, FA) e difusividade (*trace*, TR) foram conduzidas, assim como o cálculo de correlações entre tais índices de DTI, variáveis clínicas e atividade de PLA2. A atividade dos três principais subgrupos de PLA2 em plaquetas foi estimada através de um método radioenzimático. **RESULTADOS:** 25 pacientes PEP e 51 CS foram avaliados em T0, com coleta de dados clínico-demográficos, ressonância magnética (RM) e amostra de sangue. Destes, 21 PEP e 36 CS realizaram a segunda aquisição de RM. No *baseline* (T0), os pacientes PEP apresentaram redução difusa de FA ($p < 0,05$, FDR), afetando principalmente SB fronto-límbica e fascículos associativos, projetivos e comissurais. As análises longitudinais demonstraram que a remissão clínica se associou a aumentos de FA em tratos de SB acometidos em T0 ($p < 0,001$, não corrigido), além de robustas correlações inversas entre aumentos de FA e redução sintomas ao longo do tempo ($p < 0,05$, FDR). As análises de PLA2 não demonstraram efeitos estado-dependentes ou correlações consistentes com os índices de DTI. **CONCLUSÃO:** Alterações da microestrutura de SB afetando tratos cerebrais essenciais para a integração de informação perceptual, cognição e emoções

são detectáveis logo após o início do PEP e podem ser parcialmente revertidas em relação direta com a remissão de sintomas psicóticos agudos. Nossos achados reforçam a visão de que anormalidades de SB de tratos cerebrais são um componente neurobiológico central nos transtornos psicóticos agudos, e que a recuperação de tal patologia de SB pode levar à melhora clínica. Por outro lado, a atividade de PLA2 não parece ter associação direta com o estado de doença ou moderar as alterações microestruturais dinâmicas de SB aqui observadas. Estudos com amostras maiores e com um maior número de avaliações ao longo do tempo são necessários para confirmar e ampliar os resultados aqui apresentados.

Descritores: transtornos psicóticos; esquizofrenia; espectro da esquizofrenia e outros transtornos psicóticos; imagem por ressonância magnética; imagem de difusão por ressonância magnética; substância branca; estudos longitudinais; encéfalo; fosfolipídeos; fosfolipases A2; primeiro episódio psicótico.

ABSTRACT

Serpa MH. *Longitudinal evaluation of state-dependent microstructural brain abnormalities in first-episode psychosis patients, associated to the activity of phospholipase a2 enzyme* [Thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo”; 2016.

INTRODUCTION: Psychotic disorders are frequent conditions in the general population and are associated to severe morbidity and functional impairment. Notwithstanding, the pathophysiological basis of such disorders is still under investigation. *Post-mortem* neuropathologic investigations and *in vivo* neuroimaging studies have pointed to the occurrence of abnormalities in the microstructure of brain white matter (WM) in such clinical conditions, which are associated to changes in brain connectivity. However, no previous neuroimaging investigation has specifically examined whether such microstructural abnormalities would be state-dependent, i.e., whether such changes could relate to the illness phase. Another field of biological investigation in psychosis points to changes in the activity of phospholipase A2 enzyme (PLA2), which is essential to several functions implicated in brain homeostasis, such as the maintenance of cellular membrane, myelination and inflammatory activity. Previous studies suggest the existence of a relationship between changes on PLA2 activity and schizophrenia phase. Nonetheless, no translational study to date has examined the potential interplay between PLA2 activity and WM microstructural abnormalities in psychotic patients. **OBJECTIVES:** To investigate the hypothesis that WM microstructural changes observed in patients during the acute first-episode psychosis (FEP) are potentially reversible following clinical remission; to investigate possible state-dependent changes in PLA2 activity in FEP; and to examine interactions between clinical manifestations, brain WM microstructure and PLA2 activity in the pathophysiology of FEP. **METODOLOGY:** Patients with non-affective FEP were evaluated in two time points: during the acute phase (T0) and following sustained remission (T1). A control group of healthy volunteers (HC) was also longitudinally studied. In order to investigate state-dependent WM microstructure changes, voxelwise analyses of brain maps of anisotropy (fractional anisotropy, FA) and diffusivity (trace, TR) indexes were conducted, as well as correlations between such DTI metrics, clinical variables and PLA2 activity. The activity of the three main PLA2 subgroups was assessed in platelets using a radioenzymatic method. **RESULTS:** 25 FEP and 51 HC were evaluated at T0 (clinical and demographic data, MRI scanning, and blood collection). Out of these, 21 FEP and 36 HC also underwent a second MRI acquisition. At baseline (T0), FEP patients presented widespread reduction of FA ($p < 0.05$, FDR), affecting mainly fronto-limbic WM and associative, projective and commissural fasciculi. Longitudinal analyses showed that clinical remission was associated with FA increase in WM tracts that were affected at T0 ($p < 0.001$, uncorrected), besides robust inverse correlations between FA increase and symptoms reduction over time ($p < 0.05$, FDR). PLA2 analyses failed to show state-dependent effects or consistent correlations to DTI indexes. **CONCLUSION:** WM changes affecting brain tracts critical to the integration of perceptual information, cognition and emotions are detectable soon after the onset of FEP and may partially reverse in direct relation to the remission of acute psychotic symptoms. Our findings reinforce the view that WM

abnormalities are a key neurobiological feature of acute psychotic disorders, and that recovery from such WM pathology can lead to amelioration of symptoms. In the other hand, it seems that PLA2 activity has no direct relationship to the disease state or modulatory effects on the dynamic WM changes observed herein. Studies with larger samples and with more time points evaluations are necessary to confirm and expand the findings reported herein.

Descriptors: psychotic disorders; schizophrenia; schizophrenia spectrum and other psychotic disorders; magnetic resonance imaging; diffusion magnetic resonance imaging; white matter; longitudinal studies; brain; phospholipids; phospholipase A2; first-episode psychosis.

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – EPIDEMIOLOGIA DOS TRANSTORNOS PSICÓTICOS: PREVALÊNCIA E IMPACTOS

Os transtornos mentais psicóticos são condições frequentes na população em geral, associados a grande morbidade e pior prognóstico – incluindo resposta a tratamento, risco de recorrência e prejuízo funcional – quando comparados a outros transtornos psiquiátricos (*American Psychiatric Association*, 1994; Rössler et al, 2005). A prevalência de psicose em geral ao longo da vida pode chegar a 3,5% na população em geral (Perala et al, 2007) e incidência de 32 por 100.000 pessoas-ano (Kirkbride et al, 2012). O risco para o desenvolvimento de psicoses não-afetivas, ou seja, transtornos nos quais os sintomas psicóticos não se devam diretamente a alterações do humor, varia entre 0,5 e 2,3% na literatura (Kendler et al, 1996; Andrade et al, 2002; Kessler et al, 2005; Perala et al, 2007). Dentre tais transtornos, a esquizofrenia é o mais frequente, tendo risco acumulativo ao longo da vida estimado em 0,72% por metanálises (Saha et al, 2005). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a esquizofrenia afeta cerca de 26,3 milhões de pessoas em todo o mundo, havendo 3,9 milhões de pacientes com tal condição apenas nas Américas (WHO, 2008, <http://www.who.int/healthinfo/>). Em um estudo epidemiológico realizado na cidade de São Paulo, no qual os pesquisadores ativamente entrevistaram os moradores em suas casas, 1,9% da população apresentava critérios diagnósticos para psicose não-afetiva e 38% apresentaram ao menos um sintoma psicótico ao longo da vida (Loch et al, 2011).

A tendência dos transtornos psicóticos à cronicidade e as elevadas taxas de comprometimento funcional aos quais estes transtornos estão associados fazem deles um grave problema de saúde pública, com altíssimos custos para a sociedade (Falkai et

al, 2005). Apesar de abordagens padronizadas para pacientes resistentes ao tratamento, muitos deles se mantêm sintomáticos a despeito do tratamento (Elkis, 2007). Além disso, a OMS classifica um transtorno psicótico ativo no mais alto grau de incapacidade que uma doença pode causar. No mundo, a esquizofrenia é a 5ª doença que mais causa anos perdidos por incapacidade (OMS, 2008).

O estudo das psicoses primárias – também chamadas de funcionais ou não-afetivas, como a esquizofrenia – possibilita um melhor entendimento da fisiopatologia cerebral associada a estas condições e a identificação de marcadores biológicos de vulnerabilidade para o desenvolvimento de psicose (endofenótipos). Neste sentido, observou-se um grande desenvolvimento das técnicas de neuroimagem nas últimas décadas, permitindo o estudo cada vez mais detalhado da estrutura e funcionamento do cérebro humano *in vivo*. Este desenvolvimento ocorreu tanto na tecnologia envolvida na aquisição de imagens cerebrais como no desenvolvimento de novos modelos para processamento e análise de imagens médicas (Busatto et al, 2008).

1.2 - ACHADOS DE ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS CEREBRAIS *IN VIVO* EM TRANSTORNOS PSICÓTICOS USANDO RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

Nas últimas décadas, a aplicação de técnicas de neuroimagem em estudos de pesquisa permitiu a identificação, de forma bastante consistente, de anormalidades cerebrais em grupos de pacientes portadores de transtornos psicóticos comparados a controles saudáveis (CS).

1.2.1 - ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS DE SUBSTÂNCIA CINZENTA

Em linhas gerais, a técnica de RM se baseia na captação de sinais magnéticos originados dos prótons de hidrogênio dos tecidos biológicos após magnetização dos

mesmos. Tais sinais são traduzidos computacionalmente, com excelente acurácia espacial e de contraste, em imagens compostas por um conjunto de voxels (ou pixel tridimensional), cada qual contendo a intensidade do sinal magnético captado para determinada localização espacial. O conjunto de voxel forma volumes tridimensionais e, a partir destes volumes, é possível aferir medidas da morfologia/ anatomia dos tecidos, isto é, informações sobre forma e dimensões (espessura, extensão, área e volume). Estudos que investigam tais medidas são comumente denominados morfométricos.

Em investigações morfométricas cerebrais de indivíduos portadores de esquizofrenia, diversos estudos utilizando RM observaram alterações estruturais tendo como achado mais replicado o alargamento do sistema ventricular, principalmente de ventrículos laterais e terceiro ventrículo, em comparação com CS (Wright et al, 2000; Steen et al, 2006; Vita et al, 2006; Sayo et al, 2012). Este alargamento ventricular é frequentemente acompanhado de reduções do volume cerebral total e das substâncias cinzenta (SC) e branca (SB) cerebrais (Wright et al, 2000; Steen et al, 2006; Vita et al, 2006; Bora et al, 2011).

Reduções volumétricas em regiões de SC como córtex frontal, amígdala, cíngulo anterior, hipocampo e giro parahipocampal, tálamo, ínsula, cúneo (apenas à direita), e regiões mesiais do lobo temporal e giro temporal superior foram consistentemente replicadas em estudos de pacientes com esquizofrenia, ganhando suporte também de metanálises (Wright et al, 2000; van Haren et al, 2007; Ellison-Wright et al, 2008; Glahn et al, 2008; Bora et al, 2011). Algumas destas alterações, principalmente alargamento de ventrículos e reduções de volume cerebral total, SC total, SB total, tálamo e hipocampo, já estão presentes em pacientes com primeiro episódio psicótico (PEP) (Vita et al, 2006; Ellison-Wright et al, 2008).

Estudos longitudinais sugerem que algumas das anormalidades volumétricas cerebrais observadas na esquizofrenia possam progredir em magnitude com a evolução do transtorno no tempo (Busatto et al, 2009). Diferentes estudos demonstraram haver diminuição de volume de SC total, bem como reduções focais em SC em regiões frontais, parietais e temporais (especialmente áreas superiores esquerdas), além do aumento do volume de ventrículos laterais ao longo do tempo (Busatto et al, 2009; Olabi et al, 2011). Além disso, há evidências indicando uma clara relação destas anormalidades com prognóstico: quanto mais pronunciadas estas alterações, maior o número de recorrências e hospitalizações, e pior a resposta ao tratamento com AP (van Haren et al, 2008; Busatto et al, 2009; Rosa et al, 2015).

1.2.2 - ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS DE SUBSTÂNCIA BRANCA

Existe, também, uma grande quantidade de evidência demonstrando a existência de anormalidades de SB cerebral na esquizofrenia (Walterfang et al, 2006; Di et al, 2009; Ellison-Wright e Bullmore, 2009; Bora et al, 2011).

Reduções volumétricas focais acometendo a SB fronto-têmporo-estriatal foram consistentemente observados em diversos estudos e metanálises (Di et al, 2009; Bora et al, 2011; Olabi et al, 2011; Colombo et al, 2012; Shepherd et al, 2012), havendo evidência, também, de que algumas destas alterações poderiam ser progressivas ao longo do tempo (Bora et al, 2011; Olabi et al, 2011). Estudos avaliando pacientes com PEP apresentam certa variabilidade de resultados, sendo que os achados mais consistentes descritos são reduções volumétricas acometendo os fascículos fronto-occipital inferior (FFOI) e longitudinal superior (FLS) (Colombo et al, 2012; Shepherd et al, 2012).

1.2.3 - EVIDÊNCIAS DE ALTERAÇÕES CEREBRAIS DINÂMICAS, ESTADO-DEPENDENTES, EM TRANSTORNOS PSICÓTICOS

Atualmente existe uma forte tendência na literatura psiquiátrica em considerar que as psicoses, em particular a esquizofrenia, estão associadas à progressão de déficits volumétricos cerebrais ao longo do tempo (Hulshoff Poll & Kahn, 2008; Busatto et al, 2009), ou de déficits de neurodesenvolvimento prévios ao início da psicose (Pantelis et al, 2005). Pacientes psicóticos geralmente alternam entre episódios psicóticos agudos com sintomas positivos proeminentes e fases de remissão de sintomas (Lieberman et al, 2001). Porém, pouca atenção tem sido dada à possibilidade de que pelo menos algumas das alterações estruturais cerebrais observadas nas psicoses poderiam ser estado-dependentes e reversíveis após a remissão de sintomas.

Evidências em outras áreas da neurociência apontam para a ocorrência de alterações cerebrais estado-dependentes em pacientes com esquizofrenia, como, por exemplo, na eletroencefalografia (Merrin et al, 1988; Verleger et al, 1999; Higashima et al, 2007), processamento auditivo (Turetsky et al, 1998; Shinozaki et al, 2002), movimentos oculares (Kallimani et al, 2009), cognição (Gouzoulis-Mayfrank et al, 2003; Bates et al, 2004; Exner et al, 2006; Klingberg et al, 2008) e atividade mitocondrial (Ben-Shachar et al, 1999; Dror et al, 2002).

No campo da neuroimagem, alguns poucos estudos também evidenciam a possibilidade de haver alterações estruturais e funcionais dependentes da fase do transtorno. Investigações longitudinais de SC sugerem que reduções volumétricas em giro temporal superior em pacientes durante PEP podem apresentar reversão após remissão de sintomas (Keshavan et al, 1998; Schaufelberger et al, 2011). Com relação à SB, um estudo de RM com pacientes crônicos demonstrou que a remissão de sintomas psicóticos após um novo surto estava relacionada à diminuição do volume total de SB

cerebral (Christensen et al, 2004). Estudos empregando RM funcional observaram alterações de ativação cerebral em *striatum* (Sorg et al, 2012), amígdala (Rasetti et al, 2009), córtex pré-frontal, córtex parietal, núcleo caudado direito (Lui et al, 2010) e córtex temporal (Woodruff et al, 1997; Lui et al, 2010) durante a fase aguda.

Este corpo de resultados, que provêm de várias áreas de investigação em neurociência, corrobora a hipótese de que algumas alterações cerebrais observadas em transtornos psicóticos possam estar associadas à fase aguda da doença (Busatto et al, 2009), sendo potencialmente reversíveis com a melhora clínica.

1.3 - IMAGEM POR TENSOR DE DIFUSÃO NOS TRANSTORNOS PSICÓTICOS

O estudo mais detalhado dos tratos de SB cerebral é extremamente relevante para um melhor entendimento das bases neuroanatômicas dos transtornos psicóticos (Busatto et al, 2009), dados os achados sugestivos de comprometimento da conectividade cerebral nestas condições. Neste sentido, outra importante evolução dos métodos de imagem biomédica, que vem a se somar às já bem exploradas técnicas de imagem estruturais e funcionais, foi o advento da imagem por tensor de difusão (*diffusion tensor imaging*, DTI).

DTI é uma técnica de imagem por ressonância magnética (RM) que permite a avaliação da microestrutura de tecidos fibrosos *in vivo*. Nesta técnica, as imagens são obtidas através da aplicação do estímulo magnético em diferentes direções, preferencialmente não colineares, de forma a se estimar o deslocamento das moléculas de água em um determinado tecido biológico. A partir da captação do movimento browniano da água, para cada voxel do cérebro é gerado um tensor de difusão, composto de três vetores Eigen (ε_1 , ε_2 e ε_3), e respectivos valores Eigen (λ_1 , λ_2 e λ_3) (Figura 1), que quantificam o comprimento dos vetores. A partir destes tensores são

calculados índices que refletem o comportamento do movimento da água nos tecidos. Quando aplicados na avaliação da SB, tais índices dão base a inferências sobre o estado de sua microestrutura, bem como de eventuais alterações patológicas.

Figura 1. Representação gráfica tridimensional de um tensor de difusão.

(Adaptado de <http://mri-q.com/diffusion-tensor.html>)

Os índices de DTI mais utilizados na literatura científica aferem medidas de anisotropia e de difusividade. Índices de anisotropia, como a anisotropia fracional (*fractional anisotropy*, FA), refletem o grau de direcionalidade da difusão de água, e, portanto, são sensíveis ao grau de mielinização, densidade tecidual e organização dos tratos de SB. Já os índices de difusividade estimam o grau de deslocamento das

moléculas de água em um meio e, assim, relacionam-se a menor compactação estrutural de tratos de SB cerebral (Beaulieu, 2002; Jones, 2008). A difusividade média (*mean diffusivity*, MD) e *trace* (TR) são as medidas de difusividade mais comumente empregadas: MD se define pelo valor da soma dos valores Eigen do tensor de difusão nos três eixos dividido por três ($(\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3)/3$), estimando então a média de difusão nos três planos; já o TR é definido pela soma dos valores Eigen do tensor ($\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3$), sendo um índice mais adequado quando se quer avaliar a magnitude de difusão da água em um determinado voxel (Zacharaki et al, 2012). Outros índices, menos utilizados na literatura, também podem ser aferidos a partir do tensor de difusão, como a difusividade radial (*radial diffusivity*, $RD=(\lambda_2 + \lambda_3)/2$) e difusividade axial (*axial diffusivity*, $AD=\lambda_1$), por exemplo.

Em estudos caso-controle, regiões de redução de FA, acompanhados ou não por aumento de difusividade, são sugestivos de menor organização estrutural no tecido analisado (Beaulieu, 2002; Jones, 2008; Jones et al, 2013). Os possíveis substratos neurobiológicos associados a reduções de FA dependem das características clínicas da população em estudo (faixa etária, diagnóstico, etc.), mas podem indicar ruptura de tratos de SB cerebral ou menor grau de mielinização em relação a CS (Beaulieu, 2002; Jones, 2008; Jones et al, 2013). Isto é, podem refletir desde alterações do neurodesenvolvimento até processos adquiridos. Reduções de FA com difusividade preservada, por exemplo, foram descritos em tecidos cerebrais com desmielinização com membrana celular intacta (Beaulieu, 2002). Aumentos isolados de difusividade são sugestivos de expansão do meio extracelular (perda axonal e edema vasogênico, por exemplo) (Beaulieu, 2002), enquanto aumentos isolados de FA também foram observados em processos inflamatórios agudos cerebrais, como na esclerose múltipla e em abscessos cerebrais (Lindquist et al, 2007; Yadav et al, 2009).

1.3.1 - MÉTODOS DE ANÁLISE EM DTI

Os dois tipos de análise de imagens cerebrais mais comumente empregados na literatura até hoje para mensuração quantitativa e comparação entre grupos são os métodos por região de interesse (*region-of-interest*, ROI) e voxel-a-voxel.

Os métodos por ROI envolvem a delimitação – frequentemente manual, mas também utilizando ferramentas padronizadas (círculos, quadrados, etc.) – de estruturas anatômicas cerebrais visando à obtenção, no caso de análises de DTI, de medidas de FA e MD/ TR, refletidas na intensidade de sinal dos voxels de determinada região cerebral. A grande vantagem deste método é a obtenção de valores absolutos de anisotropia e difusividade para uma determinada estrutura/ região de SB cerebral, o que permitiria maior comparabilidade entre estudos.

Como uma alternativa às análises baseadas em ROI, desenvolveu-se, nas últimas décadas, técnicas automatizadas que permitem a realização de análises estatísticas (comparações entre grupos, regressões e correlações, dentre outras) voxel-a-voxel de diferentes medidas cerebrais (morfometria, captação de glicose e índices de DTI, por exemplo) sem a necessidade de definição de limites estruturais *a priori*. Estes métodos apresentam algumas vantagens em relação aos métodos por ROI, já que são totalmente automatizados e, assim, independentes de avaliador e adequados para o estudo de grandes amostras. Além disso, os métodos voxel-a-voxel permitem a investigação da presença de anormalidades cerebrais sobre todo o encéfalo de forma exploratória – ou seja, sem a necessidade da definição de hipóteses *a priori* – e apresentam grande reprodutibilidade (Busatto et al, 2008).

Um dos métodos voxel-a-voxel automatizado mais frequentemente empregados para a análise de imagens de DTI é o chamado *Voxel-Based Analysis* (VBA), o qual gera mapas estatísticos resultantes de comparações de índices de DTI sobre toda a SB

cerebral entre grupos ou de análises de correlação e regressão linear dos índices com variáveis clínicas ou biológicas de interesse. Para tanto, as imagens são submetidas a uma série de transformações espaciais para conformá-las a um mesmo espaço estereotático padrão, além de ser necessária a aplicação de uma suavização (borramento) com filtros Gaussianos para garantir que as medidas de interesse sigam uma distribuição paramétrica (Zanetti et al, 2009).

Mais recentemente, novas técnicas da análise de DTI têm surgido. O *Tract-Based Spatial Statistics* (TBSS) (Smith et al, 2006) é uma técnica voxel-a-voxel, mas que restringe as análises aos centros dos tratos de SB através da construção de um “esqueleto” de FA padrão. Outra técnica que vem sendo cada vez mais utilizada nos últimos anos é a chamada Tractografia. Neste método, estima-se a reconstrução tridimensional dos tratos de SB a partir da direcionalidade da dispersão da água, permitindo comparações entre grupos com relação a, por exemplo, o número de fibras cruzando determinada região de SB (Chung et al, 2011).

1.3.2 - ALTERAÇÕES MICROESTRUTURAIS DE SUBSTÂNCIA BRANCA NOS TRANSTORNOS PSICÓTICOS

Os estudos de DTI na esquizofrenia têm evoluído rapidamente. Os resultados mais consistentemente replicados entre estudos, incluindo suporte de metanálises, apontam para reduções de FA acometendo o corpo caloso e a SB fronto-límbico-estriatal bilateralmente, incluindo feixe do cíngulo, fórnix/ *stria terminalis*, cápsula interna/externa e os fascículos uncinado (FU), longitudinal inferior (FLI) e FFOI (Ellison-Wright e Bullmore, 2009; Bora et al, 2011; Patel et al, 2011; Yao et al, 2013). Tais achados sugerem prejuízo de conectividade estrutural cerebral nos circuitos que interconectam: o lobo frontal com o tálamo e o giro do cíngulo; o lobo frontal com

insula, hipocampo/amígdala e lobo occipital; transmissão inter-hemisférica de regiões têmporo-parieto-occipitais (Bora et al, 2011; Patel et al, 2011). Além disso, parece haver uma sobreposição entre as regiões de SC que apresentam redução volumétrica nos pacientes com esquizofrenia e as vias de SB que as interconectam (Bora et al, 2011). Estudos avaliando indivíduos com PEP observaram um padrão semelhante de alterações de FA, porém menos extensas do que aquelas descritas em pacientes crônicos (Bora et al, 2011; Yao et al, 2013). No entanto, há menos estudos com pacientes PEP, havendo mais heterogeneidade de resultados, seja em relação à localização espacial das alterações, seja por alguns poucos estudos que não encontraram reduções de FA nos pacientes (Samartzis et al, 2014). Anormalidades de SB também já foram relatadas em sujeitos apresentando sintomas psicóticos prodrômicos e/ ou em risco genético elevado para o desenvolvimento de psicoses (Carletti et al, 2012; Katagiri et al, 2015; Vijayakumar et al, 2016).

Evidências de outros campos da neurociência dão esteio aos achados de SB obtidos através de estudos de neuroimagem. Investigações *post-mortem* encontraram alterações de tamanho e densidade de oligodendrócitos, bem como anormalidades na estrutura da bainha de mielina na SB de pacientes com esquizofrenia (Walterfang et al, 2006; Kochunov & Hong, 2014; Mighdoll et al, 2015). Estas alterações estão provavelmente associadas a prejuízos de conectividade cerebral, já demonstrados em estudo que evidenciou que o córtex de pacientes com esquizofrenia é interconectado com eficiência até 20% menor em comparação a CS (Zalesky et al, 2011), e constituem substrato para os achados compatíveis com perda de integridade estrutural em circuitos fronto-límbico-estriatais descritos acima.

1.3.3 - LIMITAÇÕES DOS ESTUDOS DE DTI PRÉVIOS

Além do fato de existir uma grande variação entre os métodos de neuroimagem empregados na literatura (Zanetti et al, 2008), é possível que a heterogeneidade observada nos estudos de DTI se deva a alguns fatores de confusão com potencial de alterar a microestrutura de SB. De forma geral, poucos autores avaliaram sistematicamente presença de abuso ou dependência de substâncias nos indivíduos selecionados, e grande parte destes estudos foram feitos com amostras pouco controladas para estágio/ tempo de evolução do transtorno. Além disso, há a influência do uso de antipsicóticos (AP) sobre a SB (Smieskova et al, 2009; Bora et al, 2010; Ho et al, 2011).

Outro fator bastante importante a ser ponderado na análise destes resultados é a possível existência de alterações cerebrais microestruturais potencialmente reversíveis e estado-dependentes em transtornos psicóticos (Keshavan et al, 1998; Busatto et al, 2009; Schaufelberger et al, 2011), ou seja, alterações que estejam diretamente relacionadas a fase da doença (aguda versus estável) (Busatto et al, 2009; Bora et al, 2010).

1.3.4 - ESTUDOS DE DTI COM PACIENTES EM PRIMEIRO EPISÓDIO PSICÓTICO SEM USO PRÉVIO DE PSICOTRÓPICOS

Um número restrito de estudos de DTI avaliou pacientes em PEP sem uso prévio de medicações psicotrópicas em comparação com CS. Tais estudos sugerem que as alterações encontradas seguem às que já se evidenciaram em pacientes crônicos em uso de AP, demonstrando redução de FA em regiões cerebrais semelhantes, no entanto sendo espacialmente mais restritas. Apesar de certa heterogeneidade, tais estudos demonstraram que os pacientes de PEP também podem apresentar reduções de FA no

FFOI bilateralmente, nos FLI e FLS bilateralmente, no FU esquerdo nas cápsulas interna e externa direitas, nas radiações talâmicas, na *corona radiata* bilateralmente, fórnix bilateralmente, cíngulo direito, giro pré-central direito, no joelho e esplênio do corpo caloso (CC), trato córtico-espinhal bilateralmente, e pedúnculos cerebrais (Cheung et al, 2008; Gasparotti et al, 2009; Guo et al, 2012; Wang et al, 2013; Filippi et al, 2014; Ebdrup et al, 2016; Zeng et al, 2016). Um único estudo demonstrou áreas de aumento de FA em pacientes PEP versus CS afetando diferentes tratos de SB, como FLS direito, cápsula externa direita, seguimento posterior da cápsula interna direita, pedúnculos cerebrais e cerebelares, ponte e bulbo (Filippi et al, 2014).

Assim como em pacientes crônicos, poucos estudos com pacientes PEP avaliaram medidas de difusão (Ruef et al, 2012; Lee et al, 2013; Filippi et al, 2014; Zeng et al, 2016). Apenas dois deles foram conduzidos com pacientes virgens de tratamento. Filippi et al (2014) observou aumento de MD apenas nas radiações talâmicas e bilateralmente no fórnix, ao mesmo tempo que diversas regiões cerebrais apresentavam redução de MD. Zeng et al (2016) encontrou aumento de MD na radiação talâmica anterior bilateralmente, no FFOI esquerdo, no FLI nos fórceps *major e minor*.

1.3.5 – ESTUDOS LONGITUDINAIS DE DTI E A INVESTIGAÇÃO DE ALTERAÇÕES ESTADO-DEPENDENTES EM PACIENTES EM PRIMEIRO EPISÓDIO PSICÓTICO

Até o momento, poucos estudos longitudinais investigaram os efeitos do tratamento com AP nos índices de DTI de pacientes em PEP, empregando intervalos de tempo fixo para a avaliação de seguimento (Wang et al, 2013; Reis Marques et al, 2014; Szeszko et al, 2014; Ebdrup et al, 2016; Zeng et al, 2016). Os resultados destes estudos foram altamente heterogêneos com relação tanto à direção (i.e., aumento ou redução de FA) como à localização topográfica cerebral dos achados. Por exemplo, dois estudos

observaram que o tratamento com AP por 6 ou 12 semanas se associou a reduções de FA ao longo do tempo (Wang et al, 2013; Szeszko et al, 2014), ao passo que duas outras investigações encontraram aumento de FA após 6 ou 12 semanas de exposição a AP (Reis Marques et al, 2014; Ebdrup et al, 2016). Um quinto estudo (Zeng et al, 2016) não encontrou diferenças longitudinais em PEP em relação aos CS após o uso de AP por 8 semanas pelos pacientes. Em quatro destes estudos, nenhuma correlação entre mudanças de FA ao longo do tempo e a redução de sintomas em pacientes PEP foi observada (Wang et al, 2013; Reis Marques et al, 2014; Szeszko et al, 2014; Ebdrup et al, 2016). Curiosamente, Zeng et al (2016) observaram uma correlação negativa significativa entre mudanças longitudinais dos valores de FA e mudanças dos sintomas positivos ao longo do tempo, ou seja, quanto mais os sintomas se reduziram ao longo do tempo, maior foi o aumento de FA.

É bastante importante notar que tais estudos foram desenhados para avaliar mudanças de índices de DTI diretamente associados a exposição a AP. Por exemplo, os pacientes PEP foram re-escaneados após um período fixo de tempo no seguimento (6 ou 12 semanas), independentemente do status clínico pós-tratamento (ou seja, nem todos os pacientes haviam remitido). Portanto, estas investigações não são adequadas para detectar mudanças de microestrutura de SB estado-dependentes. Deste modo, apesar do papel fundamental que se credita às alterações de SB na fisiopatologia dos transtornos psicóticos, nenhum estudo foi especificamente desenhado para avaliar a existência de alterações microestruturais cerebrais estado-dependentes em transtornos psicóticos utilizando DTI.

1.4 - O POTENCIAL PAPEL DA ENZIMA FOSFOLIPASE A2 (PLA2) NOS TRANSTORNOS PSICÓTICOS

1.4.1 – OS FOSFOLÍPIDES DE MEMBRANA CELULAR E SUA CATÁLISE PELA PLA2

Os fosfolípides de membrana celular participam de diversas funções fisiológicas, tais como: 1) composição de barreiras para difusão de íons e metabólitos, facilitando as funções eletrofisiológicas através da manutenção de potencial de membrana apropriado; 2) inserção de complexos proteicos, mediadores de transmissão de sinais elétricos e químicos na membrana celular (como, por exemplo, canais iônicos e receptores); e 3) reservatório de segundo mensageiros lipídicos de transdução de sinais (Gross et al, 2005). Assim, a função e a plasticidade do cérebro são profundamente influenciadas pelas propriedades físico-químicas dos fosfolípides (Gross et al, 2005).

A contínua remodelação dos fosfolípides de membrana é crucial para a manutenção da homeostase celular (Horrobin et al, 1994). Para tanto, há um equilíbrio entre síntese e catálise de tais moléculas. A síntese dos fosfolípides se dá a partir da ligação de ácidos graxos a moléculas de carbono do glicerol, pela ação dos sistemas enzimáticos da aciltransferase e da transacilase. Já a catálise ocorre pela atividade das fosfolipases A₂ (PLA₂), que compreende uma superfamília de enzimas lipolíticas que se divide em três subtipos principais: intracelular cálcio-independente (iPLA₂), intracelular cálcio-dependente (cPLA₂) e extracelular cálcio-dependente (sPLA₂, de *secreted*-PLA₂). Tais enzimas catalisam a hidrólise da posição *sn*-2 dos fosfolípides de membranas celulares – plasmáticas e subcelulares, levando a produção de um ácido graxo livre e lisofosfolípides. Esta reação é de particular importância se o ácido graxo esterificado for o ácido araquidônico que é precursor de eicosanoides (Fenton et al, 2000; Kudo & Murakami, 2002). Embora o ácido araquidônico possa ser liberado dos

fosfolípidos por processos que não envolvam a PLA2, em muitas células a PLA2 é o primeiro sistema enzimático que regula a sua liberação (Burke & Dennis, 2009).

Tanto o ácido araquidônico como as prostaglandinas que a partir dele são sintetizadas e os lisofosfolípidos liberados pela PLA2 são importantes mediadores na transmissão e no processamento de sinais neuronais (Bazan et al, 1993; Piomelli, 1993) através de ações como: modulação dos canais iônicos, atuação como segundos-mensageiros, ativação da expressão gênica, liberação e captação de neurotransmissores (Lautens et al, 1998). Além disso, a PLA2 é uma enzima chave na produção de agentes inflamatórios: os ácidos graxos poliinsaturados liberados por sua ação são, como dito acima, os precursores dos eicosanoides, fatores pró-inflamatórios (Paul & Gregson, 1992). Os lisofosfolípidos derivados pela ação da PLA2 também possuem propriedades detergentes, e a atividade de PLA2 foi associada a desmielinização neuronal em alguns processos patológicos (Paul & Gregson, 1992; De et al, 2003).

1.4.2 – O METABOLISMO DOS FOSFOLÍPEDES DE MEMBRANA EM PACIENTES COM ESQUIZOFRENIA

Tendo em vista sua importância para a fisiologia cerebral, alguns estudos já investigaram o metabolismo de fosfolípidos em pacientes com esquizofrenia. Estudos empregando espectroscopia por RM sugerem uma aceleração do metabolismo de fosfolípidos no lobo frontal de pacientes com esquizofrenia. Nestes, investigaram-se as ressonâncias dos fosfomonoésteres (PME) e dos fosfodiésteres (PDE), respectivamente os precursores e os metabólitos dos fosfolípidos no cérebro. Indivíduos com esquizofrenia mostraram uma diminuição dos PME e um aumento dos PDE no lobo frontal (Williamson et al, 1991; Fujimoto et al, 1992; Keshavan et al, 1993; Pettegrew et al, 1993; Deicken et al, 1994 e 1995; Fukuzako et al, 1994). Evidências de aceleração

no metabolismo de fosfolípidos foram também encontradas em um estudo *post mortem* no lobo frontal de pacientes com esquizofrenia (Horrobin et al, 1991). Tais achados, embora ainda controversos (Yacubian et al, 2002), apoiam resultados de estudos anteriores que haviam encontrado uma diminuição da concentração de fosfolípidos nos eritrócitos (Rotrosen & Wolkin, 1987) e um aumento da concentração do metabólito lisofosfatidilcolina na membrana de plaquetas (Pangerl et al, 1991) em pacientes com esquizofrenia. Além disso, a concentração do ácido araquidônico em eritrócitos também se apresentou reduzida em um subgrupo de pacientes com esquizofrenia (Glen et al, 1994; Peet et al, 1994).

1.4.3 – ESTUDOS PRÉVIOS DA ATIVIDADE DE PLA2 EM PACIENTES COM ESQUIZOFRENIA

Como a PLA2 é uma enzima chave no metabolismo dos fosfolípidos, um aumento de sua atividade poderia ser um dos fatores que levariam as alterações descritas acima, desempenhando um papel importante na fisiopatologia da esquizofrenia (Gattaz & Brunner, 1996). Especula-se que as alterações do cérebro seriam encontradas principalmente no lobo frontal, levando a uma hipofrontalidade (Gattaz & Brunner, 1996). De fato, evidências experimentais foram obtidas por diversos grupos, sugerindo uma aceleração do metabolismo de fosfolípidos pela PLA2 em esquizofrenia (Gattaz et al, 1987, 1990 e 1995; Hudson et al, 1993; Nojonen et al, 1993; Ross et al, 1997 e 1999; Yao et al, 2000; Tavares et al, 2003; Smesny et al, 2005 e 2010), incluindo-se achados de aumento de sua atividade em pacientes em PEP sem uso prévio de medicações (Smesny et al, 2011). Um estudo que demonstrou alterações na fluidez de membranas celulares em córtex pré-frontal de pacientes com esquizofrenia forneceu esteio adicional para tal hipótese (Eckert et al, 2011). Ainda mais, alguns estudos com

pacientes crônicos demonstraram que a atividade de PLA2 apresenta redução a níveis comparáveis aos de CS após poucas semanas de tratamento (Gattaz et al, 1987; Tavares et al, 2003), apesar de haver resultados dissonantes em pacientes em PEP após 12 semanas de exposição a AP (Smesny et al, 2011).

Poucos estudos investigaram diretamente qual dos subtipos de PLA2 seria responsável por este aumento de atividade em pacientes com esquizofrenia. Ross et al (1997) avaliaram a atividade de PLA2 em um grupo de pacientes crônicos e outro de sujeitos saudáveis aplicando, para tanto, dois métodos diferentes: um ensaio fluorométrico e um ensaio radioenzimático. Apenas no primeiro método observou-se aumento da atividade nos pacientes (49%, $p < 0,001$); como tal método é sensível à enzima independente de cálcio, o oposto ocorrendo no ensaio radioenzimático, concluiu-se que o aumento de atividade de PLA2 em pacientes com esquizofrenia se deva exclusivamente à atividade de iPLA2 (Ross et al, 1997). Lasch et al (2003) demonstrou que a atividade de iPLA2 estava aumentada em um grupo de pacientes em fase aguda sem tratamento com AP, não havendo diferença para a PLA2 que dependessem de cálcio para sua atividade. Smesny et al (2005), comparando pacientes em PEP, pacientes crônicos e CS, demonstrou que a atividade de iPLA2 estava aumentada apenas nos pacientes PEP. Em um estudo *post mortem*, Ross et al (1999) observaram aumento da atividade de iPLA2 no córtex temporal de pacientes com esquizofrenia, assim como uma diminuição da atividade de PLA2 dependente de cálcio no putâmen e nos córtex temporal e pré-frontal.

Além disso, investigações genéticas apontam para a associação entre esquizofrenia e variantes de genes de cPLA2 e iPLA2 (Rybakowski et al, 2002; Pae et al, 2004; Tao et al, 2005; Barbosa et al, 2007; Yu et al, 2005), assim como de um SNP (*single nucleotide polymorphism*) no gene codificador da sPLA2 (Yang et al, 2016).

Estudos *post mortem* demonstraram *up-regulation* do gene da iPLA2 no lobo temporal em pacientes com esquizofrenia (Bowden et al, 2008).

Uma investigação recente do nosso grupo avaliou pela primeira vez a expressão gênica dos principais subtipos de PLA2 tanto em pacientes com esquizofrenia crônica como em indivíduos com PEP virgens de tratamento, arrolados para o presente estudo (Kerr et al, 2013). Observou-se redução da expressão de iPLA2 nos pacientes em uso crônico de AP, enquanto os pacientes com PEP virgens de tratamento mostraram níveis de expressão semelhantes aos dos CS (Kerr et al, 2013). Estes achados sugerem que o aumento da atividade de PLA2 na fase aguda não está associado diretamente a um aumento de sua expressão gênica; no entanto, a redução de sua atividade após o uso de AP pode ser causado, ao menos parcialmente, pela redução em sua expressão (Kerr et al, 2013).

Em outra linha investigatória, modelos teóricos postulam a existência de uma atividade inflamatória aumentada na esquizofrenia (Müller et al, 2012). Nesse sentido, haveria outra implicação na hiperatividade de cPLA2 em indivíduos com esquizofrenia: o aumento de sua atividade poderia levar a um estado inflamatório sistêmico causado pela elevação da síntese de prostaglandinas pró-inflamatórias (Martínez-Gras et al, 2011).

Até o presente momento, poucos estudos translacionais investigaram as alterações da atividade de PLA2 em pacientes com esquizofrenia. Um único estudo investigou a correlação entre morfometria cerebral e a atividade de PLA2 em sangue periférico (Smesny et al, 2010). Nesta investigação, que avaliou pacientes sem uso atual de psicotrópicos e CS, alterações morfométricas cerebrais de estruturas como o córtex pré-frontal (CPF), tálamo, córtex temporal, giro do cíngulo anterior, córtex parietal inferior

e núcleo caudado se correlacionaram com atividade aumentada de PLA2 nos pacientes (Smesny et al, 2010).

Desconhecemos estudos que tenham avaliado a atividade da PLA2 longitudinalmente em indivíduos com PEP virgens de tratamento em fase aguda e logo após remissão sintomática, ou seja, não existem investigações científicas que tenham sido especificamente desenhadas para avaliar possíveis alterações estado-dependentes da atividade de PLA2.

1.4.4 – ALTERAÇÕES ESTADO-DEPENDENTES DE PLA2 E DE MICROESTRUTURA DE SUBSTÂNCIA BRANCA

Como descrito acima, a PLA2 é uma enzima ubíqua que tem importante papel na manutenção de membranas celulares, na mielinização de fibras axonais e em processos inflamatórios. Além disso, há evidências de que sua atividade esteja alterada na esquizofrenia, podendo influenciar a estrutura cerebral. De outro lado, os índices de DTI, que indiretamente refletem a microestrutura de SB, são altamente dependentes da mielinização das fibras e de mecanismos que modifiquem a permeabilidade de membranas, como a inflamação. Além disso, há evidências consistentes de alterações difusas de DTI nos transtornos psicóticos. Sendo assim, é possível supor que a ação desta enzima possa estar diretamente associada às mudanças dos índices de DTI nos transtornos psicóticos. Ainda mais, supondo-se que as alterações da atividade da PLA2 e da microestrutura de SB ocorram conjuntamente durante a fase aguda da doença, i.e., se ambos forem estado-dependentes, é concebível que tal relação esteja ainda mais clara durante o surto psicótico. Até o presente momento, não há nenhuma investigação científica que tenha avaliado possíveis interações entre tais medidas biológicas em pacientes com transtornos psicóticos.

2 – OBJETIVOS E HIPÓTESES

O presente projeto propôs-se a estudar pacientes com primeiro episódio de psicose não-afetiva e virgens de tratamento com psicotrópicos provenientes da cidade de São Paulo combinando medidas de DTI (anisotropia e difusividade) e atividade da enzima PLA2, através de um desenho longitudinal intra-sujeito.

Os seus objetivos compreendem:

1. Confirmar a existência de alterações de anisotropia e difusividade cerebrais em pacientes com PEP virgens de tratamento e investigar a hipótese de que estas alterações sejam potencialmente reversíveis após estabilização clínica;
2. Avaliar a atividade dos três principais subtipos da enzima PLA2 (iPLA2, cPLA2 e sPLA2) nos pacientes com PEP versus CS na fase aguda e após 1 mês de remissão sintomática, investigando possíveis alterações estado-dependentes;
3. Integrar e correlacionar as medidas clínicas, de neuroimagem e moleculares obtidas tanto na fase aguda (primeiro episódio) como após 1 mês de remissão sintomática, de forma a avaliar a inter-relação entre microestrutura de SB cerebral, manifestações clínicas e atividade de PLA2 na fisiopatologia dos quadros psicóticos.

Como principal hipótese, acreditamos que ao menos algumas das alterações de DTI observadas à entrada do estudo são estado-dependentes, ou seja, potencialmente reversíveis após a remissão de sintomas. Portanto, esperamos encontrar nos pacientes PEP regiões cerebrais de redução de anisotropia e/ou aumento de difusividade em

relação aos CS no início do estudo, assim como esperamos que os pacientes PEP irão exibir uma reversão de tais anormalidades iniciais ao longo do tempo. Além disso, esperamos que a reversão das anormalidades de SB esteja correlacionada à eventual redução de sintomas.

Quanto à atividade de PLA2, hipotetizamos que a mesma estará aumentada nos pacientes em relação aos CS antes do início do tratamento com AP, especialmente às custas da atividade de iPLA2. Esperamos encontrar também uma reversão de tal hiperatividade com a remissão de sintomas, ou seja, que a mesma seja também estado-dependente. Por fim, esperamos que a hiperatividade de PLA2 em pacientes à entrada do estudo esteja diretamente correlacionada às alterações dos índices de DTI, assim como esperamos que a redução da atividade de PLA2 se correlacionará inversamente com o aumento de anisotropia e/ou positivamente com a redução de difusividade de clusters cerebrais inicialmente afetados, ao passo que os pacientes preencham critérios de remissão de fase aguda.

3 – MÉTODOS

3.1 – PARTICIPANTES

O presente projeto foi desenvolvido com uma amostra de indivíduos com PEP e CS, coletados em razão do projeto “Discriminação Diagnóstica e Avaliação Longitudinal de Alterações Cerebrais, Imunológicas e Moleculares Estado-Dependentes em Indivíduos com Primeiro Episódio Psicótico” (Edital Universal MCT/CNPq No. 14/2009, No. do Processo: 480370/2009-5).

3.1.1 – RECRUTAMENTO E DIVULGAÇÃO

Os pacientes PEP foram encaminhados ao Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (IPq/HCFMUSP), após contato ativo feito com serviços de saúde da região metropolitana da cidade de São Paulo para a divulgação de nosso estudo. Voluntários saudáveis foram recrutados através de divulgação em nossa instituição, comunidade próxima ou via internet.

3.1.2 – TRIAGEM

Pacientes e CS referenciados para nosso estudo foram inicialmente avaliados por psiquiatras treinados para o levantamento de critérios de inclusão e exclusão, empregando-se para isto entrevista clínica geral (incluindo tempo de início de doença, histórico de trauma crânio-encefálico, histórico de desenvolvimento neuropsicomotor e desempenho escolar, e dados sobre o uso de medicações psicotrópicas) e estruturada, esta através do instrumento *Structured Clinical Interview for DSM-IV* (SCID) (First et al, 1995). Além disto, tanto casos como controles preencheram os questionários de auto-aplicação *Alcohol Use Disorders Identification Test* (AUDIT) (Saunders et al, 1993) e

SouthWestminster Questionnaire (Menezes et al, 1996) visando rastreamento para uso de substâncias; quando cabível, o diagnóstico de transtorno de uso de substâncias foi feito utilizando-se o SCID.

3.1.3 – CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Os critérios de inclusão para os pacientes foram:

(a) Idade entre 16 e 50 anos;

(b) Diagnóstico de algum transtorno psicótico não-afetivo (transtorno psicótico breve, transtorno esquizofreniforme, esquizofrenia, transtorno delirante e transtorno psicótico sem outra especificação) de acordo com os critérios da 4ª edição do *Diagnostic and Statistical Manual for Mental Disorders* (DSM-IV; American Psychiatry Association, 1994) com duração máxima de 6 meses. Casos de psicose secundária a uma condição médica geral (transtornos mentais orgânicos e delirium) e psicose induzida por substância foram excluídos do estudo.

3.1.4 – CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Crítérios de exclusão tanto para os casos como para os controles foram:

(a) Tratamentos prévios com medicações psicotrópicas, excetuando-se o uso de benzodiazepínicos;

(b) História de trauma crânio-encefálico com perda de consciência;

(c) Presença de distúrbios neurológicos ou qualquer outra condição clínica que pudesse afetar o sistema nervoso central;

(d) Retardo mental;

(e) Transtornos mentais de eixo I do DSM-IV, exceto fobia específica;

(f) Diagnóstico atual ou passado (ao longo de toda a vida) de abuso ou dependência de substâncias que não nicotina pelo SCID;

(g) Contraindicações para o exame de RM (presença de objetos metálicos no corpo, marca-passo, claustrofobia, entre outros).

Além de não apresentarem nenhum dos critérios de exclusão descritos acima, os sujeitos controles não poderiam ter antecedentes familiares de 1º grau para psicose ou transtornos do humor.

3.2 - INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO CLÍNICA

Além dos instrumentos e avaliação clínica mencionados acima, após adentrarem o estudo, tanto casos como controles tiveram a lateralidade avaliada com o uso do *Edinburgh Inventory* (Oldfield, 1971). Uma história médica geral, com informações sobre fatores de risco cerebrovasculares e dados sobre o uso de medicações gerais foi obtida através de entrevistas com os pacientes e/ou familiares e de dados de prontuário.

Para mensuração de nível de sintomas, os pacientes foram avaliados com a *Positive and Negative Syndrome Scale* (PANSS) (Kay et al, 1987).

3.3 - DESENHO DO ESTUDO

Após a identificação dos casos de PEP e coleta de dados para pesquisa, os pacientes foram seguidos clinicamente e tratados de forma semi-naturalística na Enfermaria Mista e/ou no ambulatório do Grupo de Psicoses do LIM-27, no Instituto de Psiquiatria da FMUSP. O tratamento antipsicótico instituído baseou-se nas recomendações do algoritmo IPAP (*The International Psychopharmacology Algorithm Project*, <http://www.ipap.org/>). Caso necessário, como na presença de agitação psicomotora, os pacientes receberam medicações benzodiazepínicas (Clonazepam,

Diazepam, Lorazepam, ou Midazolam) por via oral ou intramuscular até a realização da coleta de RM, quando então passaram a receber medicação AP.

Tanto os pacientes com PEP como os CS foram avaliados com entrevista clínica, exame de RM e coleta de sangue em dois momentos distintos no tempo: na ocasião do primeiro contato (na fase aguda dos pacientes) (T0) e após um mês de remissão sintomatológica no caso dos pacientes (T1). Um subgrupo de sujeitos controles com características semelhantes aos pacientes PEP avaliados em T1 foram reconvocados para repetirem a mesma avaliação (clínica, neuroimagem e coleta de sangue) após um intervalo de tempo semelhante ao do seguimento dos pacientes.

Para definição de remissão sintomática, nós adotamos aqui os critérios de definidos por Andreasen et al (2005), que consideram remitidos os pacientes que apresentarem pontuação menor do que 4 nos subitens P1 (delírios), P2 (desorganização conceitual), P3 (comportamento alucinatório), N1 (embotamento afetivo), N4 (retraimento social passivo/apático), N6 (falta de espontaneidade na fluência da conversação), G5 (maneirismo e postura) e G9 (conteúdo incomum do pensamento) da PANSS. No entanto, Andreasen et al (2005) definem como critério temporal a manutenção desta pontuação por pelo menos 6 meses. Em nosso estudo, visando minimizar a influência direta do uso prolongado de AP nas medidas biológicas avaliadas, definimos como critério temporal o período de 1 mês sustentando pontuação menor do que 4 nos subitens descritos acima, ou seja, no máximo com sintomas leves. Para tanto, os pacientes foram avaliados semanalmente com a PANSS até que os critérios de remissão tivessem sido atingidos, e quinzenalmente até a realização de coleta longitudinal após remissão (T1).

Figura 2. Desenho do estudo: fluxograma de seguimento e avaliação de pacientes PEP. Os sujeitos em PEP foram submetidos aos instrumentos de avaliação clínica, coleta de sangue e aquisição de ressonância magnética cerebral ao adentrarem o estudo (T0) e após remissão sustentada de sintomas por um mês.

PEP: primeiro-episódio psicótico; T0: avaliação inicial; T1: avaliação no seguimento.

3.4 – ANÁLISES DE MICROESTRUTURA DE SUBSTÂNCIA BRANCA POR IMAGENS CEREBRAIS

3.4.1 – SESSÃO DE COLETA E PARÂMETROS UTILIZADOS NA AQUISIÇÃO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

Todas as imagens foram coletadas no aparelho de RM Espree Siemens 1,5T (Siemens, Erlagen, Alemanha) do IPq/HCFMUSP.

A sequência de DTI foi adquirida com uma bobina de 12 canais e aquisição em paralelo, além de ser ajustada ao ritmo cardíaco. As imagens de difusão foram baseadas em uma aquisição de imagem eco-planar (*echo-planar image*, EPI) e consistiu em uma imagem sem gradiente de difusão ($b=0\text{s/mm}^2$) e imagens de difusão coletadas em 64 direções não-colineares ($b=1,000\text{s/mm}^2$). Os seguintes parâmetros foram utilizados: TR = 8.000 ms, TE = 110 ms, NEX = 2, FOV = 240 x 240 mm, espessura do corte = 2,7 mm (sem espaço entre os cortes), 50 cortes, matriz = 120 x 120 pixels, tamanho do voxel = 2,0 x 2,0 x 2,7mm.

O protocolo de coleta também incluiu uma aquisição estrutural ponderada por T1 (*Magnetization-Prepared Rapid Gradient Echo Sequence*, MPRAGE) (número de cortes = 160, espessura do corte = 1,2 mm, sem espaço entre os cortes), uma sequência transaxial ponderada em T2 (*turbo spin-echo*) (24 cortes, espessura do corte = 5mm, 1mm entre os cortes), e uma sequência transaxial FLAIR (*fluid attenuated inversion recovery*) (24 cortes, do corte = 5mm, 1mm entre os cortes). Em média, o protocolo completo foi coletado em 25 minutos.

As imagens de todos os sujeitos foram inspecionadas visualmente por um neurorradiologista experiente, a procura de lesões grosseiras silenciosas e artefatos que poderiam interferir no processamento e análise das imagens.

3.4.2—PRÉ-PROCESSAMENTO DE IMAGENS PONDERADAS EM DIFUSÃO

A análise e processamento de imagens de DTI foram realizados no Laboratório de Neuroimagem e Psiquiatria (LIM-21) da FMUSP e em colaboração com a *Section of Biomedical Image Analysis*, da *University of Pennsylvania*, EUA.

As imagens ponderadas em difusão (*Diffusion Weighted Imaging, DWI*) coletadas em formato DICOM foram convertidas para NIfTI utilizando o software “dcm2nii” disponível no pacote MRICron (www.mccauslandcenter.sc.edu/mricro/mricron). A seguir, para todas as imagens, foi feita nova inspeção visual de controle de qualidade, sendo excluídas imagens com artefatos que potencialmente influenciariam o processamento e análise dos dados.

3.4.3 – EXTRAÇÃO DOS MAPAS DE DTI

Inicialmente, as imagens de DTI foram extraídas a partir dos dados coletados de DWI através de um modelo linear multivariado (*multivariate linear fitting*) (Pierpaoli e Basser, 1996). Os mapas de FA e TR foram, em seguida, computados a partir da imagem de tensor de cada sujeito.

Os mapas de FA e TR foram, então, normalizados a um molde estereotático padrão de DTI chamado EVE (Wakana et al, 2004) através de um método de registro elástico conhecido como DRAMMS (Ou et al, 2011), disponível em <https://www.cbica.upenn.edu/sbia/software/dramms/download.html>. Subsequentemente, os mapas foram então mascarados para incluir apenas voxels de SB utilizando-se o molde de SB e, em seguida, suavizados com um filtro linear Gaussiano de 4mm, através da função de largura total pela metade do máximo (*full-width at half-maximum, FWHM*).

Para as análises longitudinais entre pacientes com PEP versus CS, mapas de taxa de mudança de FA e TR foram gerados para cada participante da seguinte forma:

$$\text{Mapa de Taxa de Mudança} = \frac{(\text{Mapa em T1} - \text{Mapa em T0})}{\text{Mapa em T0}}$$

Também para as comparações no seguimento, calculamos as taxas de mudança do nível de sintomas (PANSS total e subitens) ao longo do tempo, aplicando a seguinte fórmula:

$$\text{Taxa de Mudança de Sintomas} = \frac{(\text{Escore em T1} - \text{Escore em T0})}{\text{Escore em T0}}$$

3.5 – ANÁLISES DA ATIVIDADE DE PLA2 EM PLAQUETAS

A coleta, armazenamento e dosagem de atividade da enzima PLA2 plaquetária foram realizadas no Laboratório de Neurociências (LIM-27) da FMUSP.

3.5.1 – COLETA E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

Para a análise de dosagem de atividade de PLA2, foram coletados 40 mL de sangue em quatro tubos com capacidade de 10 mL, contendo anticoagulante citrato de sódio 0,106 mol/L, para cada participante do estudo (casos e controles). A cada tubo foi adicionado 1mL de ACD-NH. Os tubos foram homogeneizados delicadamente por inversão e centrifugados durante 15 minutos a 1600 rpm a 20°C. A seguir, os sobrenadantes (Plasma Rico em Plaquetas – PRP) foram transferidos para outro tubo

com capacidade de 50mL (tipo Falcon) e o pH ajustado para 6,5 com ACD-NH. O PRP foi, então, transferido para quatro tubos de poliestireno (4 a 5 mL/tubo) e centrifugados durante 10 minutos a 2400 rpm à 20°C. O sobrenadante foi removido cuidadosamente por inversão e adicionou-se ao *pellet* 2,5mL de solução de lavagem. Após descanso de 10 minutos, as plaquetas foram homogeneizadas cuidadosamente com uma pipeta *Pasteur* até total diluição e então foram adicionados mais 2,5mL de solução de lavagem. A mistura foi centrifugada por 8 minutos à 2400 rpm, o sobrenadante foi removido cuidadosamente, e o *pellet* ressuspendido com 0,5mL de Tris-sacarose. As plaquetas em Tris-sacarose foram armazenadas em quatro criotubos com 0,5mL e mantidas em freezer -80°C.

3.5.2 – DOSAGEM DA ATIVIDADE DE PLA2

Inicialmente, procedeu-se a separação e lavagem das plaquetas no plasma. Em seguida, foi realizada a quantificação de proteínas utilizando o kit *Bio-Rad DC Protein assay* (Bio-Rad Hercules, CA), um ensaio colorimétrico para a determinação de proteínas baseado no método de Lowry et al (1951). O ensaio consiste na reação de proteínas com uma solução alcalina de tartarato de cobre (Reagente A) e com o reagente de Folin (*1,2-naphthoquinone-4-sulfonate*) (Reagente B). Como no ensaio de Lowry, existem duas etapas que levam ao desenvolvimento da cor: a reação entre proteínas e o cobre em um meio alcalino, e a subsequente ligação do reagente de Folin às proteínas tratadas com cobre (Lowry et al, 1951). Quando o reagente de Folin liga-se a essas proteínas, ele é reduzido pela perda de 1, 2 ou 3 átomos de oxigênio, e muda a cor do amarelo para um azul característico, cuja absorbância é lida entre 405 e 750 nm (Peterson, 1979). Para a determinação das proteínas totais, foi utilizada uma curva padrão de proteínas utilizando-se albumina de soro bovino (*bovine serum albumin* ou

BSA; Sigma-Aldrich), nas seguintes concentrações: 0,1 mg/mL, 0,2 mg/mL, 0,5 mg/mL, 1,0 mg/mL e 1,5 mg/mL. O ensaio foi realizado em microplacas de 96 poços (em temperatura ambiente), onde foram pipetados 25 µL do Reagente A, 5 µL do padrão de proteínas de BSA nas seis diferentes concentrações ou 5 µL das amostras ou branco (Tris-sacarose) e 200 µL do Reagente B. Após incubação de 15 minutos em temperatura ambiente em um agitador de placas (Wallac-PerkinElmer, Boston, MA), as absorbâncias das amostras foram lidas em um leitor de microplacas (Spectracount; Packard, Meriden, CT) a 680 nm. Todas as determinações dos níveis de proteínas foram realizadas em triplicatas.

O método utilizado para determinar a atividade da PLA2 no sangue foi o rádio-enzimático, conforme previamente descrito (Gattaz et al, 1995; Talib et al, 2008). Os substratos da enzima utilizados foram o L-α-1-palmitoil-2-araquidonil-fosfatidilcolina marcada com [1-¹⁴C] na cauda araquidonil na posição *sn*-2 (araquidonil-1-¹⁴C-PC) (PerkinElmer, Boston, MA) e o *L*-3-Phosphatidylcholine, 1-palmitoyl-2-[1-¹⁴C]palmitoyl. Neste ensaio, o [1-¹⁴C]-ácido graxo, ligado à posição *sn*-2 da fosfatidilcolina, é clivado pela PLA2 e extraído. A radioatividade do [1-¹⁴C]-ácido graxo liberado é medida em um contador de cintilação líquida e utilizada para calcular a atividade da PLA2. Os resultados são fornecidos em CPM, e então, corrigidos para pmol/mg de proteína/min utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Atividade da PLA2 (pMol/mg prot/min)} = \frac{\text{CPM} \times 25}{A \times 0,988 \times 2,22 \times B}$$

Sendo: CPM = contagens por minuto; 25 = fator de ajuste para 2 mg de proteína (2 mg/0,04 mg concentração final de proteína); A = atividade específica do radioativo em mCi/mMol; B = tempo de incubação em minutos; 0,988 = eficiência do equipamento.

Também para as comparações no seguimento, calculamos as taxas de mudança da atividade de PLA2 (total e subtipos) ao longo do tempo, aplicando a seguinte fórmula:

$$\text{Taxa de Mudança de Atividade} = \frac{(\text{Atividade em T1} - \text{Atividade em T0})}{\text{Atividade em T0}}$$

3.6 – ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para as comparações de dados clínicos e demográficos entre os grupos, foram empregados o teste t de Student (distribuições paramétricas) ou o teste U de Mann-Whitney (distribuições não paramétricas) para variáveis contínuas e os testes de Qui-Quadrado ou teste exato de Fischer para variáveis categoriais.

Após as etapas de processamento de imagens cerebrais descritas acima, as seguintes análises voxel-a-voxel foram conduzidas utilizando-se o Modelo Linear Generalizado (*General Linear Model*, GLM):

- Comparação entre grupos em T0;
- Comparação entre os mapas de taxa de mudança de cada grupo;
- Correlações entre os mapas FA/ TR e variáveis clínicas (duração de psicose não tratada, PANSS total e subitens) e atividade de PLA2 (total e subitens) no *baseline*;

- Correlações entre mapas FA/ TR longitudinais e variáveis clínicas (duração de psicose não tratada, valores de PANSS total e subitens no tempo, intervalo entre RMs, carga de exposição a AP) e taxa de mudança da atividade de PLA2 (total e subtipos).

Para o cálculo da carga total de exposição a AP, nos baseamos nos critérios propostos por Andreassen et al (2010).

Para as análises voxel-a-voxel, adotamos dois limiares estatísticos distintos: um mais restritivo com $p < 0,05$ corrigido para comparações múltiplas (*false discovery rate*, FDR); e outro limiar menos rígido para *clusters* com ao menos 10 voxels e $p < 0,001$, não corrigido para comparações múltiplas. Este último limiar é também comumente utilizado em estudos caso-controle de transtornos psiquiátricos empregando análises *voxelwise* de DTI (Schlösser et al, 2007; Ashtari et al, 2007; Szeszko et al, 2008; Zanetti et al, 2009; Gao et al, 2013; Li et al, 2013; Lu et al, 2013; Tha et al, 2013; Filippi et al 2014; Spalletta et al, 2014; Cheng et al, 2014; Chaim et al, 2014; Qiu et al, 2014; Lei et al, 2015; Itahashi et al, 2015; Melicher et al, 2015) e visa evitar erros estatísticos do tipo II.

Para as análises de atividade de PLA2 foram empregados o teste t de Student (distribuições paramétricas) ou o teste U de Mann-Whitney (distribuições não paramétricas). Adotamos aqui também dois limiares estatísticos: $p < 0,05$ corrigido para comparações múltiplas (FDR) e $p < 0,05$ não corrigido.

3.7 – ASPECTOS ÉTICOS

O estudo que gerou o banco de dados para o presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da

Universidade de São Paulo (CAPPesq). Todos os participantes assinaram termo de consentimento após terem sido adequadamente informados sobre o estudo. Para o desenvolvimento do presente de doutorado e para a participação de sujeitos com menos de 18 anos, dois adendos foram submetidos à CAPPesq, ambos sendo aprovados pelo comitê.

4. RESULTADOS

4.1 - DESCRIÇÃO DA AMOSTRA: DADOS DEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS

Vinte e nove indivíduos com PEP preencheram inicialmente os critérios de inclusão do estudo. No entanto, dois pacientes foram subsequentemente excluídos do estudo (um após ser diagnosticada encefalite aguda através do exame de RM; um por lesões cerebrais silenciosas detectadas quando da inspeção visual das imagens de RM, quais fossem calcificações em putâmen/ cápsula externa direita e em ponte). Além disso, dois outros sujeitos foram excluídos na fase das análises de imagem (um devido a artefatos na aquisição de DTI; um para o qual não houve coleta de DTI). Desta forma, uma amostra final de 25 pacientes com PEP virgens de tratamento foi usada para as análises de RM da fase inicial do estudo (T0).

Dos 25 pacientes incluídos nas análises de imagem em T0, dois abandonaram o tratamento e dois foram arrolados em uma fase inicial do estudo quando ainda não havia a avaliação longitudinal. Assim, um total de 21 indivíduos com PEP completou o protocolo de aquisição de imagens de RM nas duas etapas de avaliações: inicial (T0) e de seguimento após remissão sintomática (T1).

Com relação às coletas de sangue no *baseline*, obtivemos a amostra de todos os sujeitos incluídos nas análises *voxelwise* em T0, assim como dos dois pacientes excluídos por impossibilidade de análise de imagens (artefatos de aquisição e ausência de coleta de DTI). No entanto, devido problemas técnicos, não foi possível avaliar a amostra de um dos sujeitos, totalizando, então, um grupo de 26 sujeitos para análises de PLA2. No *follow-up* (T1), não foi possível analisar apenas uma das amostras dos sujeitos que também completaram a aquisição de imagens e foi também incluída

amostra de um dos pacientes para o qual não se coletou imagem; portanto, 21 amostras de sangue compuseram as análises longitudinais de PLA2.

Com relação ao grupo controle, 51 voluntários saudáveis completaram o protocolo de avaliação inicial (T0), sendo incluídos para as análises de imagem. Destes sujeitos, 36 com características demográficas semelhantes aos pacientes com PEP foram reconvocados e completaram a avaliação de seguimento (T1). Com relação à PLA2, não foi possível analisar as amostras de 04 CS no *baseline*; para as análises longitudinais, 35 sujeitos tiveram suas amostras analisadas; um sujeito para o qual não foi possível analisar a amostra de T0 foi excluído da análise longitudinal por não ser possível calcular a taxa de mudança da atividade de PLA2 ao longo do tempo.

Os dados clínicos e demográficos dos sujeitos participantes estão discriminados na Tabela 1. Não houve diferenças estatísticas significantes entre o grupo PEP e os CS em T0 para as variáveis demográficas de idade, gênero e lateralidade; a única diferença significativa emergiu da comparação de anos de estudo, o que é comumente observado (Goldberg et al, 1990). Também não houve diferenças estatísticas para dados clínico-demográficos quando comparamos: CS avaliados no *baseline* versus subgrupo de CS que participou do seguimento; e PEP avaliados no *baseline* versus subgrupo de PEP que foi avaliado também no seguimento. Além disso, não houve diferenças significantes entre o intervalo entre RM de CS versus PEP, apesar de haver uma tendência para os CS terem um intervalo menor ($p < 0,056$). Para oito pacientes (38,1%) que completaram o seguimento foi necessária a troca de AP para obtenção de melhora clínica, seguindo-se as recomendações do IPAP. No momento da segunda avaliação (T1), quase metade dos pacientes estava em uso de Risperidona (47,6%).

Tabela 1. Informações demográficas e clínicas para pacientes de primeiro episódio psicótico (PEP) e controles saudáveis (CS).

	PEP T0 (n=25)	CS T0 (n=51)	Teste estatístico (PEP T0 vs. CS T0)	PEP T1 (n=21)	Teste estatístico (PEP T0 vs. T1)	CS T1 (n=36)
Idade (média±dp)	26,48±7,46	27,59±6,26	t=-0,680, gl=74, p=0,498	26,67±6,60		26,78±5,97
Gênero (homens;%)	16 (64,0%)	30 (58,8%)	$\chi^2=0,188$, gl=1, p=0,664	13 (61,9%)		22 (61,1%)
Lateralidade manual (destro;%)	22 (88,0%)	49 (96,1%)	Teste exato de Fisher, p=0,324	20 (95,2%)		35 (97,2%)
Anos de educação (média±dp)	10,96±3,67	12,96±3,77	t=-2,191, gl=74, p=0,032*	11,29±3,69		13,28±3,53
Duração de psicose não tratada (dias; média±dp; mín; máx)	50,68±52,62 (4;180)			50,38±53,45 (4;180)		
Intervalo entre RMs (dias; média±dp)				96,14±63,706**		63,75±30,650**
pPANSS (média±dp)	19,96±5,50			8,81±1,69	t=8,80, gl=20, p=0,000* +	
nPANSS (média±dp)	17,72±8,75			10,9±4,62	t=3,77, gl=20, p=0,001* +	
gPANSS (média±dp)	40,04±11,39			22,19±4,27	t=8,97, gl=20, p=0,000* +	
tPANSS (média±dp)	77,72±23,31			41,9±8,32	t=8,52, gl=20, p=0,000* +	
Medicação no T1:						
Risperidona				10 (47,6%)		
Olanzapina				5 (23,8%)		
Haloperidol				3 (14,2%)		

Risperidona + Amissulprida	1 (4,8%)
Amissulprida	1 (4,8%)
Nenhum	1 (4,8%)

* Diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

** Comparação entre PEP e CS no seguimento: teste U de Mann-Whitney, $p = 0,056$.

✚ Comparação entre escores no início e no seguimento do estudo para pacientes que realizaram a segunda coleta de RM (teste-t pareado).

PEP: primeiro episódio psicótico; CS: controle saudável; T0: dados no início do estudo; T1: dados no seguimento; dp: desvio padrão; t: valor do teste t; míni: valor mínimo; máx: valor máximo; gl: graus de liberdade; PANSS: *Positive and Negative Syndrome Scale*; pPANSS: escore para sintomas positivos; nPANSS: escore para sintomas negativos; gPANSS: escore para sintomas gerais; tPANSS: escore total da PANSS.

4.2 - ANÁLISES ESTATÍSTICAS NO *BASELINE*

4.2.1 – ANÁLISES DE DTI VOXEL-A-VOXEL

4.2.1.1 - *COMPARAÇÕES ENTRE OS GRUPOS: PACIENTES VS. CONTROLES*

No *baseline*, em comparação com o grupo CS, o grupo de pacientes PEP apresentou redução difusa de FA ($p < 0,05$, FDR) afetando principalmente: SB pré-frontal, fascículo uncinado (FU), radiação talâmica anterior/ seguimento anterior da cápsula interna (RTA/SACI), trato córtico-espinhal, fascículo superior longitudinal (FLS), fascículo fronto-occipital inferior (FFOI) e o fascículo longitudinal inferior (FLI), bilateralmente (vide Figura 3 e Tabela 2). Além disso, os pacientes apresentaram um único cluster de aumento de TR em relação aos CS no limiar estatístico flexível ($p < 0,001$, não corrigido), localizado na SB do giro frontal médio (vide Tabela 2).

Figura 3. Comparação entre os grupos PEP e CS dos mapas de FA no *baseline* (T0). Mapa de FA mostrando redução difusa de anisotropia em PEP, afetando principalmente SB fronto-límbica e fascículos associativos, projetivos e comissurais longos ($p < 0,05$, corrigido por FDR). Cores azuis representam redução de FA em pacientes em relação aos CS, enquanto que tons amarelos para vermelhos representam

aumento de FA em pacientes em relação aos CS. A intensidade das cores representa os valores do teste-t de Student (i.e., quanto mais intensa a cor, maior é o valor do teste). Resultados foram sobrepostos em cortes axiais do atlas JHU de tractografia de SB (Wakana et al, 2004). Detalhes para cada cluster significante são apresentados na Tabela 2.

PEP: primeiro-episódio psicótico; CS: controles saudáveis; FA: anisotropia fractional; SB: substância branca; FDR: *false-discovery ratio*.

Tabela 2. Comparação entre grupos os grupo de PEP e de CS dos mapas de FA e TR no *baseline* (T0).

<i>FA (PEP<CS)</i>	<i>Coordenadas</i>				
	<i>MNI</i>				
<i>Localização Anatômica</i>	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	<i>N</i>	<i>t</i>
<i>Hemisfério Esquerdo</i>					
<i>Fibras projetivas</i>					
Radiação talâmica anterior	-6	-4	8	61	-4,289
Radiação talâmica anterior	-28	-34	4	8	-4,139
Trato córtico-espinal	-6	-36	-38	3	-3,687
<i>Fibras associativas</i>					
Fórnix / <i>Stria terminalis</i>	-30	-24	-8	82	-5,096
Fascículo fronto-occipital inferior / Fascículo longitudinal inferior	-30	-52	14	47	-4,732
Cíngulo	-8	34	14	19	-3,993
Cíngulo	-12	-62	46	15	-3,933
Fascículo longitudinal superior (parte temporal)	-48	10	12	7	-3,564
Fascículo uncinado / Fascículo longitudinal inferior	-22	10	-12	5	-3,666
Cíngulo (hipocampo)	-24	-26	-20	3	-3,834
Fascículo longitudinal inferior	-46	-24	-16	2	-3,600
<i>SB lobar</i>					
Giro frontal médio	-34	24	36	18	-4,046
Lóbulo justapositional	-6	-6	58	17	-4,098
Giro frontal médio	-30	0	42	8	-4,063
<i>Hemisfério Direito</i>					
<i>Fibras projetivas</i>					
Pedúnculo cerebelar inferior	16	-26	-38	42	-6,019
Segmento anterior da cápsula interna / Radiação talâmica anterior	10	0	0	26	-4,015

Trato córtico-espinal / SB do giro pré-central	16	-24	60	7	-4,054
Fibras associativas					
Fascículo fronto-occipital inferior / Fascículo longitudinal superior	34	-46	16	115	-4,433
Fascículo fronto-occipital inferior	32	-20	-6	43	-4,984
Fascículo longitudinal superior	46	-50	36	26	-4,443
Fascículo uncinado / Fascículo longitudinal inferior	38	-4	-22	9	-3,931
Fascículo longitudinal superior (parte temporal)	42	16	14	7	-3,927
Fascículo longitudinal superior	56	-52	-2	2	-3,661
Fibras Comissurais					
Fórceps major	22	-76	8	7	-4,044
SB lobar					
Cerebelo	10	-54	-30	6	-4,065
Região fronto-orbital	28	8	-14	7	-3,696
Cerebelo	40	-66	-34	2	-3,605
Lobo occipital	54	-60	30	2	-3,968
Giro frontal superior	24	6	56	2	-3,751
<hr/>					
TR (PEP>HC)	Coordenadas MNI				
Localização Anatômica	x	y	z	N	t
Hemisfério Direito					
SB lobar					
Giro frontal médio	-40	26	38	11	5,604

* p (corrigido por FDR)=0,75

FA: anisotropia fracional; TR: *trace*; PEP: primeiro episódio psicótico; CS: controle saudável; SB: substância branca; FDR: *false discovery rate*; N: número de voxels significantes em cada região anatômica; Coordenadas MNI representam o local do voxel de pico estatístico; t: resultado do t-teste. Por questão de clareza, clusters localizados de maneira próxima no mesmo trato/região de SB foram mesclados ao cluster de maior significância.

4.2.1.2 - CORRELAÇÕES ENTRE VARIÁVEIS CLÍNICAS E ÍNDICES DE DTI PARA O GRUPO DE PACIENTES

Nenhuma correlação entre os índices de FA e TR e as variáveis clínicas investigadas no *baseline* (DUP e escores da PANSS) sobreviveram à correção por FDR. No nível estatístico menos restritivo ($p < 0,001$, não corrigido), maior tempo de DUP correlacionou-se com valores de FA menores no feixe do cíngulo esquerdo e com valores de TR maiores no trato córtico-espinal esquerdo, FLS direito e FFOI direito (vide Tabela 3). Também no limiar estatístico não corrigido, escores mais elevados de sintomas negativos se correlacionaram com menor anisotropia no FLS esquerdo e na SB parahipocampal direita, assim como com menores valores de TR na RTA esquerda e FLI direito. Menores valores de TR nos FLI/FFOI direitos se correlacionaram com sintomas positivos mais intensos, assim como menor difusividade se correlacionou com maiores escores totais de PANSS no FLS direito. Em um padrão oposto de correlação, valores mais altos de TR no pedúnculo cerebelar médio direito foram correlacionados com escores maiores de PANSS total e geral, assim como valores mais altos na RTA direita se correlacionaram com escores maiores de PANSS geral.

Tabela 3. Correlações entre variáveis clínicas e índices de DTI no *baseline* (T0) para o grupo de pacientes com PEP.

FA		Coordenadas MNI				
Localização Anatômica		x	y	z	N	ρ
DUP		p<0,001 (não corrigido)				
Hemisfério Esquerdo						
Fibras associativas						
Cíngulo		-14	10	34	18	-0,675
nPANSS		p<0,001 (não corrigido)				
Hemisfério Esquerdo						
Fibras associativas						
Fascículo superior longitudinal		-50	-62	38	38	-0,789
Hemisfério Direito						
SB lobar						
SB parahipocampal		18	-22	-26	11	-0,688
TR		Coordenadas MNI				
Localização Anatômica		x	y	z	N	ρ
DUP		p<0,001 (não corrigido)				
Hemisfério Esquerdo						
Fibras projetivas						
Trato córtico-espinhal		-26	-26	44	32	0,778
Hemisfério Direito						
Fibras associativas						
Fascículo longitudinal superior		48	-8	22	56	0,744
Fascículo fronto-occipital inferior		36	-76	-10	11	0,767
Fascículo fronto-occipital inferior		-18	-50	36	11	0,763

Fascículo longitudinal superior	56	-48	-16	10	0,699
gPANSS	<i>p<0,001 (não corrigido)</i>				
<i>Hemisfério Direito</i>					
<i>Fibras projetivas</i>					
Pedúnculo cerebelar médio	26	-42	-38	12	0,754
Radiação talâmica anterior	24	14	16	11	0,733
nPANSS	<i>p<0,001 (não corrigido)</i>				
<i>Hemisfério Esquerdo</i>					
<i>Fibras projetivas</i>					
Radiação talâmica anterior	-12	0	8	17	-0,753
<i>Hemisfério Direito</i>					
<i>Fibras associativas</i>					
Fascículo longitudinal inferior	34	-66	26	17	-0,748
pPANSS	<i>p<0,001 (não corrigido)</i>				
<i>Hemisfério Direito</i>					
<i>Fibras associativas</i>					
Fascículo longitudinal inferior / fascículo fronto-occipital inferior	28	-80	4	25	-0,813
tPANSS	<i>p<0,001 (não corrigido)</i>				
<i>Hemisfério Direito</i>					
<i>Fibras projetivas</i>					
Pedúnculo cerebelar médio	24	-40	-38	12	0,734
<i>Fibras associativas</i>					
Fascículo longitudinal superior	32	-68	26	16	-0,705

FA: anisotropia fracional; TR: *trace*; PEP: primeiro episódio psicótico; SB: substância branca; FDR: *false discovery rate*; N: número de voxels significantes em cada região anatômica; Coordenadas MNI representam o local do voxel de pico estatístico; p: coeficiente rho de Spearman; DUP: duração de psicose não tratada; PANSS: *Positive and Negative Syndrome Scale*; pPANSS: escore para sintomas positivos; nPANSS: escore para sintomas negativos; gPANSS: escore de sintomas gerais; tPANSS: escore total da PANSS. Por questão de clareza, clusters localizados de maneira próxima no mesmo trato/região de SB foram mesclados ao cluster de maior significância.

4.2.2 – ANÁLISES DA ATIVIDADE DE PLA2: COMPARAÇÕES ENTRE OS GRUPOS

Não houve diferenças significativas entre os grupos em relação aos níveis de atividade de PLA2 plaquetária (subtipos ou total) no *baseline* (vide Tabela 4 e Figura 4).

Tabela 4. Comparações entre os grupos de PEP e de CS da atividade de PLA2 no *baseline* (T0).

	PEP T0 (n=26)	CS T0 (n=47)	Teste estatístico (PEP T0 vs. CS T0)
cPLA2 (média±dp)	5,264±1,999	5,267±2,135	t=-0,006, gl=71, p=0,995
iPLA2 (média±dp)	1,881±1,699	1,536±0,821	t=0,968, gl=31,59, p=0,341
sPLA2 (média±dp)	11,738±5,038	12,186±6,129	Teste U de Mann-Whitney, p=0,927
tPLA2 (média±dp)	18,883±5,990	18,992±6,512	t=-0,070, gl=71, p=0,944

PLA2: fosfolipase A2; cPLA2: PLA2 intracelular cálcio-independente iPLA2: PLA2 intracelular cálcio-independente; sPLA2: PLA2 extracelular cálcio-dependente; tPLA2: soma das atividades dos subtipos de PLA2; PEP: primeiro episódio psicótico; CS: controle saudável; T0: dados no início do estudo; dp: desvio padrão; t: valor do teste t; ; gl: graus de liberdade.

Figura 4. Diagrama em *box-plot* dos níveis de atividade de PLA2 dos sujeitos PEP e CS no *baseline* (T0). Gráfico demonstrando mediana e interquartis das medidas de atividade de PLA2 plaquetária (total e subtipos) nos pacientes e controles ao adentrarem o estudo.

PEP: primeiro-episódio psicótico; CS: controles saudáveis; PLA2: fosfolipase A2; cPLA2: PLA2 intracelular cálcio-independente iPLA2: PLA2 intracelular cálcio-independente; sPLA2: PLA2 extracelular cálcio-dependente; tPLA2: soma da atividade dos subtipos de PLA2.

4.2.3 - CORRELAÇÕES ENTRE ÍNDICES DE DTI E ATIVIDADE DE PLA2 PARA O GRUPO DE PACIENTES

Para as correlações *voxelwise* entre atividade de PLA2 e mapas de DTI no *baseline* para o grupo de pacientes, no limiar estatístico menos rígido ($p < 0,001$), observamos correlações negativa entre valores de FA e a atividade do subtipo

intracelular cálcio-dependente (em clusters localizados no lobo parietal esquerdo e no FLS direito) e da atividade total de PLA2 (FFOI direito) (vide Tabela 5). Nenhuma correlação significativa emergiu nas análises de TR.

Tabela 5. Correlações entre os índices de DTI e a atividade de PLA2 no *baseline* (T0) para o grupo de pacientes com PEP.

FA		Coordenadas MNI			
Localização Anatômica	X	y	z	N	ρ
iPLA2					p<0,001 (não corrigido)
Hemisfério Esquerdo					
SB lobar					
Lobo parietal	-46	-40	44	19	-0,754
Lobo parietal superior	-26	-54	54	10	-0,731
Hemisfério Direito					
Fibras associativas					
Fascículo longitudinal superior	50	-46	38	10	-0,729
tPLA2					p<0,001 (não corrigido)
Hemisfério Direito					
Fibras associativas					
Fascículo fronto-occipital inferior	40	30	6	15	-0,782

FA: anisotropia fracional; PEP: primeiro episódio psicótico; SB: substância branca; N: número de voxels significantes em cada região anatômica; Coordenadas MNI representam o local do voxel de pico estatístico; ρ: coeficiente rho de Spearman; iPLA2: atividade de PLA2 intracelular cálcio-independente; tPLA2: soma das atividades de todos os subtipos de PLA2. Por questão de clareza, clusters localizados de maneira próxima no mesmo trato/região de SB foram mesclados ao cluster de maior significância.

4.3 - ANÁLISES ESTATÍSTICAS LONGITUDINAIS

4.3.1 – ANÁLISES DE DTI VOXEL-A-VOXEL

4.3.1.1 - COMPARAÇÕES ENTRE OS GRUPOS: PACIENTES VS. CONTROLE

Em relação a comparação dos mapas de taxa de mudança, o grupo de pacientes em PEP mostraram três clusters de aumento de FA ao longo do tempo no limiar menos conservador ($p<0,001$, não corrigido) em relação aos CS, localizados na RTA direita, FU/FFOI direito e no FFOI/FLI esquerdo (vide Figura 5 e Tabela 6). Para os mapas de mudança de TR, nenhuma diferença significativa foi observada entre os grupos PEP e CS.

Figura 5. Comparação longitudinal entre os grupos de PEP e de CS dos mapas de FA. Mapa de taxa de mudança de FA demonstrando aumento de anisotropia em pacientes ao longo do tempo, especificamente na radiação talâmica anterior direita, fascículo uncinado/ fascículo fronto-occipital inferior direito e fascículo fronto-occipital inferior/ fascículo longitudinal inferior direito ($p < 0,001$, não corrigido). Cores azuis representam redução de FA em pacientes em relação aos CS ao longo do tempo, enquanto que tons amarelos para vermelhos representam aumento de FA em pacientes em relação aos CS ao longo do tempo. A intensidade das cores representa os valores do teste-t de Student (i.e., quanto mais intensa a cor, maior é o valor do teste). Resultados foram sobrepostos em cortes axiais do atlas JHU de tractografia de SB (Wakana et al, 2004). Detalhes para cada cluster significativo são apresentados na tabela 4.

PEP: primeiro-episódio psicótico; CS: controles saudáveis; FA: anisotropia fractional; SB: substância branca; FDR: *false-discovery ratio*.

Tabela 6. Comparação entre os grupos de PEP e de CS dos mapas de taxas de mudanças longitudinais de FA e TR.

<i>Taxa de mudança de FA (PEP>CS)</i>		<i>Coordenadas MNI</i>			<i>N</i>	<i>t</i>
<i>Localização Anatômica</i>		<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>		
<i>Hemisfério Esquerdo</i>						<i>P<0,001 (não corrigido)*</i>
<i>Fibras associativas</i>						
Fascículo fronto-occipital inferior / fascículo longitudinal inferior		-32	-46	6	12	4,726
<i>Hemisfério Direito</i>						
<i>Fibras projetivas</i>						
Radiação talâmica anterior		12	-2	6	16	4,343
<i>Fibras associativas</i>						
Fascículo uncinado / fascículo fronto-occipital inferior		26	14	-8	12	4,579

* *p* (corrigido por FDR)=0,29

FA: anisotropia fracional; TR: *trace*; PEP: primeiro episódio psicótico; CS: controle saudável; SB: substância branca; FDR: *false discovery rate*; *N*: número de voxels significantes em cada região anatômica; Coordenadas MNI representam o local do voxel de pico estatístico; *t*: resultado do t-teste. Por questão de clareza, clusters localizados de maneira próxima no mesmo trato/região de SB foram mesclados ao cluster de maior significância.

4.3.1.2 - CORRELAÇÕES ENTRE VARIÁVEIS CLÍNICAS E ÍNDICES DE DTI PARA O GRUPO DE PACIENTES

A melhora dos sintomas psicóticos ao longo do tempo se correlacionou significativamente ($p < 0,05$, corrigido por FDR) com aumento de FA em um número vasto de tratos de SB (vide Figura 6). Como achados principais, reduções em escore de PANSS total estão associados com aumento longitudinal de FA bilateralmente na RTA, trato córtico-espinhal, CC, SB fronto-temporal, FLS, FFOI/FLI e FU/FLI. Nós também encontramos correlações significativas entre reduções nos subitens da PANSS (positiva, negativa e geral) e aumentos de FA em tais tratos (vide Tabela 7 para informações detalhadas).

Figura 6. Correlações entre as taxas de mudanças longitudinais dos escores totais da PANSS e de FA para o grupo de pacientes. Mapa de FA demonstrando clusters de correlação negativa significativa entre mudanças de anisotropia e da PANSS total ao longo do tempo em PEP ($p < 0.05$, corrigido por FDR). Cores azuis representam correlações negativas entre redução de sintomas e aumento de FA ao longo do tempo, ao passo que cores vermelho-amarelas representam correlações positivas. A intensidade

das cores representa os valores coeficiente rho de Spearman (i.e., quanto mais intensa a cor, maior é o valor do coeficiente). Resultados foram sobrepostos em cortes axiais do atlas JHU de tractografia de SB (Wakana et al, 2004). Detalhes para cada cluster significativo são apresentados na tabela 5.

PEP: primeiro-episódio psicótico; FA: anisotropia fractional; PANSS: *positive and negative syndrome scale*; SB: substância branca; FDR: *false-discovery ratio*.

Tabela 7. Correlações entre as taxas de mudanças longitudinais das variáveis clínicas e dos índices de DTI para o grupo de pacientes com PEP.

<i>FA</i>	<i>Coordenadas MNI</i>			<i>N</i>	<i>p</i>
<i>Variável Clínica / Localização Anatômica</i>	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>		
<i>gPANSS</i>					<i>p<0.05 (FDR)</i>
<i>Hemisfério Esquerdo</i>					
<i>Fibras projetivas</i>					
Pedúnculo cerebelar médio	-6	-44	-40	4	-0.791
Trato córtico-espinhal / Parte retrolenticular da cápsula interna	-24	-18	0	3	-0.813
<i>Fibras associativas</i>					
Fascículo longitudinal superior	-42	-50	32	28	-0.832
Fascículo fronto-occipital inferior / Fascículo uncinado	-24	12	-4	3	-0.761
<i>Fibras comissurais</i>					
Esplênio do corpo caloso	-18	-38	26	10	-0.886
Fórcex minor	-12	52	20	4	-0.803
Fórcex major / Cíngulo (hipocampo)	-14	-50	8	3	-0.810
Fórcex minor (Joelho do corpo caloso) (bilateral)	0	26	0	2	-0.748
Fórcex major (esplênio do corpo caloso)	-20	-54	12	2	-0.806
<i>SB lobar</i>					
SB frontal	-30	0	58	4	-0.770
<i>Hemisfério Direito</i>					
<i>Fibras associativas</i>					
Fascículo uncinado / Fascículo fronto-occipital inferior	26	16	-8	16	-0.798
Fascículo longitudinal superior	28	-56	24	3	-0.760
<i>Fibras comissurais</i>					
Corpo do corpo caloso	2	12	24	13	-0.867
Fórcex minor	16	58	6	8	-0.802
Fórcex major (esplênio do corpo caloso)	12	-38	8	2	-0.728

<i>SB lobar</i>					
SB frontal	46	14	20	11	-0.821
SB cerebelar	30	-64	-40	6	-0.793
SB frontal	16	-6	62	3	-0.837
<hr/>					
<i>nPANSS</i>	<i>p<0.05 (FDR)</i>				
<i>Hemisfério Esquerdo</i>					
<i>Fibras projetivas</i>					
Trato córtico-espinhal	-6	-32	-26	7	-0.846
Radiação talâmica anterior	-16	18	6	6	-0.805
Radiação talâmica anterior	-18	-32	14	4	-0.772
Trato córtico-espinhal	-20	-34	50	4	-0.779
Pedúnculo cerebelar superior	-6	-52	-32	2	-0.736
<i>Fibras associativas</i>					
Fascículo uncinado / Fascículo longitudinal inferior	-38	10	-32	20	-0.844
Fascículo longitudinal superior	-16	18	36	4	-0.816
Cíngulo (giro do cíngulo)	-14	24	24	4	-0.787
Fascículo longitudinal inferior	-14	-66	-2	2	-0.745
Fascículo longitudinal superior	-30	-34	28	2	-0.767
<i>Fibras comissurais</i>					
Fórceps minor / Radiação talâmica anterior	-24	50	12	2	-0.754
<i>SB lobar</i>					
SB frontal	-32	26	38	7	-0.841
<i>Hemisfério Direito</i>					
<i>Fibras projetivas</i>					
Porção posterior da cápsula interna	16	-6	8	2	-0.746
<i>Fibras associativas</i>					
Fascículo longitudinal superior	54	-18	-24	3	-0.762
Fascículo longitudinal superior	56	-16	32	3	-0.824

Fascículo longitudinal superior	44	10	18	2	-0.806
<i>Fibras comissurais</i>					
Fórcps minor	16	36	12	17	-0.840
Esplênio do corpo caloso	14	-36	26	4	-0.814
Fórcps major / Fascículo fronto-occipital inferior	32	-56	12	2	-0.740
<i>SB lobar</i>					
SB temporal	52	-12	-28	4	-0.809
SB cerebelar	16	-68	-30	2	-0.767
SB frontal	10	22	-10	2	-0.755
<hr/>					
<i>pPANSS</i>					<i>p<0.05 (FDR)</i>
<i>Hemisfério Esquerdo</i>					
<i>Fibras projetivas</i>					
Radiação talâmica anterior	-44	-18	24	7	-0.832
Radiação talâmica anterior	-26	-34	-4	2	-0.743
Radiação talâmica anterior	-12	12	0	2	-0.745
<i>Fibras associativas</i>					
Cíngulo (giro do cíngulo)	-14	-50	48	6	-0.788
Fascículo fronto-occipital inferior / Fascículo longitudinal inferior	-40	-34	-4	4	-0.802
Fascículo uncinado / Fascículo longitudinal superior	-40	18	14	4	-0.832
Cíngulo (giro do cíngulo)	-12	26	32	2	-0.751
Fascículo longitudinal superior	-32	-18	30	2	-0.763
<i>Fibras comissurais</i>					
Fórcps minor / Cíngulo (giro do cíngulo)	-12	32	14	11	-0.805
Fórcps major	-28	-50	16	2	-0.748
Fórcps minor / Radiação talâmica anterior	22	36	20	2	-0.754
<i>SB lobar</i>					
SB parietal	-48	-24	48	23	-0.844
SB frontal	-26	10	54	9	-0.823

SB frontal	-4	20	-4	5	-0.798
Hemisfério Direito					
Fibras projetivas					
Radiação talâmica anterior / Fascículo fronto-occipital inferior	26	46	6	8	-0.828
Fibras associativas					
Fascículo uncinado	10	28	-16	2	-0.742
Fibras comissurais					
Fórcex menor / Fascículo uncinado	16	50	-10	3	-0.761
SB lobar					
SB temporal	58	-20	-20	5	-0.804
SB frontal	12	20	-8	3	-0.750
SB insular	36	2	6	3	-0.786
SB occipital	38	-60	36	3	-0.774
SB frontal	14	40	40	2	-0.752
<hr/>					
tPANSS	<i>p</i><0.05 (FDR)				
Hemisfério Esquerdo					
Fibras projetivas					
Trato córtico-espinhal	-22	-32	48	15	-0.807
Trato córtico-espinhal / Parte retrolenticular da cápsula interna	-24	-18	-2	13	-0.738
Radiação talâmica anterior	-18	16	4	9	-0.719
Radiação talâmica anterior	-6	-38	-22	2	-0.742
Fibras associativas					
Fascículo longitudinal superior	-36	18	14	118	-0.849
Fascículo fronto-occipital inferior / Fascículo longitudinal inferior	-28	-74	-2	18	-0.789
Fascículo uncinado / Fascículo longitudinal inferior	-38	6	-30	9	-0.738
Cíngulo (giro do cíngulo)	-14	-50	48	3	-0.711
Cíngulo (hipocampo)	-18	-40	-8	4	-0.729
Fascículo fronto-occipital inferior / Radiação talâmica anterior	-22	40	-4	2	-0.698

Fibras comissurais

Fórcps minor	-10	58	20	51	-0.838
Corpo do corpo caloso	-14	18	22	26	-0.741
Esplênio do corpo caloso	-16	-38	28	23	-0.859
Fórcps minor	-6	34	-2	8	-0.742
Fórcps major / Cíngulo (hipocampo)	-14	-50	8	7	-0.762
Fórcps minor	14	28	18	3	-0.698
Fórcps minor (Joelho do corpo caloso) (bilateral)	0	26	0	2	-0.711

SB lobar

SB frontal	-14	26	34	57	-0.766
SB frontal	-32	-12	52	15	-0.780
SB parietal	-52	-32	30	7	-0.762
SB frontal	-14	32	-16	6	-0.748
SB frontal	-4	14	-8	5	-0.824
SB occipital	-4	-46	-40	5	-0.772
SB occipital	-26	-64	36	5	-0.770
SB temporal	-52	-52	-16	3	-0.727
SB temporal	-24	-46	20	2	-0.722

Hemisfério Direito***Fibras projetivas***

Trato córtico-espinhal	22	-58	-44	8	-0.787
Radiação talâmica anterior	14	-8	10	5	-0.720
Trato córtico-espinhal / Porção posterior da cápsula interna	26	-22	18	3	-0.719

Fibras associativas

Fascículo longitudinal superior	44	14	18	26	-0.787
Fascículo fronto-occipital inferior	32	-8	-12	6	-0.749
Fascículo uncinado / Fascículo longitudinal inferior	38	2	-26	6	-0.702
Fascículo fronto-occipital inferior	30	16	6	5	-0.723

Fascículo uncinado / Fascículo fronto-occipital inferior	26	16	-10	4	-0.688
Fascículo fronto-occipital inferior / Fascículo longitudinal inferior	-32	-72	16	2	-0.687
<i>Fibras comissurais</i>					
Fórcex minor	16	34	6	40	-0.772
Esplênio do corpo caloso	14	-36	8	15	-0.779
<i>SB lobar</i>					
SB frontal	12	20	-8	30	-0.837
SB frontal	52	18	20	26	-0.807
SB temporal	58	-20	-20	16	-0.798
SB insular	36	4	6	5	-0.711
SB cerebelar	16	-68	-30	2	-0.701
<hr/>					
<i>TR</i>	<i>Coordenadas MNI</i>				
<i>Variável Clínica / Localização Anatômica</i>	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	<i>N</i>	<i>p</i>
<hr/>					
<i>gPANSS</i>	<i>p<0.001 (não corrigido)</i>				
<i>Hemisfério Direito</i>					
<i>Fibras comissurais</i>					
Fórcex minor	16	54	6	19	0.761
<hr/>					
<i>nPANSS</i>	<i>p<0.001 (não corrigido)</i>				
<i>Hemisfério Esquerdo</i>					
<i>Fibras comissurais</i>					
Fórcex minor	-8	42	-18	10	0.746
<hr/>					
<i>pPANSS</i>	<i>p<0.001 (não corrigido)</i>				
<i>Hemisfério Esquerdo</i>					
<i>SB lobar</i>					
SB parietal	-46	-24	48	10	0.780

FA: anisotropia fracional; TR: *trace*; PEP: primeiro episódio psicótico; SB: substância branca; FDR: *false discovery rate*; *N*: número de voxels significantes em cada região anatômica; Coordenadas MNI representam o local do voxel de pico estatístico; ρ : coeficiente rho de Spearman; PANSS: *Positive and Negative Syndrome Scale*; pPANSS: taxa de mudança longitudinal do escore para sintomas positivos; nPANSS: taxa de mudança longitudinal do escore para sintomas negativos; gPANSS: taxa de mudança longitudinal do escore de sintomas gerais; tPANSS: taxa de mudança longitudinal do escore total da PANSS. Por questão de clareza, clusters localizados de maneira próxima no mesmo trato/região de SB foram mesclados ao cluster de maior significância.

No limiar estatístico não corrigido ($p < 0,001$), nós também encontramos uma correlação entre melhora em sintomas psicóticos ao longo do tempo e redução de TR no fórceps minor direito (escores da PANSS geral), fórceps minor esquerdo (escores da PANSS negativa), e SB parietal esquerda (escores da PANSS positiva) (vide Tabela 7).

Também no limiar não corrigido, maiores cargas de exposição a AP se correlacionaram com reduções longitudinais de FA no pedúnculo cerebelar médio e corona radiata superior no hemisfério direito, e também com aumentos de TR no fórceps major esquerdo e no trato córtico-espinhal direito (vide Tabela 8). Neste mesmo nível estatístico, intervalo entre aquisições de RM no grupo de PEP correlacionou-se negativamente com aumentos de FA na RTA e FLS esquerdos, e positivamente com um cluster de aumento de TR no trato córtico-espinhal direito (vide Tabela 8).

Tabela 8. Correlações entre variáveis clínicas no seguimento e taxas de mudanças longitudinais dos índices de DTI para o grupo de pacientes com PEP.

FA		Coordenadas MNI				
Variável Clínica / Localização Anatômica		x	y	z	N	ρ
Carga de exposição a AP		p<0.001 (não corrigido)				
Hemisfério Direito						
Fibras projetivas						
Pedúnculo cerebelar médio		26	-48	-36	14	-0.796
Corona radiata superior		26	-2	28	12	-0.732
Intervalo entre RMs		p<0.001 (não corrigido)				
Hemisfério Esquerdo						
Fibras projetivas						
Radiação talâmica anterior		-28	-32	-6	11	-0.817
Fibras associativas						
Fascículo longitudinal superior		-44	-34	-12	19	-0.762
TR		Coordenadas MNI				
Variável Clínica / Localização Anatômica		x	y	z	N	ρ
Carga de exposição a AP		p<0.001 (não corrigido)				
Hemisfério Esquerdo						
Fibras comissurais						
Fórcex major		-18	-46	10	19	0.801
Hemisfério Direito						
Fibras projetivas						
Trato córtico-espinhal		10	-30	-40	25	0.825
Intervalo entre RMs		p<0.001 (não corrigido)				

Hemisfério Direito
Fibras projetivas

Trato córtico-espinhal	12	-32	-20	12	0.820
------------------------	----	-----	-----	----	-------

FA: anisotropia fracional; TR: *trace*; PEP: primeiro episódio psicótico; SB: substância branca; FDR: *false discovery rate*; *N*: número de voxels significantes em cada região anatômica; Coordenadas MNI representam o local do voxel de pico estatístico; ρ : coeficiente rho de Spearman; RMs: aquisição de ressonância magnética craniana; AP: medicações antipsicóticas. Por questão de clareza, clusters localizados de maneira próxima no mesmo trato/região de SB foram mesclados ao cluster de maior significância.

4.3.2 – ANÁLISES DA ATIVIDADE DE PLA2: COMPARAÇÕES ENTRE OS GRUPOS

Não houve diferenças significativas entre os grupos em relação às taxas de mudança no tempo da atividade de PLA2 plaquetária (subtipos ou total) (vide Tabela 9 e Figura 7). No entanto, em análises realizadas excluindo-se os sujeitos *outliers* extremos (quatro pacientes e dois CS), ou seja, aqueles sujeitos com valores de PLA2 localizados além do quartil limite a uma distância de mais de três vezes o intervalo interquartil, observamos uma diferença na taxa de mudança de iPLA2 ($t=-2,128$, $p=0,039$), que não sobreviveu à correção por FDR ($p=0,156$).

Tabela 9. Comparações entre os grupos de PEP e de CS das taxas de mudanças longitudinais da atividade de PLA2.

	PEP (n=21)	CS (n=35)	Teste estatístico (FEP vs. HC)
cPLA2 (média±dp)	0,109±0,348	0,105±0,410	$t=0,036$, $gl=54$, $p=0,972$
iPLA2 (média±dp)	0,315±1,143	0,301±0,976	Teste U de Mann-Whitney, $p=0,374$
sPLA2 (média±dp)	0,053±0,330	0,211±0,672	$t=-1,006$, $gl=54$, $p=0,319$
tPLA2 (média±dp)	0,052±0,278	0,133±0,374	$t=-0,865$, $gl=54$, $p=0,391$

PLA2: fosfolipase A2; cPLA2: taxa de mudança longitudinal da atividade de PLA2 intracelular cálcio-independente; iPLA2: taxa de mudança longitudinal da atividade de PLA2 intracelular cálcio-independente; sPLA2: taxa de mudança longitudinal da atividade de PLA2 extracelular cálcio-dependente; PEP: primeiro episódio psicótico; CS: controle saudável; T0: dados no início do estudo; dp: desvio padrão; t: valor do teste t; ; gl: graus de liberdade.

Figura 7. Diagrama em *box-plot* da taxa de mudança longitudinal da atividade de PLA2 dos sujeitos PEP e CS. Gráfico demonstrando mediana e interquartis das medidas de taxa de mudança da atividade de PLA2 plaquetária (total e subtipos) nos pacientes e controles ao adentrarem o estudo.

PEP: primeiro-episódio psicótico; CS: controles saudáveis; PLA2: fosfolipase A2; cPLA2: PLA2 intracelular cálcio-independente iPLA2: PLA2 intracelular cálcio-independente; sPLA2: PLA2 extracelular cálcio-dependente; tPLA2: soma da atividade do subtipos de PLA2; *: *outlier* extremo.

4.3.3 CORRELAÇÕES ENTRE AS TAXAS DE MUDANÇAS LONGITUDINAIS DOS ÍNDICES DE DTI E DA ATIVIDADE DE PLA2

Para as correlações *voxelwise* entre as taxas de mudanças longitudinais da atividade de PLA2 e dos mapas de DTI, no limiar estatístico menos rígido ($p < 0,001$), observamos correlações positivas entre a atividade de iPLA2 e valores de FA (cluster localizados no cíngulo esquerdo) e TR (clusters localizados no FLS, bilateralmente) (vide Tabela 10).

Tabela 10. Correlações entre as taxas de mudanças longitudinais dos índices de DTI e de atividade de PLA2 para o grupo de pacientes com PEP.

<i>FA</i>		<i>Coordenadas MNI</i>			
<i>Localização Anatômica</i>	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	<i>N</i>	<i>ρ</i>
<i>iPLA2</i>				<i>p<0,001 (não corrigido)</i>	
<i>Hemisfério Esquerdo</i>					
<i>Fibras associativas</i>					
Cíngulo (giro do cíngulo)	-16	-54	26	21	0,791
<i>TR</i>		<i>Coordenadas MNI</i>			
<i>Localização Anatômica</i>	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	<i>N</i>	<i>ρ</i>
<i>iPLA2</i>				<i>p<0,001 (não corrigido)</i>	
<i>Hemisfério Esquerdo</i>					
<i>Fibras associativas</i>					
Fascículo longitudinal superior	-46	-8	38	10	0,773
<i>Hemisfério Direito</i>					
<i>Fibras associativas</i>					
Fascículo longitudinal superior	42	-8	32	12	0,771

FA: anisotropia fracional; TR: *trace*; PEP: primeiro episódio psicótico; SB: substância branca; *N*: número de voxels significantes em cada região anatômica; Coordenadas MNI representam o local do voxel de pico estatístico; *p*: coeficiente rho de Spearman; iPLA2: atividade de PLA2 intracelular cálcio-independente. Por questão de clareza, clusters localizados de maneira próxima no mesmo trato/região de SB foram mesclados ao cluster de maior significância.

5 – DISCUSSÃO

Este é a primeira investigação de DTI que avaliou índices de anisotropia e difusividade em pacientes em PEP sem tratamento prévio, focando em mudanças longitudinais estado-dependentes (i.e., na psicose aguda vs. remissão sustentada de sintomas nucleares). Em linha com nossa predição inicial, correlações significativas entre reduções em escores positivos, negativos, gerais e totais da PANSS foram diretamente relacionados a aumentos longitudinais de FA em alguns dos tratos de SB envolvidos na fisiopatologia do transtorno psicótico, como o FLS, FLI, FFOI, FU, fascículo do cíngulo, RTA e CC. Nós também observamos aumento de FA ao longo do tempo em alguns destes tratos de SB ($p < 0,001$, sem correção). De acordo com nosso conhecimento, esta é a primeira demonstração de que algumas das anormalidades de SB encontradas em pacientes PEP estão diretamente associadas com a fase aguda da doença e que a remissão dos sintomas de surto ocorre em paralelo com uma aparente recuperação de tais mudanças microestruturais.

Além disso, este é o primeiro estudo especificamente desenhado para investigar alterações estado-dependentes da atividade de PLA2, assim como as interações entre a atividade enzimática e alterações microestruturais de SB em PEP. Diferentemente de nossas previsões iniciais, não observamos diferenças entre os grupos que corroborassem a hipótese de que a atividade de PLA2 fosse também estado-dependente: à entrada do estudo não houve diferença dos níveis de atividade de PLA2 plaquetária, assim como nas comparações longitudinais só foi possível encontrar diferenças para iPLA2 quando excluímos *outliers* extremos e sem haver correção para comparações múltiplas. Além disso, as análises de correlação demonstraram associações pontuais e discretas entre

índices de DTI e atividade de iPLA2 majoritariamente, e apenas no limiar estatístico não corrigido para comparações múltiplas.

A presente investigação avaliou uma amostra enriquecida de pacientes virgens de tratamento em PEP, com uma duração de doença relativamente curta (DUP de até 6 meses) e livre de transtornos do uso de substâncias. Portanto, nós pudemos evitar alterações de DTI e atividade de PLA2 relacionadas a cronicidade, exposição prévia a AP e uso problemático de drogas. Além disso, pacientes foram acessados clinicamente em uma base semanal até atingirem remissão completa e sustentada, assim evitando o risco de considerarmos uma melhora clínica transiente como sendo uma resposta clínica estável. Finalmente, uma proporção significativa dos CS também foi avaliada longitudinalmente, permitindo o controle de nossos resultados para variações ao longo do tempo que não fossem estritamente relacionadas à psicose.

5.1 – MUDANÇAS DA MICROESTRUTURA DE SUBSTÂNCIA BRANCA CEREBRAL EM DIFERENTES FASES DAS PSICOSES NÃO-AFETIVAS

5.1.1 – CONTEXTUALIZAÇÃO DOS ACHADOS DE FASE AGUDA COM RESULTADOS DE ESTUDOS PRÉVIOS

No *baseline*, pacientes com PEP agudo demonstram reduções difusas de FA afetando principalmente SB fronto-límbica e de fascículos associativos, projetivos e comissurais extensos. Tanto as reduções de FA quanto o único foco de aumento de TR na SB do giro médio frontal (este detectado no nível estatístico sem correção) são consistentes com os achados de estudos prévios de DTI em PEP (Bora et al, 2011; Yao et al, 2013). Tais achados nos proporcionaram uma base sólida a partir da qual poderíamos investigar a reversão de índices anormais de DTI após a remissão de

sintomas, assim como correlações entre a mudança de tais índices vs. a grau de melhora clínica.

5.1.2 – CONTEXTUALIZAÇÃO DOS ACHADOS LONGITUDINAIS COM RESULTADOS DE ESTUDOS PRÉVIOS

Todos os tratos de SB nos quais nossos pacientes PEP exibiram aumentos de FA após remissão clínica (FFOI/FLI esquerdo, RTA direita e FU/FFOI direito) já haviam sido previamente implicados na psicose (Bora et al, 2011; Yao et al, 2013). No entanto, esta é a primeira vez que se demonstra que mudanças de SB nestas estruturas cerebrais são especificamente ligadas a transição entre psicose aguda para remissão.

A RTA é parte do segmento anterior da cápsula interna (SACI), e contém fibras axonais dos núcleos do tálamo para os córtices pré-frontal e do cíngulo anterior (CCA), estando envolvida em funções executivas e na memória (Mamah et al, 2010). Sabe-se que pacientes com esquizofrenia apresentam déficits significativos de memória e de desempenho executivo, e estudos longitudinais demonstraram que tais funções são mais afetadas durante a fase aguda da doença (Bates et al, 2004; Klingberg et al, 2008). Estudos de neuroimagem têm demonstrado anormalidades estruturais e microestruturais na RTA/SACI de pacientes com esquizofrenia, que se correlacionam com pior desempenho em testes executivos e de memória (Levitt et al, 2010 e 2012; Mamah et al, 2010). Além disso, pacientes com esquizofrenia apresentam distúrbios da conectividade estrutural e funcional entre o córtex frontal e o tálamo (Marenco et al, 2012; Kubota et al, 2013; Anticevic et al, 2014; Wagner et al, 2015), e tais anormalidades parecem afetar a performance da memória de trabalho (Marenco et al, 2012). Ainda mais, uma investigação recente demonstrou que o nível de anisotropia na RTA está correlacionado com a pontuação de sintomas positivos (Ebdrup et al, 2016).

Os tratos de SB associativos nos quais aumentos de FA foram observados ao longo do tempo (FFOI, FU e FLI) conectam áreas frontais, temporais, parietais e occipitais, e estão implicados em várias funções cognitivas, como processamento visuo-espacial, regulação emocional, memória e linguagem (Catani & Schotten, 2008; Ćurčić-Blake et al, 2015). Demonstrou-se consistentemente que a conectividade estrutural e funcional destas redes está prejudicada (Allen et al, 2012; Ćurčić-Blake et al, 2013). Por exemplo, reduções de FA em FFOI, FU e RTA esquerdos foram associados com alucinações auditivas verbais em pacientes com esquizofrenia (Ćurčić-Blake et al, 2015; Oestreich et al, 2016) e anormalidades microestruturais no FU esquerdo foram associadas a sintomas negativos (Kitis et al, 2012; Lei et al, 2015). Interessantemente, reduções nos escores negativos da PANNS ao longo do tempo foram correlacionadas significativamente com aumentos de FA no FU/FFOI na presente investigação.

Em termos gerais, as correlações negativas entre a redução de sintomas e o aumento de FA ao longo do tempo encontradas no presente estudo corroboram nossa hipótese de que as alterações de DTI observadas refletem abnormalidades de SB subjacentes à emergência de sintomas psicóticos. É importante ressaltar que nenhuma correlação foi observada na direção oposta, i.e., o aumento de FA ao longo do tempo foi invariavelmente relacionado com a redução de sintomas. Ademais, as regiões nas quais observamos aumento de FA longitudinalmente também se correlacionaram com a redução dos escores da PANSS. Além disso, o fato de nenhuma correlação que sobrevivesse à correção por FDR ter sido encontrada entre as mudanças longitudinais em FA e a carga total de AP até o seguimento sugere fortemente que o aumento de FA está primariamente relacionado à melhora clínica e não à exposição aos neurolépticos.

Há poucos estudos longitudinais de DTI em pacientes PEP (Wang et al, 2013; Reis Marques et al, 2014; Szeszko et al, 2014; Ebdrup et al, 2016; Zeng et al, 2016).

Todos eles foram desenhados para examinar os efeitos do tratamento com AP nos índices de anisotropia e difusividade e todos empregaram um intervalo fixo de tempo para avaliação no seguimento. Conforme descrito na *Introdução* (item 1.3.5), os resultados destes estudos são altamente heterogêneos com relação à direção (i.e., aumento ou redução de FA) e à localização topográfica dos achados no cérebro. Dois estudos observaram que 6 ou 12 semanas de tratamento com AP estava associado com redução de FA ao longo do tempo (Wang et al, 2013; Szeszko et al, 2014), enquanto que duas outras investigações encontram aumento de FA após exposição a AP por 6 ou 12 semanas (Reis Marques et al, 2014; Ebdrup et al, 2016). O quinto estudo (Zeng et al, 2016) não encontrou diferenças em pacientes PEP em relação a controles após 8 semanas de uso de AP. Além disso, em quatro destas investigações, nenhuma correlação significativa entra as mudanças pré vs. pós-tratamento de FA e redução de sintomas foi observada (Wang et al, 2013; Reis Marques et al, 2014; Szeszko et al, 2014; Ebdrup et al, 2016). Curiosamente, Zeng et al (2016) observaram uma correlação negativa entre mudanças longitudinais dos valores de FA e mudanças nos sintomas positivos ao longo do tempo, ou seja, quanto mais os sintomas se reduziram após o início de exposição a AP, maior foi o aumento dos valores de FA.

Novamente, é importante notar que tais estudos foram desenhados para avaliar mudanças de DTI associadas à exposição a AP e, portanto, elas não podem ser diretamente comparadas à nossa investigação. Mais importante, pacientes PEP foram re-escaneados após um período fixo de tempo em todos os estudos prévios, a despeito de seu estado clínico no momento da segunda sessão de RM (i.e., nem todos os pacientes haviam atingido remissão clínica). Sendo assim, é possível que tais investigações não dispusessem de sensibilidade suficiente para detectar mudanças de DTI estado-dependentes especificamente relacionadas à melhora de sintomas psicóticos,

como aqui investigado. Há outras limitações que devem ser ponderadas na interpretação dos resultados destes estudos: três deles arrolaram pacientes com PEP que haviam sido previamente expostos a AP ou outras medicações psicotrópicas e/ou sujeitos com comorbidade com transtornos do uso de substância (Reis Marques et al, 2014; Szeszko et al, 2014; Ebdrup et al, 2016; Zeng et al, 2016); em Reis Marques et al (2014), os CS foram escaneados apenas ao adentrar o estudo. Além disso, em três dos estudos prévios, alguns dos pacientes apresentavam sintomas psicóticos por mais de um ano no momento em que a primeira aquisição foi feita (Szeszko et al, 2014; Ebdrup et al, 2016; Zeng et al, 2016), sendo assim possível que seus resultados tenham sido afetados pelos efeitos da cronicidade do transtorno.

Por outro lado, uma investigação recentemente publicada com pacientes em alto risco para o desenvolvimento de psicoses observou aumento de FA no CC dos sujeitos que não converteram para um quadro pleno de psicose (Katagiri et al, 2015). Além disso, o aumento longitudinal de FA se correlacionou significativamente com a melhora de sintomas positivos sub-clínicos ao longo do tempo (Katagiri et al, 2015). Apesar de ser uma investigação com um grupo de sujeitos ainda sem um diagnóstico de transtorno psicótico estabelecido, tais achados são convergentes com nossa visão de que mudanças em índices de DTI poderiam de alguma forma refletir processos neurobiológicos relacionados à psicose aguda.

5.1.3 – DIFERENÇA DE SENSIBILIDADE ENTRE OS ÍNDICES DE ANISOTROPIA E DE DIFUSIVIDADE

De forma geral, nossos resultados sugerem que as anormalidades de anisotropia são mais pronunciadas na psicose aguda do que as alterações de difusividade. Poucos estudos acessaram medidas de difusividade em PEP (Ruef et al,

2012; Lee et al, 2013; Filippi et al, 2014; Zeng et al, 2016). Lee et al (2013) observaram aumentos difusos de TR acometendo virtualmente toda a SB cerebral. Ruef et al (2012) encontraram uma tendência em direção ao aumento de MD no FLS e no pedúnculo cerebelar médio direitos; Filippi (2014) observou aumento de MD bilateralmente no fórnix e radiação talâmica ao mesmo tempo que diversas outras regiões cerebrais apresentavam redução de MD; e Zeng et al (2016) encontraram aumento de MD bilateralmente na RTA, FFOI esquerda e à direita no FLI, fórceps major e minor. Em nosso estudo, nenhuma região de diferença em TR entre os grupos sobreviveu à correção para comparações múltiplas. Também, nenhuma correlação entre mapas de TR e variáveis clínicas sobreviveu à correção por FDR. Além disso, tais correlações não apresentaram um padrão consistente de associação, i.e., encontramos correlações positivas e negativas entre TR e escores de sintomas, o mesmo ocorrendo para as correlações entre mudanças de TR e de sintomas ao longo do tempo. Em três das quatro investigações prévias (Ruef et al, 2012; Lee et al, 2013; Zeng et al, 2016), não houve correlações entre os índices de difusividade e o nível de sintomas; apenas Filippi et al (2014) encontrou correlações inversas entre MD e sintomas. Tal heterogeneidade em investigações de índices de difusividade em PEP pode ser parcialmente explicada pela baixa sensibilidade de MD a danos patológicos em comparação com FA, como observado em pacientes com esclerose múltipla (Sbardella et al, 2013).

5.1.4 – IMPLICAÇÕES NEUROBIOLÓGICAS

Índices de anisotropia cerebral refletem principalmente mielinização e integridade de membrana axonal, indiretamente representando o grau de densidade de fibras e a organização tecidual nos tratos de SB (Beaulieu, 2002; Concha et al, 2010; Jones et al, 2013). Estudos *post-mortem* sugerem que a esquizofrenia está associada

com abnormalidades de mielina/oligodendrócitos (Takahashi et al, 2011), que se crê resultarem de alterações dos processos de neurodesenvolvimento ou em consequência à inflamação associada à psicose aguda (Najjar & Perlmann, 2015). A oligodendroglia tem um vasto número de células progenitoras que podem reparar danos à bainha de mielina (Bartzokis, 2012). Estudos animais sugerem que AP podem restaurar a mielina (Xiao et al, 2008; Zhang et al, 2012), assim como produzem efeitos inibitórios na micróglia ativada (Monji et al, 2013). Os AP parecem promover mielinização através da inibição da enzima glicogênio sintase quinase-3 (*glycogen synthase kinase-3*, GSK) (Bartzokis, 2012). Portanto, pode-se hipotetizar que os aumentos de FA observados após a remissão de sintomas em nossa amostra de pacientes psicóticos poderia refletir a reparação de mielina promovida por tais medicações, o que poderia consequentemente restaurar a conectividade estrutural e funcional nos tratos de SB afetados. Em acordo com tal racional, estudo longitudinal de DTI avaliando pacientes com esclerose múltipla demonstrou que a remielinização após a apresentação de lesões agudas é principalmente caracterizado por aumento de FA e níveis de difusividade estáveis (Fox et al, 2011).

5.1.5 – CONSIDERAÇÕES SOBRE ALTERAÇÕES ESTADO-DEPENDENTES EM FACE DAS EVIDÊNCIAS DE PROGRESSÃO DE ANORMALIDADES CEREBRAIS NAS PSICOSES

Progressão de alterações cerebrais volumétricas e de DTI tem sido consistentemente documentada após o início da esquizofrenia ou de psicoses afetivas, particularmente para aqueles pacientes com curso sem remissão de doença (Hulshoff Pol & Kahn, 2008; Olabi et al, 2011; Rosa et al, 2015; Sun et al, 2016). Diversos mecanismos foram propostos para explicar tais achados, incluindo alterações no neurodesenvolvimento e distúrbios de neuroplasticidade com aumento de inflamação e baixa resiliência a insultos celulares (Haroutunian et al, 2014; Najjar & Perlmann,

2015). Curiosamente, uma investigação combinando avaliação genética e RM funcional em estado de repouso demonstrou que genes implicados na potenciação de longo termo relacionada a NMDA, sinalização de proteína quinase A (PKA, *protein kinase A*), resposta imune/ inflamação, sinaptogênese e direcionamento de axônios mediarão a alteração de conectividade funcional observada na esquizofrenia e em pacientes bipolares psicóticos (Meda et al, 2014). Assim, mudanças dinâmicas nestes sistemas celulares podem subjazer tanto nossos achados de alterações de FA estado-dependentes, que se correlacionaram significativamente com melhora de sintomas em pacientes PEP, quanto as anormalidades de SB progressivas que vem sendo observadas em pacientes com doença psicótica crônica/ recorrente. Neste sentido, uma aparente recuperação de dano microestrutural encontrado no nosso estudo não desafia a noção de um mecanismo progressivo na fisiopatologia da esquizofrenia; em verdade, isto apenas lança luz em outro provável processo que geralmente ocorre em doenças crônicas (como na esclerose múltipla, por exemplo): a agudização de sintomas clínicos refletindo a agudização de dano tecidual.

5.2 – ANORMALIDADES NA ATIVIDADE DE PLA2 EM DIFERENTES FASES DE PSICOSES NÃO-AFETIVAS

5.2.1 – CONTEXTUALIZAÇÃO DOS ACHADOS DE FASE AGUDA COM RESULTADOS DE ESTUDOS PRÉVIOS

Em dissonância com os estudos prévios examinando a atividade de PLA2 nos transtornos psicóticos (Gattaz et al, 1987, 1990 e 1995; Hudson et al, 1993; Noponen et al, 1993; Ross et al, 1997 e 1999; Yao et al, 2000; Lasch et al, 2003; Tavares et al, 2003; Smesny et al, 2005, 2010 e 2011), não encontramos diferenças em pacientes com PEP com relação aos controles. A maior parte destas investigações avaliou amostras de

compostas em sua maioria de pacientes crônicos e/ou previamente medicados, fatores que poderiam influenciar a atividade de PLA2. Convergindo com nossos achados, há um único estudo com pacientes virgens de tratamento que também não encontrou diferenças da atividade de PLA2 periférica em pacientes psicóticos em fase aguda em relação a controles ou pacientes com outros transtornos (Albers et al, 1993). No entanto, estudos com pacientes virgens de tratamento em PEP de esquizofrenia sugerem haver de fato aumento da atividade de PLA2 em fase aguda: Smesny et al (2011) observaram aumento significativo de atividade de PLA2 intracelular total (iPLA2 e cPLA2) em comparação a controles, sendo mais expressivo do que em pacientes crônicos; Gattaz et al (1995), por sua vez, observaram aumento em pacientes, porém apenas como tendência estatística ($p=0,06$).

Por outro lado, nosso estudo avaliou pacientes com psicoses não afetivas com duração inferior a 06 meses, ao passo que a maior parte dos estudos anteriores incluiu pacientes com diagnóstico definitivo de esquizofrenia. Como exceção, Albers et al (2003) avaliaram tanto pacientes com esquizofrenia/ transtorno esquizofreniforme, quanto pacientes com psicoses atípicas; como descrito acima, não houve diferenças na atividade de PLA2 entre o grupo formado por tais pacientes e o grupo de CS. É possível que, ao incluirmos pacientes em psicose recente sem diagnóstico definitivo de esquizofrenia, nosso estudo tenha perdido sensibilidade para detectar diferenças na atividade de PLA2. De fato, em análise *post hoc* subdividindo-se os pacientes pela presença de sintomas negativos, observamos uma forte tendência apontando aumento de atividade de iPLA2 em pacientes apresentando tais sintomas (Brown-Frosythe (F) = 2,905, $p = 0,074$).

5.2.2 – CONTEXTUALIZAÇÃO DOS ACHADOS LONGITUDINAIS COM RESULTADOS DE ESTUDOS PRÉVIOS

O fato de não termos encontrado diferenças entre os grupos da atividade da enzima PLA2 no *baseline* torna pouco provável a chance de encontrarmos alterações estado-dependentes de sua atividade. Não observamos, de fato, diferenças significativas entre os grupos para a taxa de mudança da atividade de PLA2 em nossas análises principais. Não obstante, como a distribuição dos valores para o grupo de pacientes apresentava *outliers* extremos para as medidas de iPLA2, conduzimos uma segunda análise exploratória após excluir tais sujeitos. Foi então observada uma diferença significativa apontando para redução da atividade deste subtipo em pacientes, acompanhando a remissão de sintomas. Tal achado deve ser interpretado com extrema cautela, visto que o mesmo não sobreviveu à correção para comparações múltiplas e porque não há, em verdade, racional robusto para a exclusão de tais sujeitos da nossa análise.

Como havíamos realizado para a atividade de PLA2 no *baseline*, conduzimos também para a taxa de mudanças de atividade comparações por subgrupos de pacientes (com e sem sintomas negativos). Nenhuma diferença significativa emergiu nestas análises; como tendência, observamos uma redução da atividade de iPLA2 ao longo do tempo para o grupo de sujeitos com sintomas negativos (teste de Kruskal-Wallis para Amostras Independentes, $p = 0,082$).

Os primeiros estudos investigando alterações longitudinais da atividade de PLA2 apontam para sua redução após a exposição a AP (Gattaz et al, 1987 e 1995; Tavares et al, 2003). No entanto, convergindo com nossos achados, estudos longitudinais com pacientes virgens de tratamento não observaram modificações na atividade de PLA2 periférica após exposição contínua a AP (Albers et al, 1993; Smesny et al, 2011). Além

das diferenças entre tipo de pacientes estudados (crônicos vs. PEP, virgens de tratamento vs. exposição prévia a AP), é possível que tal heterogeneidade de achados se deva também a variações no tempo de exposição a AP em cada um dos estudos (de 3 a 12 semanas).

É importante, porém, ressaltar que tais estudos longitudinais prévios não foram desenhados para avaliar diretamente a atividade de PLA2 dependente do estado de doença, mas sim para avaliar mudanças longitudinais à exposição a AP, tendo períodos de seguimento fixos. O fato de não haver correlações entre mudanças dos níveis de atividade de PLA2 e de sintomas, demonstra a provável falta de sensibilidade para detectar alterações estado-dependentes nos estudos que observaram diferenças longitudinais (Gattaz et al, 1987 e 1995; Tavares et al, 2003). Portanto, torna-se difícil uma comparação direta com nosso estudo.

5.3 – CORRELAÇÕES ENTRE METABOLISMO DE FOSFOLÍPEDES E MICROESTRUTURA DE SUBSTÂNCIA BRANCA

Apesar de nossas análises *post hoc* sugerirem que a atividade de iPLA2 possa estar relacionada com a fase de doença neste grupo de pacientes, nossos achados principais refutam a ideia de que a atividade de PLA2 apresente comportamento estado-dependente. Sendo assim, torna-se pouco provável que a atividade de PLA2 esteja diretamente relacionada as alterações de DTI observadas em nosso estudo.

A despeito disto, este é o primeiro estudo a examinar correlações entre a microestrutura de SB cerebral e a atividade de PLA2. Sendo que sua ação enzimática é fator determinante para a composição de membranas celulares e há evidências de que influa na mielinização neuronal, é concebível que sua atividade modifique os índices de difusão e anisotropia de água nos feixes axonais. Em nosso estudo, entretanto,

observamos apenas correlações discretas e pontuais entre índices de DTI e atividade de iPLA2 majoritariamente, e apenas no limiar estatístico não corrigido. Dada a fragilidade de tais associações e se tendo em conta os achados negativos das análises de atividade de PLA2, é possível inferir que a atividade de PLA2 não é mediadora das modificações de microestrutura de SB associadas à fase aguda da doença, aqui observadas.

5.4 – LIMITAÇÕES DO PRESENTE ESTUDO

Algumas limitações de nosso estudo precisam ser elencadas. O tamanho relativamente pequeno de nossos grupos aumenta o risco de erros estatísticos do tipo I e II. Por exemplo, talvez devido ao tamanho limitado de nossa amostra, nossos achados longitudinais de diferenças entre os grupos em relação as mudanças de FA alcançaram apenas o limiar estatístico sem correção. Portanto, apesar do fato de termos uma hipótese bastante clara de aumento de FA associado à remissão de sintomas, a interpretação de nossos resultados deve ser cuidadosa. Com relação a isso, para explorar mais a fundo a hipótese de mudanças estado-dependentes, nós também realizamos análises transversais de DTI no T1, e nenhuma diferença entre pacientes e controles foi observada (nem mesmo no limiar estatístico não corrigido).

Também é possível inferir que o tamanho restrito de nossa amostra possa ter levado a uma falta de sensibilidade metodológica para detectar alterações na atividade de PLA2, assim como sua relação com o estado de doença e os índices de DTI. Além disso, a literatura prévia se baseia majoritariamente na atividade de PLA2 periférica, havendo um único estudo de atividade de PLA2 cerebral, porém *post-mortem* (Ross et al, 1999). Sendo assim, é possível haver discrepâncias entre atividade enzimática periférica e cerebral, o que torna mais difíceis interpretações definitivas sobre a relação entre atividade de PLA2, estado-dependência e microestrutura de SB. Ademais,

alterações da atividade de PLA2 parecem estar relacionadas a diversos mecanismos fisiopatológicos de outras condições médicas, incluindo-se doenças cardiovasculares e metabólicas (Quach et al, 2014; Leslie, 2015); é possível que tais processos fisiopatológicos/ comorbidades, que não foram avaliados em detalhe em nosso estudo, possam ter atuado como confundidores em nossas análises.

Outra limitação de nosso estudo a ser considerada é o fato de termos incluído pacientes em psicose recente sem diagnóstico definitivo de esquizofrenia. Como ponderado anteriormente sobre os achados negativos para a atividade de PLA2, é possível que nosso estudo tenha perdido sensibilidade para detectar outras diferenças ou diferenças mais robustas que sobrevivessem à correção para comparações múltiplas por termos incluídos pacientes com diagnósticos temporários.

Em relação ao protocolo utilizado para a aquisição de dados de DTI, nós captamos apenas uma imagem “B0” de referência (sem difusão). Apesar de esta ser uma estratégia padrão (Mukherjee et al, 2008), recentemente tem sido aconselhado que um oitavo a um décimo das imagens durante a aquisição de DTI devam ser imagens “B0”, sendo que isto permite maior acurácia na estimativa de tensores e de valores de FA (Nir et al, 2013; Lim et al, 2014).

Finalmente, nós escolhemos relatar apenas os valores de TR, a despeito de outros índices de difusividade, como difusividade radial e axial. Apesar do fato de todos os parâmetros de difusão serem considerados sensíveis às propriedades teciduais como mielinização, orientação e densidade axonais, nenhuma medida de DTI pode ser considerada como mais específica para uma dada propriedade (Alexander et al, 2007; Jones et al, 2013). Estudos empregando modelos simulados de cruzamento de fibras demonstraram que mudanças patológicas da microestrutura de SB podem resultar em mudanças imprevisíveis de medidas de AD e RD, não relacionadas à subjacente

organização tecidual, assim sugerindo que tais índices de difusividade podem não ser sempre confiáveis (Wheeler-Kingshott & Cercignani, 2009).

6 – CONCLUSÕES

Os resultados encontrados neste estudo fornecem evidências diretas de que alterações de SB afetando tratos e regiões cerebrais de suma importância para a integração de informação perceptual, cognição e emoções são detectáveis logo após irromper o PEP. Adicionalmente, nossos achados sugerem que tais anormalidades possam ser parcialmente revertidas em relação direta com a remissão de sintomas agudos. Tais achados de neuroimagem reforçam a visão de que alterações de SB em tratos cerebrais extensos são um fator neurobiológico central, estado-relacionado, nos transtornos psicóticos agudos, merecendo, assim, serem mais profundamente examinadas em estudos futuros investigando as causas e mecanismos cerebrais subjacentes a tais doenças. Por outro lado, nossos resultados se opõem à hipótese de que a atividade de PLA2 apresente associação direta com o estado de doença ou que sua ação possa moderar as alterações microestruturais dinâmicas de SB aqui observadas. Estudos com amostras maiores e com um maior número de avaliações ao longo do tempo são necessários para confirmar e ampliar os resultados aqui apresentados.

7 – REFERÊNCIAS

- Albers M, Meurer H, Märki F, Klotz J. Phospholipase A2 activity in serum of neuroleptic-naïve psychiatric inpatients. *Pharmacopsychiatry*. 1993;26:94-8.
- Allen P, Modinos G, Hubl D, Shields G, Cachia A, Jardri R, Thomas P, Woodward T, Shotbolt P, Plaze M, Hoffman R. Neuroimaging auditory hallucinations in schizophrenia: from neuroanatomy to neurochemistry and beyond. *Schizophr Bull*. 2012;38:695-703.
- Alexander AL, Lee JE, Lazar M, Field AS. Diffusion tensor imaging of the brain. *Neurotherapeutics*. 2007;4:316-29.
- American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th ed (DSM-IV)*. Washington: APA 1994.
- Andrade L, Walters EE, Gentil V, Laurenti R. Prevalence of ICD-10 mental disorders in a catchment area in the city of São Paulo, Brazil. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*. 2002;37:316-325.
- Andreasen NC, Carpenter WT Jr, Kane JM, Lasser RA, Marder SR, Weinberger DR. Remission in schizophrenia: proposed criteria and rationale for consensus. *Am J Psychiatry*. 2005;162:441-9.
- Andreasen NC, Pressler M, Nopoulos P, Miller D, Ho BC. Antipsychotic dose equivalents and dose-years: a standardized method for comparing exposure to different drugs. *Biol Psychiatry*. 2010;67:255-62.
- Anticevic A, Cole M, Repovs G, Murray J, Brumbaugh M, Winkler A, Savic A, Krystal J, Pearlson G, Glahn D. Characterizing Thalamo-Cortical Disturbances in Schizophrenia and Bipolar Illness. *Cerebral Cortex*. 2014;24,3116–3130.
- Ashtari M, Cottone J, Ardekani B, Cervellione K, Szeszko P, Wu J, Chen S, Kumra S.

- Disruption of white matter integrity in the inferior longitudinal fasciculus in adolescents with schizophrenia as revealed by fiber tractography. *Archives of General Psychiatry*. 2007;64:1270-1280.
- 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;257:340-3.
- Bartzokis G. Neuroglialpharmacology: myelination as a shared mechanism of action of psychotropic treatments. *Neuropharmacology*. 2012;62:2137-53.
- Bates AT, Liddle PF, Kiehl KA, Ngan ET. State dependent changes in error monitoring in schizophrenia. *J Psychiatr Res*. 2004;38:347-56.
- Bazan NG, Zorumski CF, Clark GD. The activation of phospholipase A2 and release of arachidonic acid and other lipid mediators at the synapse: the role of platelet-activating factor. *J Lipid Mediat*. 1993;6:421-7.
- Beaulieu C. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system - a technical review. *NMR Biomed*. 2002;15:435-455.
- Ben-Shachar D, Zuk R, Gazawi H, Reshef A, Sheinkman A, Klein E. Increased mitochondrial complex I activity in platelets of schizophrenic patients. *Inter J Neuropsychopharmacol* 1999;2:245–253
- Bora E, Fornito A, Yücel M, Pantelis C. Voxelwise meta-analysis of gray matter abnormalities in bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2010;67:1097-105.
- Bora E, Fornito A, Radua J, Walterfang M, Seal M, Wood SJ, Yücel M, Velakoulis D, Pantelis C. Neuroanatomical abnormalities in schizophrenia: a multimodal voxelwise meta-analysis and meta-regression analysis. *Schizophr Res*. 2011;127:46-57.
- Bowden NA, Scott RJ, Tooney PA. Altered gene expression in the superior temporal gyrus in schizophrenia. *BMC Genomics*. 2008;9:199.

- Burke JE, Dennis EA. Phospholipase A2 structure/function, mechanism, and signaling. *J Lipid Res.* 2009;50 Suppl:S237-42.
- Busatto GF, Diniz BS, Zanetti MV. Voxel-based morphometry in Alzheimer's disease. *Expert Rev Neurother.* 2008;8:1691-1702.
- Busatto GF, Zanetti MV, Schaufelberger MS, Crippa JAS. Brain anatomical abnormalities in schizophrenia: neurodevelopmental origins and patterns of progression over time. In: Wagner F. Gattaz & Geraldo Busatto, editors. *Advances in Schizophrenia Research.* New York: Springer; 2009. v.1, p. 113-148.
- Carletti F, Woolley JB, Bhattacharyya S, Perez-Iglesias R, Fusar Poli P, Valmaggia L, Broome MR, Bramon E, Johns L, Giampietro V, Williams SC, Barker GJ, McGuire PK. Alterations in white matter evident before the onset of psychosis. *Schizophr Bull.* 2012;38:1170-9.
- Catani M, Thiebaut de Schotten M. A diffusion tensor imaging tractography atlas for virtual in vivo dissections. *Cortex.* 2008;44:1105-32.
- Chaim T, Zhang T, Zanetti M, da Silva M, Louzã M, Doshi J, Serpa M, Duran F, Caetano S, Davatzikos C, Busatto G. Multimodal magnetic resonance imaging study of treatment-naïve adults with attention-deficit/hyperactivity disorder. *PLoS One.* 2014;9:e110199.
- Cheng Y, Xu J, Yu H, Nie B, Li N, Luo C, Li H, Liu F, Bai Y, Shan B, Xu L, Xu X. Delineation of early and later adult onset depression by diffusion tensor imaging. *PLoS One.* 2014;9:e112307.
- Cheung V, Cheung C, McAlonan GM, Deng Y, Wong JG, Yip L, Tai KS, Khong PL, Sham P, Chua SE. A diffusion tensor imaging study of structural dysconnectivity in never-medicated, first-episode schizophrenia. *Psychol Med.* 2008;38:877-885.

- Christensen J, Holcomb J, Garver DL. State-related changes in cerebral white matter may underlie psychosis exacerbation. *Psychiatry Res.* 2004;130:71-8.
- Chung HW, Chou MC, Chen CY. Principles and limitations of computational algorithms in clinical diffusion tensor MR tractography. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2011;32:3-13.
- Colombo RR, Schaufelberger MS, Santos LC, Duran FL, Menezes PR, Scazufca M, Busatto GF, Zanetti MV. Voxelwise evaluation of white matter volumes in first-episode psychosis. *Psychiatry Res.* 2012;202:198-205.
- Concha L, Livy DJ, Beaulieu C, Wheatley BM, Gross DW. In vivo diffusion tensor imaging and histopathology of the fimbria-fornix in temporal lobe epilepsy. *J Neurosci.* 2010;30:996-1002.
- Ćurčić-Blake B, Liemburg E, Vercammen A, Swart M, Knegteling H, Bruggeman R, Aleman A. When Broca goes uninformed: reduced information flow to Broca's area in schizophrenia patients with auditory hallucinations. *Schizophr Bull.* 2013;39:1087-1095.
- Ćurčić-Blake B, Nanetti L, van der Meer L, Cerliani L, Renken R, Pijnenborg G, Aleman A. Not on speaking terms: hallucinations and structural network disconnectivity in schizophrenia. *Brain Struct Funct.* 2015;220:407-418.
- De S, Trigueros MA, Kalyvas A, David S. Phospholipase A2 plays an important role in myelin breakdown and phagocytosis during Wallerian degeneration. *Mol Cell Neurosci.* 2003;24:753-65.
- Deicken RF, Calabrese G, Merrin EL, Meyerhoff DJ, Dillon WP, Weiner MW, Fein G. 31phosphorus magnetic resonance spectroscopy of the frontal and parietal lobes in chronic schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 1994;36:503-10.

- Deicken RF, Merrin EL, Floyd TC, Weiner MW. Correlation between left frontal phospholipids and Wisconsin Card Sort Test performance in schizophrenia. *Schizophr Res.* 1995;14:177-81.
- Di X, Chan RC, Gong QY. White matter reduction in patients with schizophrenia as revealed by voxel-based morphometry: an activation likelihood estimation meta-analysis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2009;33:1390-4.
- Dror N, Klein E, Karry R, Sheinkman A, Kirsh Z, Mazor M, Tzukerman M, Ben-Shachar D. State-dependent alterations in mitochondrial complex I activity in platelets: a potential peripheral marker for schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 2002;7:995-1001.
- Ebdrup BH, Raghava JM, Nielsen MØ, Rostrup E, Glenthøj B. Frontal fasciculi and psychotic symptoms in antipsychotic-naïve patients with schizophrenia before and after 6 weeks of selective dopamine D2/3 receptor blockade. *Journal of Psychiatry & Neuroscience.* 2016;41:133-41.
- Eckert GP, Schaeffer EL, Schmitt A, Maras A, Gattaz WF. Increased brain membrane fluidity in schizophrenia. *Pharmacopsychiatry.* 2011;44:161-2.
- Elkis H. Treatment-resistant schizophrenia. *Psychiatr Clin North Am.* 2007;30:511-33.
- Ellison-Wright I, Bullmore E. Meta-analysis of diffusion tensor imaging studies in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2009;108: 3-10.
- Ellison-Wright I, Glahn DC, Laird AR, Thelen SM, Bullmore E. The anatomy of first-episode and chronic schizophrenia: an anatomical likelihood estimation meta-analysis. *Am J Psychiatry.* 2008;165:1015-1023.
- Exner C, Boucsein K, Degner D, Irle E. State-dependent implicit learning deficit in schizophrenia: evidence from 20-month follow-up. *Psychiatry Res.* 2006;142:39-52.

- Falkai P, Wobrock T, Lieberman J, Glenthøj B, Gattaz WF, Møller HJ; WFSBP Task Force on Treatment Guidelines for Schizophrenia. World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) guidelines for biological treatment of schizophrenia, Part 1: acute treatment of schizophrenia. *World J Biol Psychiatry*. 2005;6:132-191.
- 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.
- Filippi M, Canu E, Gasparotti R, Agosta F, Valsecchi P, Lodoli G, Galluzzo A, Comi G, Sacchetti E. Patterns of brain structural changes in first-contact, antipsychotic drug-naïve patients with schizophrenia. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2014;35:30-7.
- First MB, Spitzer RL, Gibbon M, Williams JBW. *Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders, Patient Edition (SCID-I/P)*. New York: Biometrics Research, New York State Psychiatry Institute; 1995.
- Fox RJ, Cronin T, Lin J, Wang X, Sakaie K, Ontaneda D, Mahmoud SY, Lowe MJ, Phillips MD. Measuring myelin repair and axonal loss with diffusion tensor imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2011;32:85-91.
- Fujimoto T, Nakano T, Takano T, Hokazono Y, Asakura T, Tsuji T. Study of chronic schizophrenics using ³¹P magnetic resonance chemical shift imaging. *Acta Psychiatr Scand*. 1992;86:455-62.
- Fukuzako H, Takeuchi K, Ueyama K, Fukuzako T, Hokazono Y, Hirakawa K, Yamada K, Hashiguchi T, Takigawa M, Fujimoto T. ³¹P magnetic resonance spectroscopy of the medial temporal lobe of schizophrenic patients with neuroleptic resistant marked positive symptoms. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 1994;244:236-40.
- Gao W, Jiao Q, Qi R, Zhong Y, Lu D, Xiao Q, Lu S, Xu C, Zhang Y, Liu X, Yang F, Lu G, Su L. Combined analyses of gray matter voxel-based morphometry and white

- matter tract-based spatial statistics in pediatric bipolar mania. *Journal of Affective Disorders*. 2013;150:70-76.
- Gasparotti R, Valsecchi P, Carletti F, Galluzzo A, Liserre R, Cesana B, Sacchetti E. Reduced fractional anisotropy of corpus callosum in first-contact, antipsychotic drug-naïve patients with schizophrenia. *Schizophr Res*. 2009;108:41-8.
- 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;22:421-6.
- 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, 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 ;55:109-13.
- Glahn DC, Laird AR, Ellison-Wright I, Thelen SM, Robinson JL, Lancaster JL, Bullmore E, Fox PT. Meta-analysis of gray matter anomalies in schizophrenia: application of anatomic likelihood estimation and network analysis. *Biol Psychiatry*. 2008;64:774-81.
- Glen AI, Glen EM, Horrobin DF, Vaddadi KS, Spellman M, Morse-Fisher N, Ellis K, Skinner FS. A red cell membrane abnormality in a subgroup of schizophrenic patients: evidence for two diseases. *Schizophr Res*. 1994;12:53-61.
- Goldberg TE, Ragland JD, Torrey EF, Gold JM, Bigelow LB, Weinberger DR. Neuropsychological assessment of monozygotic twins discordant for schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 1990;47:1066-72.

- Gouzoulis-Mayfrank E, Voss T, Mörtz D, Thelen B, Spitzer M, Meincke U. Semantic hyperpriming in thought-disordered patients with schizophrenia: state or trait?--a longitudinal investigation. *Schizophr Res.* 2003;65:65-73.
- Gross RW, Jenkins CM, Yang J, Mancuso DJ, Han X. Functional lipidomics: the roles of specialized lipids and lipid-protein interactions in modulating neuronal function. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2005;77:52-64.
- Guo W, Liu F, Liu Z, Gao K, Xiao C, Chen H, Zhao J. Right lateralized white matter abnormalities in first-episode, drug-naïve paranoid schizophrenia. *Neurosci Lett.* 2012;531:5-9.
- Haroutunian V, Katsel P, Roussos P, Davis KL, Altshuler LL, Bartzokis G. Myelination, oligodendrocytes, and serious mental illness. *Glia.* 2014;62:1856-77.
- Higashima M, Takeda T, Kikuchi M, Nagasawa T, Hirao N, Oka T, Nakamura M, Koshino Y. State-dependent changes in intrahemispheric EEG coherence for patients with acute exacerbation of schizophrenia. *Psychiatry Res.* 2007;149:41-7.
- Ho BC, Andreasen NC, Ziebell S, Pierson R, Magnotta V. Long-term antipsychotic treatment and brain volumes: a longitudinal study of first-episode schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 2011;68:128-37.
- Horrobin DF, Manku MS, Hillman H, Iain A, Glen M. 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.
- Hudson C, Gotowiec A, Seeman M, Warsh J, Ross BM. Clinical subtyping reveals significant differences in calcium-dependent phospholipase A2 activity in schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 1999;46:401-5.

- Hulshoff Pol HE, Kahn RS. What happens after the first episode? A review of progressive brain changes in chronically ill patients with schizophrenia. *Schizophr Bull.* 2008;34:354-366.
- Itahashi T, Yamada T, Nakamura M, Watanabe H, Yamagata B, Jimbo D, Shioda S, Kuroda M, Toriizuka K, Kato N, Hashimoto R. Linked alterations in gray and white matter morphology in adults with high-functioning autism spectrum disorder: a multimodal brain imaging study. *NeuroImage: Clinical.* 2015;7:155-169.
- Jones DK. Studying connections in the living human brain with diffusion MRI. *Cortex.* 2008;44:936-952.
- Jones DK, Knösche TR, Turner R. White matter integrity, fiber count, and other fallacies: the do's and don'ts of diffusion MRI. *Neuroimage.* 2013;73:239-54.
- Kallimani D, Theleritis C, Evdokimidis I, Stefanis NC, Chatzimanolis I, Smyrnis N. The effect of change in clinical state on eye movement dysfunction in schizophrenia. *Eur Psychiatry.* 2009;24:17-26.
- Katagiri N, Pantelis C, Nemoto T, Zalesky A, Hori M, Shimoji K, Saito J, Ito S, Dwyer DB, Fukunaga I, Morita K, Tsujino N, Yamaguchi T, Shiraga N, Aoki S, Mizuno M. A longitudinal study investigating sub-threshold symptoms and white matter changes in individuals with an 'at risk mental state' (ARMS). *Schizophrenia Research.* 2015;162:7-13.
- Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull.* 1987;13:261-276.
- Kendler KS, Gallagher TJ, Abelson JM, Kessler RC. Lifetime prevalence, demographic risk factors, and diagnostic validity of nonaffective psychosis as assessed in a US community sample. The National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psychiatry.* 1996;11:1022-1031.

- Kerr DS, Talib LL, Yamamoto VJ, Ferreira AS, Zanetti MV, Serpa MH, Busatto GF, Van de Bilt MT, Gattaz WF. Antipsychotic drugs decrease iPLA2 gene expression in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2013;147:203-4.
- Keshavan MS, Sanders RD, Pettegrew JW, Dombrowsky SM, Panchalingam KS. Frontal lobe metabolism and cerebral morphology in schizophrenia: 31P MRS and MRI studies. *Schizophr Res.* 1993;10:241-6.
- Keshavan MS, Haas GL, Kahn CE, Aguilar E, Dick EL, Schooler NR, Sweeney JA, Pettegrew JW. Superior temporal gyrus and the course of early schizophrenia: progressive, static, or reversible? *J Psychiatr Res.* 1998; 32:161-167.
- Kessler RC, Birnbaum H, Demler O, Falloon IR, Gagnon E, Guyer M, Howes MJ, Kendler KS, Shi L, Walters E, Wu EQ. The prevalence and correlates of nonaffective psychosis in the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *Biol Psychiatry.* 2005;58:668-676.
- Kirkbride JB, Errazuriz A, Croudace TJ, Morgan C, Jackson D, Boydell J, Murray RM, Jones PB. Incidence of schizophrenia and other psychoses in England, 1950-2009: a systematic review and meta-analyses. *PLoS One.* 2012;7:e31660.
- Kitis O, Ozalay O, Zengin E, Haznedaroglu D, Eker M, Yalvac D, Oguz K, Coburn K, Gonul A. Reduced left uncinate fasciculus fractional anisotropy in deficit schizophrenia but not in non-deficit schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2012;66:34-43.
- Klingberg S, Wittorf A, Sickinger S, Buchkremer G, Wiedemann G. Course of cognitive functioning during the stabilization phase of schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 2008;42:259-67.

- Kochunov P, Hong LE. Neurodevelopmental and neurodegenerative models of schizophrenia: white matter at the center stage. *Schizophrenia Bulletin*. 2014;40:721-8.
- Kubota M, Miyata J, Sasamoto A, Sugihara G, Yoshida H, Kawada R, Fujimoto S, Tanaka Y, Sawamoto N, Fukuyama H, Takahashi H, Murai T. Thalamocortical disconnection in the orbitofrontal region associated with cortical thinning in schizophrenia. *JAMA Psychiatry*. 2013;70:12-21.
- Kudo I, Murakami M. Phospholipase A2 enzymes. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2002;68-69:3-58.
- Lasch J, Willhardt I, Kinder D, Sauer H, Smesny S. Fluorometric assays of phospholipase A2 activity with three different substrates in biological samples of patients with schizophrenia. *Clin Chem Lab Med*. 2003;41:908-14.
- Lautens LL, Chiou XG, Sharp JD, Young WS 3rd, Sprague DL, Ross LS, Felder CC. Cytosolic phospholipase A2 (cPLA2) distribution in murine brain and functional studies indicate that cPLA2 does not participate in muscarínico receptor-mediated signaling in neurons. *Brain Res*. 1998;809:18-30.
- Lee SH, Kubicki M, Asami T, Seidman LJ, Goldstein JM, Meshulam-Gately RI, McCarley RW, Shenton ME. Extensive white matter abnormalities in patients with first-episode schizophrenia: a Diffusion Tensor Imaging (DTI) study. *Schizophr Res*. 2013;143:231-8.
- Lei W, Li N, Deng W, Li M, Huang C, Ma X, Wang Q, Guo W, Li Y, Jiang L, Zhou Y, Hu X, McAlonan G, Li T. White matter alterations in first episode treatment-naïve patients with deficit schizophrenia: a combined VBM and DTI study. *Scientific Reports*. 2015;5:12994.

- Leslie CC. Cytosolic phospholipase A₂ : physiological function and role in disease. *J Lipid Res.* 2015;56:1386-402.
- Levitt J, Kubicki M, Nestor P, Ersner-Hershfield H, Westin C, Alvarado J, Kikinis R, Jolesz F, McCarley R, Shenton M. A diffusion tensor imaging study of the anterior limb of the internal capsule in schizophrenia. *Psychiatry Res.* 2010;184:143-150.
- Levitt J, Alvarado J, Nestor P, Rosow L, Pelavin P, McCarley R, Kubicki M, Shenton M. Fractional anisotropy and radial diffusivity: diffusion measures of white matter abnormalities in the anterior limb of the internal capsule in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2012;136:55-62.
- Li W, Li Q, Zhu J, Qin Y, Zheng Y, Chang H, Zhang D, Wang H, Wang L, Wang Y, Wang W. White matter impairment in chronic heroin dependence: a quantitative DTI study. *Brain Research.* 2013;1531:58-64.
- Lieberman JA, Perkins D, Belger A, Chakos M, Jarskog F, Boteva K, Gilmore J. The early stages of schizophrenia: speculations on pathogenesis, pathophysiology, and therapeutic approaches. *Biological Psychiatry.* 2001;50:884-97.
- Lim JS, Park YH, Jang JW, Park SY, Kim S; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Differential white matter connectivity in early mild cognitive impairment according to CSF biomarkers. *PLoS One.* 2014;9:e91400.
- Lindquist S, Bodammer N, Kaufmann J, König F, Heinze HJ, Brück W, Sailer M. Histopathology and serial, multimodal magnetic resonance imaging in a multiple sclerosis variant. *Mult Scler.* 2007;13:471-82.
- Loch AA, Wang YP, Rössler W, Tófoli LF, Silveira CM, Andrade LH. The psychosis continuum in the general population: findings from the São Paulo Epidemiologic Catchment Area Study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2011;261:519-27.

- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193:265-275.
- Lu S, Wei Z, Gao W, Wu W, Liao M, Zhang Y, Li W, Li Z, Li L. White matter integrity alterations in young healthy adults reporting childhood trauma: A diffusion tensor imaging study. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*. 2013;47:1183-1190.
- Lui S, Li T, Deng W, Jiang L, Wu Q, Tang H, Yue Q, Huang X, Chan RC, Collier DA, Meda SA, Pearlson G, Mechelli A, Sweeney JA, Gong Q. Short-term effects of antipsychotic treatment on cerebral function in drug-naïve first-episode schizophrenia revealed by "resting state" functional magnetic resonance imaging. *Arch Gen Psychiatry*. 2010;67:783-92.
- Mamah D, Conturo TE, Harms MP, Akbudak E, Wang L, McMichael AR, Gado MH, Barch DM, Csernansky JG. Anterior thalamic radiation integrity in schizophrenia: a diffusion-tensor imaging study. *Psychiatry Res*. 2010;30,144-150.
- Marenco S, Stein JL, Savostyanova AA, Sambataro F, Tan HY, Goldman AL, Verchinski BA, Barnett AS, Dickinson D, Apud JA, Callicott JH, Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR. Investigation of anatomical thalamo-cortical connectivity and FMRI activation in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. 2012;37:499-507.
- Martínez-Gras I, Pérez-Nievas BG, García-Bueno B, Madrigal JL, Andrés-Esteban E, Rodríguez-Jiménez R, Hoenicka J, Palomo T, Rubio G, Leza JC. The anti-inflammatory prostaglandin 15d-PGJ2 and its nuclear receptor PPARgamma are decreased in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2011;128:15-22.
- Meda SA, Ruaño G, Windemuth A, O'Neil K, Berwise C, Dunn SM, Boccaccio LE, Narayanan B, Kocherla M, Sprooten E, Keshavan MS, Tamminga CA, Sweeney JA, Clementz BA, Calhoun VD, Pearlson GD. Multivariate analysis reveals genetic

- associations of the resting default mode network in psychotic bipolar disorder and schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111:E2066-75.
- Melicher T, Horacek J, Hlinka J, Spaniel F, Tintera J, Ibrahim I, Mikolas P, Novak T, Mohr P, Hoschl C. White matter changes in first episode psychosis and their relation to the size of sample studied: a DTI study. *Schizophrenia Research*. 2015;162:22-28.
- Menezes PR, Johnson S, Thornicroft G, Marshall J, Prosser D, Bebbington P, Kuipers E. Drug and alcohol problems among individuals with severe mental illness in south London. *Br J Psychiatry*. 1996;168:612-619.
- Merrin EL, Floyd TC, Fein G. Task-related EEG alpha asymmetry in schizophrenic patients prior to and after neuroleptic treatment. *Schizophr Res*. 1988;1:283-93.
- Mighdoll MI, Tao R, Kleinman JE, Hyde TM. Myelin, myelin-related disorders, and psychosis. *Schizophrenia Research*. 2015;161:85-93.
- Monji A, Kato TA, Mizoguchi Y, Horikawa H, Seki Y, Kasai M, Yamauchi Y, Yamada S, Kanba S. Neuroinflammation in schizophrenia especially focused on the role of microglia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2013;42:115-21.
- Mukherjee P, Chung SW, Berman JI, Hess CP, Henry RG. Diffusion tensor MR imaging and fiber tractography: technical considerations. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2008;29:843-52.
- Müller N, Myint AM, Schwarz MJ. Inflammation in schizophrenia. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2012;88:49-68.
- Najjar S, Pearlman DM. Neuroinflammation and white matter pathology in schizophrenia: systematic review. *Schizophr Res*. 2015;161:102-12.
- Nir TM, Jahanshad N, Villalon-Reina JE, Toga AW, Jack CR, Weiner MW, Thompson PM; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI). Effectiveness of regional

- DTI measures in distinguishing Alzheimer's disease, MCI, and normal aging. *Neuroimage Clin.* 2013;3:180-95.
- Noponen M, Sanfilipo M, Samanich K, Ryer H, Ko G, Angrist B, Wolkin A, Duncan E, Rotrosen J. Elevated PLA2 activity in schizophrenics and other psychiatric patients. *Biol Psychiatry.* 1993;34:641-9.
- Oestreich LK, McCarthy-Jones S; Australian Schizophrenia Research Bank., Whitford TJ. Decreased integrity of the fronto-temporal fibers of the left inferior occipito-frontal fasciculus associated with auditory verbal hallucinations in schizophrenia. *Brain Imaging Behav.* 2016;10:445-54.
- Olabi B, Ellison-Wright I, McIntosh AM, Wood SJ, Bullmore E, Lawrie SM. Are there progressive brain changes in schizophrenia? A meta-analysis of structural magnetic resonance imaging studies. *Biol Psychiatry.* 2011;70:88-96.
- Oldfield RC The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh Inventory. *Neuropsychologia.* 1971;9:97-113.
- Ou Y, Sotiras A, Paragios N, Davatzikos C. DRAMMS: Deformable registration via attribute matching and mutual-saliency weighting. *Med Image Anal.* 2011;15:622-39.
- Pae CU, Yu HS, Lee KU, Kim JJ, Lee CU, Lee SJ, Jun TY, Lee C, Paik IH. BanI polymorphism of the cytosolic phospholipase A2 gene may confer susceptibility to the development of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2004;28:739-41.
- Pangerl AM, Steudle A, Jaroni HW, Rüfer R, Gattaz WF. Increased platelet membrane lysophosphatidylcholine in schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 1991;30:837-40.
- Pantelis C, Yücel M, Wood SJ, Velakoulis D, Sun D, Berger G, Stuart GW, Yung A, Phillips L, McGorry PD. Structural brain imaging evidence for multiple pathological

- processes at different stages of brain development in schizophrenia. *Schizophr Bull.* 2005;31:672-96.
- Patel S, Mahon K, Wellington R, Zhang J, Chaplin W, Szeszko PR. A meta-analysis of diffusion tensor imaging studies of the corpus callosum in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2011;129:149-55.
- Paul JA, Gregson NA. An immunohistochemical study of phospholipase A2 in peripheral nerve during Wallerian degeneration. *J Neuroimmunol.* 1992;39:31-47.
- Peet M, Laugharne JD, Horrobin DF, Reynolds GP. Arachidonic acid: a common link in the biology of schizophrenia? *Arch Gen Psychiatry.* 1994;51:665-6.
- Perala J, Suvisaari J, Saarni SI, Kuoppasalmi K, Isometsa E, Pirkola S, Partonen T, Tuulio-Henriksson A, Hintikka J, Kieseppa T, Harkanen T, Koskinen S, Lonnqvist J. Lifetime prevalence of psychotic and bipolar I disorders in a general population. *Arch Gen Psychiatry.* 2007;64:19-28.
- Peterson GL. Review of the Folin phenol protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Randall. *Anal Biochem.* 1979;100:201-20.
- Pettegrew JW, Keshavan MS, Minshew NJ. ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy: neurodevelopment and schizophrenia. *Schizophr Bull.* 1993;19:35-53.
- Pierpaoli C, Basser PJ. Toward a quantitative assessment of diffusion anisotropy. *Magn Reson Med.* 1996;36:893-906.
- Piomelli D. Arachidonic acid in cell signaling. *Curr Opin Cell Biol.* 1993;5:274-80.
- Qiu C, Zhu C, Zhang J, Nie X, Feng Y, Meng Y, Wu R, Huang X, Zhang W, Gong Q. Diffusion tensor imaging studies on chinese patients with social anxiety disorder. *BioMed Research International.* 2014;860658.

- Quach ND, Arnold RD, Cummings BS. Secretory phospholipase A2 enzymes as pharmacological targets for treatment of disease. *Biochem Pharmacol.* 2014;90:338-48.
- Rasetti R, Mattay VS, Wiedholz LM, Kolachana BS, Hariri AR, Callicott JH, Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR. Evidence that altered amygdale activity in schizophrenia is related to clinical state and not genetic risk. *Am J Psychiatry.* 2009;166:216-25.
- Reis Marques T, Taylor H, Chaddock C, Dell'acqua F, Handley R, Reinders AA, Mondelli V, Bonaccorso S, Diforti M, Simmons A, David AS, Murray RM, Pariante CM, Kapur S, Dazzan P. White matter integrity as a predictor of response to treatment in first episode psychosis. *Brain.* 2014;137:172-82.
- Rosa PG, Zanetti MV, Duran FL, Santos LC, Menezes PR, Scazufca M, Murray RM, Busatto GF, Schaufelberger MS. What determines continuing grey matter changes in first-episode schizophrenia and affective psychosis? *Psychol Med.* 2015;45:817-28.
- Ross BM, Hudson C, Erlich J, Warsh JJ, Kish SJ. Increased phospholipid breakdown in schizophrenia. Evidence for the involvement of a calcium independent phospholipase A2. *Arch Gen Psychiatry.* 1997;54:487-94.
- 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;821:407-13.
- Rössler W, Salize HJ, van Os J, Riecher-Rössler A. Size of burden of schizophrenia and psychotic disorders. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2005;15:399-409.
- Rotrosen J, Wolkin A. Phospholipid and prostaglandin hypothesis of schizophrenia. In: Meltzer HY, editor. *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*. New York: Raven Press; 1987. p. 759-64.

- Ruef A, Curtis L, Moy G, Bessero S, Badan Bâ M, Lazeyras F, Lövblad KO, Haller S, Malafosse A, Giannakopoulos P, Merlo M. Magnetic resonance imaging correlates of first-episode psychosis in young adult male patients: combined analysis of grey and white matter. *J Psychiatry Neurosci*. 2012;37:305-12.
- Rybakowski JK, Borkowska A, Czerski PM, Dmitrzak-Weglarz M, Hauser J. The study of cytosolic phospholipase A2 gene polymorphism in schizophrenia using eye movement disturbances as an endophenotypic marker. *Neuropsychobiology*. 2003;47:115-9.
- Saha S, Chant D, Welham J, McGrath J. A systematic review of the prevalence of schizophrenia. *PLoS Med*. 2005;2:e141.
- Samartzis L, Dima D, Fusar-Poli P, Kyriakopoulos M. White matter alterations in early stages of schizophrenia: a systematic review of diffusion tensor imaging studies. *J Neuroimaging*. 2014;24:101-10.
- Saunders JB, Aasland OG, Babor TF, de la Fuente JR, Grant M. Development of the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT): WHO Collaborative Project on Early Detection of Persons with Harmful Alcohol Consumption – II. *Addiction*. 1993;88:791-804.
- Sayo A, Jennings RG, Van Horn JD. Study factors influencing ventricular enlargement in schizophrenia: a 20 year follow-up meta-analysis. *Neuroimage*. 2012;59:154-67.
- Sbardella E, Tona F, Petsas N, Pantano P. DTI Measurements in Multiple Sclerosis: Evaluation of Brain Damage and Clinical Implications. *Mult Scler Int*. 2013;2013:671730.
- Schaufelberger MS, Lappin JM, Duran FL, Rosa PG, Uchida RR, Santos LC, Murray RM, McGuire PK, Scazufca M, Menezes PR, Busatto GF. Lack of progression of

- brain abnormalities in first-episode psychosis: a longitudinal magnetic resonance imaging study. *Psychol Med.* 2011;41:1677-89.
- Schlösser R, Nenadic I, Wagner G, Güllmar D, von Consbruch K, Köhler S, Schultz C, Koch K, Fitzek C, Matthews P, Reichenbach J, Sauer H. White matter abnormalities and brain activation in schizophrenia: a combined DTI and fMRI study. *Schizophrenia Research.* 2007;89,1-11.
- Shepherd AM, Laurens KR, Matheson SL, Carr VJ, Green MJ. Systematic meta-review and quality assessment of the structural brain alterations in schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev.* 2012;36:1342-56.
- Shinozaki N, Yabe H, Sato Y, Hiruma T, Sutoh T, Nashida T, Matsuoka T, Kaneko S. The difference in Mismatch negativity between the acute and post-acute phase of schizophrenia. *Biol Psychol.* 2002;59:105-19.
- 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, Milleit B, Nenadic I, Preul C, Kinder D, Lasch J, Willhardt I, Sauer H, Gaser C. Phospholipase A2 activity is associated with structural brain changes in schizophrenia. *Neuroimage.* 2010;52:1314-27.
- Smesny S, Kunstmann C, Kunstmann S, Willhardt I, Lasch J, Yotter RA, Proffitt TM, Kerr M, Marculev C, Milleit B, Milleit C, Nenadic I, Amminger P, McGorry PD, Sauer H, Berger GE. Phospholipase A₂ activity in first episode schizophrenia: associations with symptom severity and outcome at week 12. *World J Biol Psychiatry.* 2011;12:598-607.
- Smieskova R, Fusar-Poli P, Allen P, Bendfeldt K, Stieglitz RD, Drewe J, Radue EW, McGuire PK, Riecher-Rössler A, Borgwardt SJ. The effects of antipsychotics on the

- brain: what have we learnt from structural imaging of schizophrenia?—a systematic review. *Curr Pharm Des.* 2009;15:2535-49.
- Smith SM, Jenkinson M, Johansen-Berg H, Rueckert D, Nichols TE, Mackay CE, Watkins KE, Ciccarelli O, Cader MZ, Matthews PM, Behrens TE. Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *Neuroimage.* 2006;31:1487-505.
- Sorg C, Manoliu A, Neufang S, Myers N, Peters H, Schwerthöffer D, Scherr M, Mühlau M, Zimmer C, Drzezga A, Förstl H, Bäuml J, Eichele T, Wohlschläger AM, Riedl V. Increased Intrinsic Brain Activity in the Striatum Reflects Symptom Dimensions in Schizophrenia. *Schizophr Bull.* 2013;39:387-95.
- Spalletta G, Piras F, Fagioli S, Caltagirone C, Piras F. Brain microstructural changes and cognitive correlates in patients with pure obsessive compulsive disorder. *Brain and Behavior.* 2014;4:261-277.
- Steen RG, Mull C, McClure R, Hamer RM, Lieberman JA. Brain volume in first-episode schizophrenia: systematic review and meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *Br J Psychiatry.* 2006;188:510-518.
- Sun Y, Chen Y, Lee R, Bezerianos A, Collinson SL, Sim K. Disruption of brain anatomical networks in schizophrenia: A longitudinal, diffusion tensor imaging based study. *Schizophr Res.* 2016;17:149-57.
- Szeszko PR, Robinson DG, Ashtari M, Vogel J, Betensky J, Sevy S, Ardekani BA, Lencz T, Malhotra AK, McCormack J, Miller R, Lim KO, Gunduz-Bruce H, Kane JM, Bilder RM. Clinical and neuropsychological correlates of white matter abnormalities in recent onset schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 2008;33:976-84.

Szeszko PR, Robinson DG, Ikuta T, Peters BD, Gallego JA, Kane J, Malhotra AK.

White matter changes associated with antipsychotic treatment in first-episode psychosis. *Neuropsychopharmacology*. 2014;39:1324-31.

Takahashi N, Sakurai T, Davis KL, Buxbaum JD. Linking oligodendrocyte and myelin dysfunction to neurocircuitry abnormalities in schizophrenia. *Prog Neurobiol*. 2011;93:13-24.

Talib LL, Yassuda MS, Diniz BS, Forlenza OV, Gattaz WF. Cognitive training increases platelet PLA2 activity in healthy elderly subjects. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2008;78:265-269.

Tao R, Yu Y, Zhang X, Guo Y, Shi J, Zhang X, Xie L, Liu S, Ju G, Xu Q, Shen Y, Wei J. Cytosolic PLA2 genes possibly contribute to the etiology of schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2005;137B:56-8.

Tavares H, Yacubian J, Talib LL, Barbosa NR, Gattaz WF. Increased phospholipase A2 activity in schizophrenia with absent response to niacin. *Schizophr Res*. 2003;61:1-6.

Tha K, Terae S, Nakagawa S, Inoue T, Kitagawa N, Kako Y, Nakato Y, Akter Popy K, Fujima N, Zaitzu Y, Yoshida D, Ito YM, Miyamoto T, Koyama T, Shirato H. Impaired integrity of the brain parenchyma in non-geriatric patients with major depressive disorder revealed by diffusion tensor imaging. *Psychiatry Research*. 2013;212:208-215.

Turetsky BI, Colbath EA, Gur RE. P300 subcomponent abnormalities in schizophrenia: I. Physiological evidence for gender and subtype specific differences in regional pathology. *Biol Psychiatry*. 1998;43:84-96.

van Haren NE, Hulshoff Pol HE, Schnack HG, Cahn W, Mandl RC, Collins DL, Evans AC, Kahn RS. Focal gray matter changes in schizophrenia across the course of the illness: a 5-year follow-up study. *Neuropsychopharmacology*. 2007;32: 2057-2066.

- van Haren NE, Pol HE, Schnack HG, Cahn W, Brans R, Carati I, Rais M, Kahn RS. Progressive brain volume loss in schizophrenia over the course of the illness: evidence of maturational abnormalities in early adulthood. *Biol Psychiatry*. 2008; 63:106-113.
- Verleger R, Wascher E, Arolt V, Daase C, Strohm A, Kömpf D. Slow EEG potentials (contingent negative variation and post-imperative negative variation) in schizophrenia: their association to the present state and to Parkinsonian medication effects. *Clin Neurophysiol*. 1999;110:1175-92.
- Vijayakumar N, Bartholomeusz C, Whitford T, Hermens DF, Nelson B, Rice S, Whittle S, Pantelis C, McGorry P, Schäfer MR, Amminger GP. White matter integrity in individuals at ultra-high risk for psychosis: a systematic review and discussion of the role of polyunsaturated fatty acids. *BMC Psychiatry*. 2016;16:287.
- Vita A, De Peri L, Silenzi C, Dieci M. Brain morphology in first-episode schizophrenia: a meta-analysis of quantitative magnetic resonance imaging studies. *Schizophr Res*. 2006;82:75-88.
- Wagner G, De la Cruz F, Schachtzabel C, Güllmar D, Schultz C, Schlösser R, Bär K, Koch K. Structural and functional dysconnectivity of the fronto-thalamic system in schizophrenia: a DCM-DTI study. *Cortex*. 2015;66:35-45.
- Wakana S, Jiang H, Nagae-Poetscher LM, van Zijl PC, Mori S. Fiber tract-based atlas of human white matter anatomy. *Radiology*. 2004;230:77-87.
- Walterfang M, Wood SJ, Velakoulis D, Pantelis C. Neuropathological, neurogenetic and neuroimaging evidence for white matter pathology in schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev*. 2006;30:918-948.
- Wang Q, Cheung C, Deng W, Li M, Huang C, Ma X, Wang Y, Jiang L, Sham PC, Collier DA, Gong Q, Chua SE, McAlonan GM, Li T. White-matter microstructure in

- previously drug-naïve patients with schizophrenia after 6 weeks of treatment. *Psychol Med.* 2013;43:2301-9.
- Wheeler-Kingshott CA, Cercignani M. About "axial" and "radial" diffusivities. *Magn Reson Med.* 2009;61:1255-60.
- Williamson P, Drost D, Stanley J, Carr T, Morrison S, Merskey H. Localized phosphorus 31 magnetic resonance spectroscopy in chronic schizophrenic patients and normal controls. *Arch Gen Psychiatry.* 1991;48:578.
- World Health Organization. *The global burden of disease: 2004 update.* 2008, (http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004update_full.pdf).
- Woodruff PW, Wright IC, Bullmore ET, Brammer M, Howard RJ, Williams SC, Shapleske J, Rossell S, David AS, McGuire PK, Murray RM. Auditory hallucinations and the temporal cortical response to speech in schizophrenia: a functional magnetic resonance imaging study. *Am J Psychiatry.* 1997;154:1676-82.
- Wright IC, Rabe-Hesketh S, Woodruff PW, David AS, Murray RM, Bullmore ET. Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 2000;157:16-25.
- Xiao L, Xu H, Zhang Y, Wei Z, He J, Jiang W, Li X, Dyck LE, Devon RM, Deng Y, Li XM. Quetiapine facilitates oligodendrocyte development and prevents mice from myelin breakdown and behavioral changes. *Mol Psychiatry.* 2008;13:697-708.
- Yacubian J, de Castro CC, Ometto M, Barbosa E, de Camargo CP, Tavares H, Cerri GG, Gattaz WF. 31P-spectroscopy of frontal lobe in schizophrenia: alterations in phospholipid and high-energy phosphate metabolism. *Schizophr Res.* 2002;58:117-22.

- Yadav A, Malik GK, Trivedi R, Prasad A, Nath K, Prasad KN, Agrawal P, Rathore RK, Tripathi RP, Gupta RK. Correlation of CSF neuroinflammatory molecules with leptomeningeal cortical subcortical white matter fractional anisotropy in neonatal meningitis. *Magn Reson Imaging*. 2009;27:214-21.
- Yang G, Xu H, Zhang H, Yu Q, Wu Y, Shi J, Rao W, You Y, Kou C, Yu Y. Association between PLA2G12A Polymorphisms and Schizophrenia in a Han Chinese Population from Northeast China. *PLoS One*. 2016;11:e0159584.
- Yao JK, Leonard S, Reddy RD. Membrane phospholipid abnormalities in postmortem brains from schizophrenic patients. *Schizophr Res*. 2000;42:7-17.
- Yao L, Lui S, Liao Y, Du MY, Hu N, Thomas JA, Gong QY. White matter deficits in first episode schizophrenia: an activation likelihood estimation meta-analysis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2013;45:100-6.
- Yu Y, Tao R, Shi J, Zhang X, Kou C, Guo Y, Zhang X, Lin X, Liu S, Ju G, Xu Q, Shang H, Shen Y, Wei J. A genetic study of two calcium-independent cytosolic PLA2 genes in schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2005;73:351-4.
- Zacharaki EI, Morita N, Bhatt P, O'Rourke DM, Melhem ER, Davatzikos C. Survival analysis of patients with high-grade gliomas based on data mining of imaging variables. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2012;33:1065-71.
- Zalesky A, Fornito A, Seal ML, Cocchi L, Westin CF, Bullmore ET, Egan GF, Pantelis C. Disrupted axonal fiber connectivity in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2011;69:80-9.
- Zanetti MV, Schaufelberger MS, de Castro CC, Menezes PR, Scazufca M, McGuire PK, Murray RM, Busatto GF. White matter hyperintensities in first-episode psychosis. *Br J Psychiatry*. 2008;193:25-30.

- Zanetti MV, Jackowski MP, Versace A, Almeida JRC, Hassel S, Duran FLS, Busatto GF, Kupfer DJ, Phillips ML. State-dependent microstructural white matter changes in bipolar I depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2009;259:316-328.
- Zeng B, Ardekani BA, Tang Y, Zhang T, Zhao S, Cui H, Fan X, Zhuo K, Li C, Xu Y, Goff DC, Wang J. Abnormal white matter microstructure in drug-naive first episode schizophrenia patients before and after eight weeks of antipsychotic treatment. *Schizophrenia Research*. 2016;172:1-8.
- Zhang Y, Zhang H, Wang L, Jiang W, Xu H, Xiao L, Bi X, Wang J, Zhu S, Zhang R, He J, Tan Q, Zhang D, Kong J, Li XM. Quetiapine enhances oligodendrocyte regeneration and myelin repair after cuprizone-induced demyelination. *Schizophr Res*. 2012;138:8-17.