

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

BRENO FIUZA CRUZ

**Associações entre neurocognição, cognição social e estresse oxidativo na
esquizofrenia**

Belo Horizonte

2017

BRENO FIUZA CRUZ

Associações entre neurocognição, cognição social e estresse oxidativo na esquizofrenia

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), como pré-requisito parcial para obtenção do título de doutor em Neurociências.

Orientador: Prof. João Vinícius Salgado

Belo Horizonte

2017

043

Cruz, Breno Fiuza.

Associações entre neurocognição, cognição social e estresse oxidativo na esquizofrenia [manuscrito] / Breno Fiuza Cruz. - 2017.

94 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. João Vinícius Salgado.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas.

1. Neurociências - Teses. 2. Esquizofrenia. 3. Cognição. 4. Estresse oxidativo. 5. Memória de curto prazo. I. Salgado, João Vinícius. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 612.8

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que participaram deste trabalho, especialmente aos colegas do projeto PESQUIZO e aos controles voluntários. Agradeço especialmente aos pacientes, já que este trabalho não teria origem ou propósito se não fosse por eles.

“A ciência, uma vez que deve ser executada por seres humanos, é uma atividade de cunho social. Seu progresso se faz por meio do presentimento, da visão e da intuição. Boa parte das transformações que sofre ao longo do tempo não corresponde a uma aproximação da verdade absoluta, mas antes a uma alteração das circunstâncias culturais, que tanta influência exercem sobre ela. Os fatos não são fragmentos de informação puros e imaculados; a cultura também influencia o que vemos e o modo como vemos. Além disso, as teorias não são induções inexoráveis obtidas a partir dos fatos. As teorias mais criativas com frequência são visões imaginativas aplicadas aos fatos, e a imaginação também deriva de uma fonte marcadamente cultural.”

In: A Falsa Medida do Homem

Stephen Jay Gould

“Sempre foi forte a tendência a se acreditar que qualquer coisa dotada de um nome deve constituir uma entidade ou um ser dotado de uma existência própria independente. E, quando não se conseguiu detectar uma entidade real que correspondesse ao nome, nem por isto os homens acharam que essa entidade não existia; em vez disso, imaginaram que se tratava de algo particularmente abstruso e misterioso.”

John Stuart Mill

Associações entre neurocognição, cognição social e estresse oxidativo na esquizofrenia

INTRODUÇÃO: A esquizofrenia é um transtorno mental grave e incapacitante, de etiologia ainda pouco elucidada e do qual não se dispõe de tratamentos completamente efetivos para todas as dimensões do transtorno. Os prejuízos na neurocognição e na cognição social desempenham papel fundamental no prejuízo funcional característico da doença. Uma possível contribuição para a fisiopatologia do transtorno parece dever-se ao estresse oxidativo, que prejudica a função neuronal, principalmente de interneurônios GABAérgicos que expressam parvalbumina (PVIs) e dos receptores NMDA. Esta disfunção pode levar a prejuízos na função neurocognitiva (principalmente memória de trabalho) e na cognição social. **OBJETIVOS:** analisar os prejuízos na neurocognição e cognição social e suas relações com estresse oxidativo. Contribuir com a validação de duas escalas que avaliam cognição social. **MATERIAL E MÉTODOS:** 104 pacientes estabilizados vivendo na comunidade com diagnóstico de esquizofrenia e 89 controles foram avaliados. A neurocognição foi avaliada através da Breve Avaliação da Cognição na Esquizofrenia (BACS). A cognição social foi avaliada através de um teste de Teoria da Mente (Teste das Insinuações - *Hinting Task*) e de um teste de processamento de emoções (Reconhecimento de Expressões Faciais - REF). A capacidade funcional foi avaliada através da Avaliação de Habilidades Baseadas no Desempenho da Universidade da Califórnia (UPSA). O estresse oxidativo foi avaliado através da medida dos níveis séricos de glutathiona (GSH) e substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS). Foram feitas correlações simples entre as variáveis estudadas, bem como regressão linear múltipla para se estabelecer os determinantes da cognição social, capacidade funcional e memória de trabalho. **RESULTADOS:** Existe uma diferença estatística significativa entre pacientes e controles quanto à neurocognição e cognição social (Teste das Insinuações – $Z=6,85$; $p<0,001$. REF – $t=4,88$; $p<0,001$), bem como quanto ao nível sérico de GSH ($Z=3,56$; $p<0,001$) e TBARS ($Z=5,51$; $P<0,001$). Os principais preditores de variação na cognição social foram os domínios neurocognitivos. A cognição social explica uma variação adicional de 18% em relação à neurocognição quanto à capacidade funcional. Maior nível sérico de TBARS nos pacientes relacionou-se a pior desempenho no teste de memória de trabalho ($r=-0,39$; $p=0,002$) e mais a nenhum outro domínio cognitivo. Estresse oxidativo é mais relevante para o desempenho no teste de memória de trabalho (Beta padronizado = $-0,36$; IC= $-2,52$ a $-13,71$) do que idade e sintomas negativos. Maior nível de TBARS correlacionou-se a pior desempenho no Teste das Insinuações (teoria da mente) nos controles ($\rho=-,036$; $p=0,038$ após correção de Bonferroni para correlações múltiplas). **DISCUSSÃO E CONCLUSÃO:** As relações entre neurocognição, cognição social e capacidade funcional encontradas neste trabalho têm respaldo na literatura. A validade dos testes que avaliam a cognição social pode ser determinada, já que a relação destes testes com outras variáveis clínicas é semelhante à observada na literatura. A relação entre maior peroxidação lipídica medida pelo TBARS e pior desempenho em memória de trabalho é compatível com os modelos teóricos de maior vulnerabilidade dos PVIs ao estresse oxidativo.

Palavras-chave: esquizofrenia, neurocognição, cognição social, estresse oxidativo, desempenho funcional, validação, memória de trabalho.

Relationships between neurocognition, social cognition and oxidative stress in schizophrenia

INTRODUCTION: Schizophrenia is a severe and incapacitating mental disorder of unknown etiology that does not have completely effective treatments for all dimensions of the disorder. Deficits in neurocognition and social cognition play a fundamental role in the functional impairment of the disease. A possible contribution to the pathophysiology of the disorder seems to be due to oxidative stress, which impairs neuronal function, especially of GABAergic parvalbumin interneurons (PVIs) and NMDA receptors. This dysfunction can lead to impairments in neurocognitive function (especially working memory) and social cognition. **OBJECTIVES:** to analyze deficits in neurocognition and social cognition and their relationships with oxidative stress. To contribute with the validation of two scales that evaluate social cognition. **MATERIAL AND METHODS:** 104 stable patients living in the community diagnosed with schizophrenia and 89 controls were evaluated. Neurocognition was evaluated through the Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia (BACS). Social cognition was assessed through a test of Theory of Mind (Hinting Task) and an emotion processing test (Recognition of Facial Expressions -RFE). Functional ability was assessed using the UCSD Performance-based Skills Assessment (UPSA). Oxidative stress was assessed by measuring serum levels of glutathione (GSH) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). Simple correlations were made between the variables studied, as well as multiple linear regressions to establish the determinants of social cognition, functional capacity and working memory. **RESULTS:** There is a statistically significant difference between patients and controls regarding neurocognition and social cognition (Hinting Task – $Z=6,85$; $p<0,001$. RFE – $t=4,88$; $p<0,001$), as well as serum level of GSH ($Z=3,56$; $p<0,001$) and TBARS ($Z=5,51$; $P<0,001$). The main predictors of variation in social cognition were neurocognitive domains. Social cognition explains an additional variation of 18% beyond neurocognition regarding functional capacity. Higher serum level of TBARS in patients was associated with poorer performance in the working memory test ($r=-0,39$; $p=0,002$) and no other cognitive domain. Oxidative stress is more relevant to performance in working memory test (Standard Beta: $-0,36$; CI= $-2,52$ a $-13,71$) than age and negative symptoms. Higher level of TBARS correlated with worse performance in the Hinting Task (Theory of Mind) in healthy controls ($\rho=-,036$; $p=0,038$, after Bonferroni correction for multiple correlations). **DISCUSSION AND CONCLUSION:** The relationships between neurocognition, social cognition and functional capacity found in this study are supported by the literature. The validity of the tests that evaluate the social cognition can be determined, since the relation of these tests with other clinical variables is similar to the one observed in the literature. The relationship between greater lipid peroxidation measured by TBARS and worse performance in working memory is compatible with the theoretical models of greater vulnerability of PVIs to oxidative stress.

Keywords: schizophrenia, neurocognition, social cognition, oxidative stress, functional capacity, validation, working memory.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. O cérebro é suscetível ao estresse oxidativo	19
Figura 2. As relações entre radicais livres e algumas defesas antioxidantes	20
Figura 3. Síntese da Glutathiona (GSH)	21
Figura 4. Ilustração esquemática do envolvimento do estresse oxidativo na esquizofrenia ...	22
Figura 5. Atividade do NMDAR potencializa a capacidade dos sistemas antioxidantes neuronais	32
Figura 6. Relações entre hipofunção do NMDAR, PVIS e estresse oxidativo	33
Figura 7. Reação entre o ácido tiobarbitúrico e malonaldeído	42
Figura 8. Reação entre a GSH e o DTNB	43
Figura 9. Gráfico de barra de erro (95% intervalo de confiança) da diferença entre as médias de controles e pacientes no Teste das Insinuações	46
Figura 10. Gráfico de barra de erro (95% intervalo de confiança) da diferença entre as médias de controles e pacientes no Teste REF	47
Figura 11. Curva ROC Teste das Insinuações	48
Figura 12. Curva ROC Reconhecimento de Expressões Faciais	49
Figura 13: Gráfico de barras e erros para diferença entre as médias com intervalo de 95% de confiança da diferença entre as médias entre pacientes e controles quanto aos tipos de emoções no Teste de Reconhecimento de Expressões	53
Figura 14: Gráfico de barras e erros para diferença entre as médias com intervalo de 95% de confiança da diferença entre as médias entre pacientes e controles quanto à intensidade das emoções no Teste de Reconhecimento de Expressões	54
Figura 15. Gráfico de barras da diferença entre as medianas de controles e pacientes (com intervalo de confiança de 95%) na concentração sérica de TBARS	59
Figura 16. Gráfico de barras da diferença entre as medianas de controles e pacientes (com intervalo de confiança de 95%) na concentração sérica de GSH	60
Figura 17. Gráfico de dispersão entre os valores de TBARS e Teste de sequenciamento de dígitos	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados sócio-demográficos e clínicos para pacientes e controles	45
Tabela 2. Diferença entre controles e pacientes – cognição social	46
Tabela 3. Teste de Mann-Whitney para diferença dos itens entre pacientes e controles do Teste das Insinuações	49
Tabela 4. Média e desvio-padrão dos tipos e intensidade das emoções no teste REF	50
Tabela 5. Comparação entre os níveis de intensidade das emoções do REF nos pacientes ...	51
Tabela 6. Comparação entre os níveis de intensidade das emoções do REF nos controles ...	51
Tabela 7. Teste t de Student para comparação entre as médias de pacientes e controles quanto aos tipos e intensidade de emoções no teste REF	52
Tabela 8. Correlações de Cognição Social	55
Tabela 9. Correlações entre cognição Social e neurocognição	55
Tabela 10. Modelo de regressão linear múltipla para o Teste das Insinuações	56
Tabela 11. Variáveis excluídas na regressão linear do Teste das Insinuações	56
Tabela 12. Modelo de regressão linear múltipla para o Teste REF	56
Tabela 13. Variáveis excluídas regressão linear Teste das Insinuações	57
Tabela 14. Correlações simples significativas UPSA	57
Tabela 15. Modelo de regressão linear múltipla para a UPSA	57
Tabela 16. Variáveis excluídas da regressão linear UPSA	58
Tabela 17. Diferença entre pacientes e controles quanto à concentração sérica de TBARS e GSH	58
Tabela 18: Diferença entre pacientes tabagistas e não tabagistas quanto à concentração sérica de TBARS e GSH	60
Tabela 19: Diferença entre controles tabagistas e não tabagistas quanto à concentração sérica de TBARS e GSH	60
Tabela 20: Diferença entre controles e pacientes tabagistas quanto à concentração sérica de TBARS e GSH	61
Tabela 21: Diferença entre controles e pacientes não tabagistas quanto à concentração sérica de TBARS e GSH	61
Tabela 22. Correlações (r) do teste de sequenciamento de dígitos	62
Tabela 23. Coeficientes de regressão das variáveis (TBARS e idade) que entraram no modelo de predição do teste de sequenciamento de dígitos	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAT	- Catalase
CGCL	- Subunidade catalítica da glutamato-cisteína ligase
DTNB	- Ácido dinitrobenzóico
EROs	- Espécies reativas de oxigênio
GCL	- Glutamato cisteína ligase
GR	- Glutathiona redutase
GS	- Glutathiona sintetase
GSH	- Glutathiona
GSH-Px	- Glutathiona peroxidase
GSSG	- Dissulfureto de glutathiona
iGLUs	- Receptores glutamatérgicos ionotrópicos
LTP	- Potenciação de longa duração
MDA	- Malonaldeído
MMN	- <i>Mismatch negativity</i>
NAC	- N-acetilcisteína
NC	- Neurocognição
NMDAR	- Receptores glutamatérgicos tipo N-metil-D-aspartato
NPs	- Neurônios piramidais
PANSS	- Escala das síndromes positiva e negativa
PE	- Processamento de emoções
PFC	- Cortéx pré-frontal

PUFAs	- Ácidos graxos poliinsaturados
PV	- Parvalbumina
PVIs	- Interneurônios GABAérgicos que expressam parvalbumina
redox	- Reações de oxidação-redução
REF	- Reconhecimento de expressões faciais
SC	- Cognição social
SNC	- Sistema nervoso central
SOD	- Superóxido dismutase
TBARS	- Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
ToM	- Teoria da Mente

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
1.1.	NEUROCOGNIÇÃO E ESQUIZOFRENIA	13
1.2.	COGNIÇÃO SOCIAL E ESQUIZOFRENIA	14
1.3.	RADICAIS LIVRES, DEFESAS ANTIOXIDANTES E ESTRESSE OXIDATIVO	16
1.4.	ESTRESSE OXIDATIVO E ESQUIZOFRENIA	22
1.5.	INTERNEURÔNIOS GABAÉRGICOS QUE EXPRESSAM PARVALBUMINA	24
1.6.	A DISFUNÇÃO DOS PVIS NA ESQUIZOFRENIA PODE SER DEVIDO AO ESTRESSE OXIDATIVO ..	26
1.7.	RECEPTORES N-METIL-D-ASPARTATO E SUAS RELAÇÕES COM ESTRESSE OXIDATIVO, GSH E PVIS	28
1.7.1.	A hipofunção NMDA na esquizofrenia	28
1.7.2.	Hipofunção do NMDAR altera os PVIS	30
1.7.3.	Hipofunção do NMDAR, PVIs e estresse oxidativo .	30
1.8.	NMDAR, PVIS, ESTRESSE OXIDATIVO E FUNÇÕES COGNITIVAS	33
2.	OBJETIVOS	36
2.1.	GERAIS	36
2.2.	ESPECÍFICOS	37
3.	MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1.	PARTICIPANTES	37
3.2.	ESCALAS DE AVALIAÇÃO	38
3.2.1.	Clínicas/ Psicopatologia	38
3.2.2.	Neurocognição	38
3.2.3.	Avaliação da Cognição Social	40
3.2.4.	Avaliação do desempenho funcional	41
3.3.	DETERMINAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO	41
3.3.1.	Determinação dos níveis de peroxidação lipídica	41

3.3.2.	Determinação da glutatona reduzida através de sua reação com o ácido dinitrobenzóico (DTNB)	42
3.4.	VALIDAÇÃO DOS TESTES DE COGNIÇÃO SOCIAL	43
3.5.	DESENHO DO EXPERIMENTO	43
3.6.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
4.	RESULTADOS	44
4.1.	AMOSTRA	44
4.2.	PROPRIEDADES PSICOMÉTRICAS E VALIDADE DOS TESTES DE COGNIÇÃO SOCIAL (TESTE DAS INSINUAÇÕES – <i>HINTING TASK</i> – E RECONHECIMENTO DE EXPRESSÕES FACIAIS) .	45
4.2.1.	Diferença ente pacientes e controles	45
4.2.2.	Relações com dados sócio-demográficos, sintomatologia, neurocognição e capacidade funcional	54
4.3.	ESTRESSE OXIDATIVO	58
4.3.1.	Comparação de níveis séricos de GSH e TBARS entre pacientes e controles	58
4.3.2.	Correlações entre as medias de estresse oxidativo	61
4.3.3.	Estresse oxidativo e dados sócio-demográficos, dose de antipsicóticos, sintomatologia e desempenho funcional	61
4.3.4.	Estresse oxidativo e neurocognição	61
4.3.5.	Estresse oxidativo e cognição social	63
5.	DISCUSSÃO	64
5.1.	VALIDAÇÃO DOS TESTES DE COGNIÇÃO SOCIAL	64
5.2.	ESTRESSE OXIDATIVO	67
6.	CONCLUSÃO	71
	REFERÊNCIAS	72
	APÊNDICE – TESTE DAS INSINUAÇÕES (<i>HINTING TASK</i>)	84

1. INTRODUÇÃO

Desde o início do século 20, a esquizofrenia é diagnosticada com base na observação de "sintomas positivos", como delírios e alucinações, sintomas desorganizados, e "sintomas negativos", incluindo anedonia e embotamento afetivo. No entanto, em paralelo a estes sintomas evidentes, encontra-se também uma série de déficits na função cognitiva, cuja contribuição para o prejuízo no desempenho funcional que ocorre neste transtorno é substancial (SHEFFIELD & BARCH, 2016).

Esforços para identificar características da esquizofrenia que possam explicar o desempenho funcional prejudicado nessa patologia, mesmo após a estabilização quanto à sintomatologia positiva, estão em andamento desde as primeiras conceitualizações da doença. O foco nos sintomas positivos como potenciais preditores de funcionamento foi deslocado para os déficits neurocognitivos cerca de três décadas atrás, e mais recentemente, para a cognição social, com centenas de estudos demonstrando que o funcionamento cognitivo é mais relevante ao funcionamento no mundo real do que os sintomas positivos da esquizofrenia (SAVLA et al., 2013).

A esquizofrenia é um transtorno em que fatores genéticos e ambientais interagem de forma sinérgica, aumentando a susceptibilidade ao transtorno. Entretanto, sua síndrome completa geralmente surge na adolescência ou na idade de adulto jovem. Assim, este período relativamente longo até o aparecimento dos primeiros sintomas, juntamente com a existência de uma fase prodrômica clara, apontam para a possibilidade de intervenções terapêuticas antes do surgimento dos sintomas síndrômicos do transtorno. Desta forma, insights relativos à etiologia da esquizofrenia podem permitir aos clínicos buscarem tratamentos eficazes durante este período de tempo (HARDINGHAM et al., 2016), embora até o momento não exista nenhum tratamento aprovado para os déficits cognitivos e sintomas negativos na esquizofrenia (CITROME, 2014).

A esquizofrenia é uma doença mental grave, incapacitante, complexa, heterogênea, pouco compreendida e para a qual ainda não dispomos de tratamento satisfatório. Uma possibilidade de avanço no entendimento de sua fisiopatologia vem da compreensão dos déficits cognitivos característicos da doença, em função de sua relação com medidas funcionais e de qualidade de vida, inclusive medidas de reinserção laborativa e social. Assim, é necessário que se estude os fatores que contribuem para a fisiopatologia da doença e suas relações com os déficits na neurocognição e cognição social.

Os estudos sobre a etiologia e patogênese da esquizofrenia apontam para uma gama vertiginosa de várias anormalidades em neurotransmissores, tipos de células, regiões cerebrais e associações epidemiológicas. Pode-se pesquisar a literatura médica sobre a maioria das substâncias corporais e encontrar sugestões de relações com a esquizofrenia. As principais linhas de pesquisa procuram integrar os papéis da susceptibilidade genética, anomalias no neurodesenvolvimento, alterações sinápticas e fatores ambientais, tais como infecções neonatais e uso de substâncias. Entretanto, a maneira pela qual esses fatores distintos se fundem na neurobiologia da esquizofrenia é em grande parte desconhecido (KOGA et al., 2016). Nesta introdução, vamos explorar como o estresse oxidativo pode unificar muitos desses mecanismos que parecem díspares, especialmente as disfunções no sistema GABAérgico e dos receptores glutamatérgicos NMDA, referidos na literatura como dois dos principais sistemas disfuncionais na esquizofrenia (KOGA et al., 2016). Vamos também mostrar evidências que ligam o estresse oxidativo aos prejuízos neurocognitivos e na cognição social observados neste transtorno, via alterações do sistema GABAérgico e de receptores NMDA. Iniciaremos entretanto conceitualizando a cognição social e demonstrando sua importância (e da neurocognição) no desempenho funcional na esquizofrenia.

1.1. NEUROCOGNIÇÃO E ESQUIZOFRENIA

Os prejuízos cognitivos na esquizofrenia geralmente estão presentes antes do início do primeiro episódio psicótico, acentuando-se durante ou próximo ao primeiro episódio psicótico. Estes prejuízos permanecem estáveis nas fases crônicas e persistem ao longo de todo o curso do transtorno. (LEPAGE et al., 2014). Eles também podem ser observados em familiares de primeiro grau saudáveis de pacientes com esquizofrenia, o que sugere que a anormalidade neurobiológica subjacente que conduz ao déficit cognitivo tem um componente genético. Como já relatado, os déficits cognitivos também estão associados a prejuízos no funcionamento diário e desempenho funcional, mas não estão relacionados aos sintomas positivos do transtorno (LEPAGE et al., 2016; SHEFFIELD & BARCH, 2016; GREEN et al., 2015).

Além disso, estes déficits estão presentes numa grande variedade de domínios cognitivos. Os pacientes com esquizofrenia consistentemente apresentam déficits que variam de 0,5 a 1,75 desvios padrão abaixo da média de indivíduos saudáveis em tarefas neuropsicológicas que

medem uma grande variedade de domínios cognitivos, tais como memória episódica, memória de trabalho, funcionamento executivo, linguagem, velocidade de processamento, atenção e percepção. Este padrão consistente de achados levou à hipótese de um déficit cognitivo generalizado na esquizofrenia, o que sugere que a ampla gama de prejuízos cognitivos observados pode ser o resultado de um mecanismo neurobiológico comum (SHEFFIELD & BARCH, 2016).

1.2. COGNIÇÃO SOCIAL E ESQUIZOFRENIA

A capacidade em perceber comportamentos sociais é dependente de um conjunto de habilidades conhecidas como "cognição social". Este termo é definido por pesquisadores em esquizofrenia como as operações mentais por detrás das interações sociais, as quais incluem a capacidade humana em perceber as intenções e disposições dos outros. Ou, de forma mais simples, como as pessoas pensam e formam impressões sobre pessoas (SAVLA et al., 2013; COUTURE et al., 2006; GREEN et al., 2005).

Oito domínios separados de comprometimento cognitivo foram identificados na esquizofrenia, de acordo com o consenso para Pesquisas em Avaliação e Tratamento para Melhorar a Cognição em Esquizofrenia (MATRICS), do Instituto Norte-Americano de Saúde Mental (NIMH). Sete destes (velocidade de processamento, atenção/ vigilância, memória de trabalho, memória verbal e visual, raciocínio e resolução de problemas e compreensão verbal) pertencem ao domínio do funcionamento neurocognitivo (NC). A cognição social (SC) foi identificada como um domínio adicional. SC é uma construção multidimensional que compreende os seguintes subdomínios: (1) processamento de emoções (PE); (2) percepção e conhecimento social; (3) teoria da mente (ToM) e (4) viés atribucional, com os subdomínios da ToM e PE sendo os mais estudados. Obviamente, o processamento de informação socialmente relevante também depende da NC (por exemplo, atenção ou memória). Apesar disto, pesquisas mostram que NC e SC são domínios predominantemente distintos (FETT et al., 2011; GREEN et al., 2005).

O processamento de emoções refere-se à percepção e uso de emoções. Os testes mais utilizados avaliam identificações de expressões emocionais em faces (DE ACHAVAL et al., 2010).

A fim de navegar com sucesso no mundo social, as pessoas precisam ser capazes de inferir com precisão o estado mental e emocional de outras pessoas. Uma das fontes mais ricas de tais inferências é a face. Além de fornecer informações sobre a identidade, idade e sexo, rostos transmitem informações sobre estados mentais momentâneos e, conseqüentemente, as potenciais intenções dos outros. Esses estados fornecem informações relevantes para o observador sobre como se comportar no meio social (SAID et al., 2011).

O impacto dos prejuízos no reconhecimento de expressões faciais não é surpreendente se pensarmos, como salientado por Darwin em seu livro “A expressão das emoções nos homens e nos animais”, que as expressões faciais são os alicerces da interação social, conferindo pistas vitais para inferirmos sobre a motivação e intenção de outros (HARGREAVES et al., 2016). Assim, fica claro porque a PE é um dos domínios da cognição social mais pesquisado na esquizofrenia.

Para podermos inferir a respeito dos estados mentais dos outros, é necessário que estejamos equipados com uma habilidade que nos permita desenvolver uma medida (isto é, um sistema de referências que viabilize comparações entre nosso mundo interno, subjetivo, e o mundo externo, dos outros) daquilo que os outros pensam, sentem, desejam, acreditam e duvidam. Esta capacidade foi denominada “Teoria da Mente” (ANG & PRIDMORE, 2009; CORCORAN et al., 1995). Segundo Premack e Woodruff (1978), que inclusive introduziram o termo nas ciências cognitivas, um indivíduo tem uma Teoria da Mente se ele imputa estados mentais para si mesmo e para os outros. Estes mesmos autores completam que um sistema de inferências desta natureza é apropriadamente visto como uma “teoria” porque tais estados não são diretamente observáveis e o sistema pode ser usado para fazer previsões (teorizações) sobre o comportamento dos outros.

O constructo da Teoria da Mente permite que se capture uma dimensão cognitiva que é especialmente relevante para as funções instrumentais e sociais da vida diária e que, em última análise, pode ter sido um fator decisivo para o êxito evolutivo da espécie humana. Com tal recurso cognitivo, o ser humano pôde, por exemplo, sofisticar as relações e a comunicação intra e intergrupo, habilitando-o a entender artifícios da expressão humana como a ironia, a dissimulação, o sofrimento, o interesse e a falsidade. (ANG & PRIDMORE, 2009).

Vários estudos e recente metanálise (LAVOIE et al., 2013) sugerem que déficits em PE e ToM estão presentes em parentes de primeiro grau de pacientes com esquizofrenia, são estáveis ao longo do tempo e não respondem ao tratamento com antipsicótico. Isso pode

indicar que esses domínios constituem um endofenótipo e um traço da esquizofrenia. (PARK et al., 2016; MONTAG et al., 2012; DE ACHAVAL et al., 2010; JANSSEN et al., 2003).

A metanálise de Savla et al. (2013) demonstrou que pacientes com esquizofrenia apresentam prejuízos da cognição social em relação aos controles, com tamanho de efeito (g) de 0,96 para ToM e 0,88 para PE. E embora os déficits na cognição social estejam moderadamente correlacionados à neurocognição, sintomas negativos e desorganizados, estes déficits mantêm-se relevantes mesmo quando se leva em consideração tais fatores, estando a cognição social prejudicada na esquizofrenia mesmo em pacientes estabilizados (SAVLA et al., 2013).

Como já relatado, uma das principais justificativas para se estudar a neurocognição e a cognição social é sua relação com o desempenho funcional. Vários estudos já demonstraram que, apesar de atualmente a remissão em relação à sintomatologia positiva ser uma realidade para grande parte dos pacientes com esquizofrenia, esta remissão não impede que os pacientes mantenham déficits funcionais permanentes e incapacitantes, prejudicando o pleno funcionamento social, educacional e ocupacional, e limitando a conquista de marcos da vida adulta (GREEN et al., 2015). Assim, compreender os aspectos que influenciam o desempenho funcional na esquizofrenia é essencial para se buscar tratamentos e abordagens que vão além da simples redução na sintomatologia positiva.

O papel fundamental da cognição social no prejuízo funcional está bem estabelecido na literatura atual. Recentes meta-análises investigaram as associações entre desempenho funcional, neurocognição e cognição social, concluindo que a cognição social está fortemente relacionada com o desempenho funcional (COUTURE et al., 2006; FETT et al., 2011).

1.3. RADICAIS LIVRES, DEFESAS ANTIOXIDANTES E ESTRESSE OXIDATIVO

Eucariotas geram a maior parte da sua energia através das mitocôndrias, cujo papel bioenergético inclui o ciclo de Krebs, a síntese de ATP/ fosforilação oxidativa, e a oxidação de ácidos graxos e aminoácidos. Tal como acontece com a maioria dos processos fisiológicos, tal metabolismo não é 100% eficiente e traz algumas desvantagens, como a geração de radicais livres que podem danificar estruturas celulares. Assim, a geração de radicais livres é resultado do papel paradoxal que o oxigênio pode apresentar ao metabolismo. Se, por um lado, o oxigênio é essencial para a vida e a respiração aeróbica tem vantagens significativas, por outro lado, o processo de redução de oxigênio pela água pode gerar radicais livres como

intermediários, com o potencial de causar danos aos tecidos. Estes radicais livres são mantidos em controle por famílias de enzimas protetoras cujas reações de oxidação-redução (redox) convertem os radicais livres nocivos em moléculas benignas e menos reativas. A desregulação ou esgotamento deste sistema de proteção contribui para a fisiopatologia de doenças humanas em que o estresse oxidativo e inflamação ocorrem, incluindo doenças neurodegenerativas tais como demência e esclerose lateral amiotrófica, e também para alterações observadas durante o envelhecimento (BITANHIRWE & WOO, 2011; WU et al., 2013; KOGA et al., 2016).

Radicais livres são átomos ou grupos de átomos com um número de elétrons não emparelhados, tornando-os assim substâncias altamente reativas que podem iniciar reações em cadeia. As espécies de radicais livres incluem espécies reativas de oxigênio (EROs), espécies reativas de nitrogênio (ERNs), radicais centrados em carbono e radicais centrados em enxofre, com as EROs representando a classe mais importante de radicais livres gerados nos sistemas vivos (BITANHIRWE & WOO, 2011; WU et al., 2013).

As principais EROs geradas em seres humanos são o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), e o radical hidroxila (OH^{\cdot}). O radical superóxido é gerado nos processos que envolvem oxidases, na auto-oxidação da hemoglobina, e na fotólise. O superóxido não é particularmente reativo por si só, mas pode ser cataliticamente convertido pela enzima superóxido dismutase (SOD) em peróxido de hidrogênio, que na presença de ferro produz o radical altamente reativo hidroxila (WU et al., 2013).

O estresse oxidativo ocorre como consequência de um controle redox inadequado, quando há a superprodução de EROs e/ou insuficiência dos mecanismos de defesa antioxidante. Em um estado redox equilibrado, com níveis de EROs adequados, estas são necessárias e benéficas para a função fisiológica normal. Elas podem proteger a célula contra infecções por patógenos invasores em locais de inflamação. EROs desempenham um papel fisiológico como segundos mensageiros na regulação do funcionamento da célula cardíaca e vascular; e também estão envolvidas na regulação da concentração de cálcio intracelular, na fosforilação e/ou desfosforilação de proteínas, e na ativação de fatores de transcrição (WU et al., 2013). EROs também podem desempenhar um papel essencial nos processos de aprendizagem e memória, como potenciação a longo prazo no hipocampo. Camundongos com superexpressão de SOD, que remove o superóxido, têm potenciação de longa duração (LTP), um processo básico para a consolidação da memória, prejudicada. O peróxido de hidrogênio também tem sido

implicado como um participante na LTP. Enquanto concentrações elevadas não surpreendentemente levam a deficiências em LTP, provavelmente por toxicidade, baixas concentrações podem aumentar a LTP dependente de receptores glutamatérgicos tipo N-metil-D-aspartato (NMDAR) por uma via que requer canais de cálcio voltagem dependentes (KOGA et al., 2016).

A produção excessiva de EROs, no entanto, pode ter efeitos prejudiciais por reagir indiscriminadamente com os componentes celulares, incluindo macromoléculas importantes em sistemas vivos, tais como DNA, proteínas, e lipídios. EROs podem perturbar a manutenção dos nucleótidos em seu estado natural, o que pode afetar a viabilidade do DNA, introduzir mutações, e modificar a expressão gênica. A oxidação de proteínas pelas EROs pode levar a perda de grupos sulfidril e modificações de aminoácidos que tornam as proteínas não funcionais. EROs também podem causar alterações peroxidativas em lipídios, que resultam em danos para a membrana celular, bem como para as membranas de organelas celulares (WU et al., 2013).

EROs podem levar a anormalidades patofisiológicas por vários mecanismos. Em primeiro lugar, pode haver danos diretos causados por estas moléculas, induzidos por inflamação ou hipoxia. Em segundo lugar, influências genéticas e ambientais podem esgotar as reservas de antioxidantes, levando a susceptibilidade aos insultos causados pelas EROs no cérebro, e possivelmente também na periferia do organismo, onde as alterações podem ser mais facilmente medidas. Um segundo insulto de influências ambientais ou alterações genéticas adicionais podem ter impacto sobre o desenvolvimento e funcionamento do cérebro, ultrapassando um limiar que levam a fenótipos clínicos ou endofenótipos mais leves. Finalmente, como já dito, a sinalização realizada pelas EROs, incluindo a via do NMDAR, parece contribuir para a sinalização neurotransmissora normal que pode influenciar o processamento da informação. Anormalidades nas EROs também neste caso podem ter impacto sobre susceptibilidade a doenças do sistema nervoso central (SNC) (KOGA et al., 2016).

Em particular, os componentes principais dos fosfolípidos de membrana, os ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), são altamente susceptíveis aos insultos e auto-oxidação pelos radicais livres, que geram radicais peróxido no interior das membranas e substâncias tóxicas como o malonaldeído (MDA), resultando em estruturas de membranas instáveis, alterando a fluidez e permeabilidade da membrana (WU et al., 2013).

O cérebro é particularmente sensível aos danos oxidativos, dado o seu teor relativamente baixo de defesas antioxidantes e ao seu elevado teor de metais, que podem catalisar a formação de EROs. O cérebro utiliza mais do que 20% de oxigênio consumido pelo corpo, mas compreende apenas 2% do peso corporal total. Assim, a exigência de alta energia do metabolismo oxidativo da glicose, além de uma concentração elevada de ácidos graxos poli-insaturados também tornam o cérebro mais vulnerável ao insulto oxidativo do que a maioria dos órgãos (BITANIHIRWE & WOO, 2011) (Figura 1).

Para proteger os sistemas biológicos da toxicidade dos radicais livres, vários mecanismos enzimáticos de defesa antioxidante celulares mantem a produção de EROs sob controle (Figura 2). As enzimas antioxidantes primárias contra os radicais superóxido incluem SOD, catalase (CAT), e glutathione peroxidase (GSH-Px). Estas enzimas atuam em conjunto na via metabólica de radicais livres, sendo que a atividade alterada de uma enzima, sem alterações de compensação em outras, pode conduzir a peroxidação lipídica e outros danos às células. Para impedir estes danos, o superóxido é convertido em primeiro lugar pela SOD em peróxido de hidrogênio, que é então decomposto em água e oxigênio pela CAT, impedindo assim a formação de radicais hidroxila. Além da CAT, GSH-Px é outra enzima antioxidante intracelular que converte os peróxidos e radicais hidroxila em formas não tóxicas através da oxidação da glutathione reduzida (GSH) em sua forma oxidada, dissulfureto de glutathione (GSSG). Para seu reaproveitamento, GSSG é convertido novamente em GSH pela glutathione redutase (GR) (GU et al., 2015).

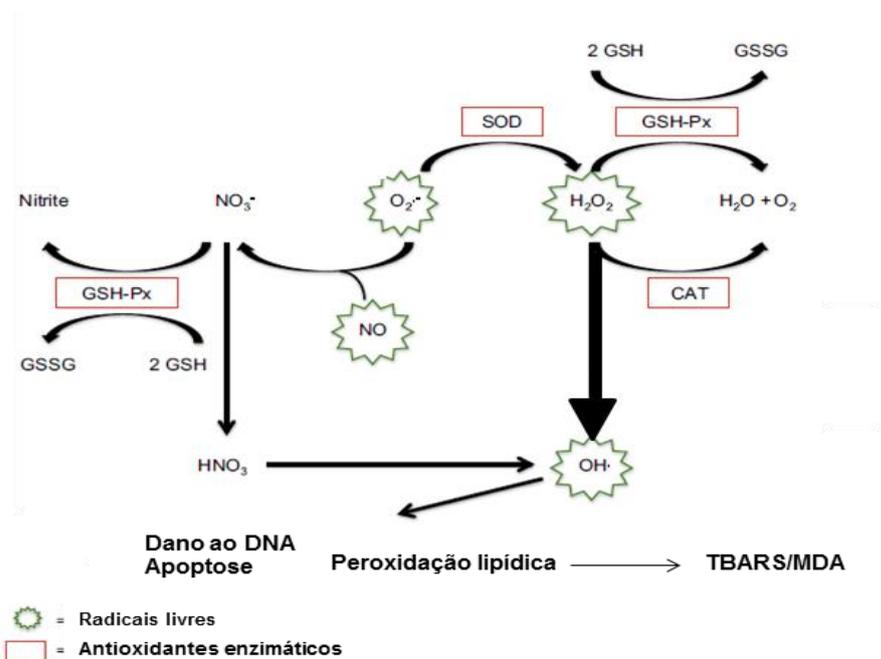
Figura 1. O cérebro é suscetível ao estresse oxidativo



Adaptado de Bitanihirwe e Woo (2011)

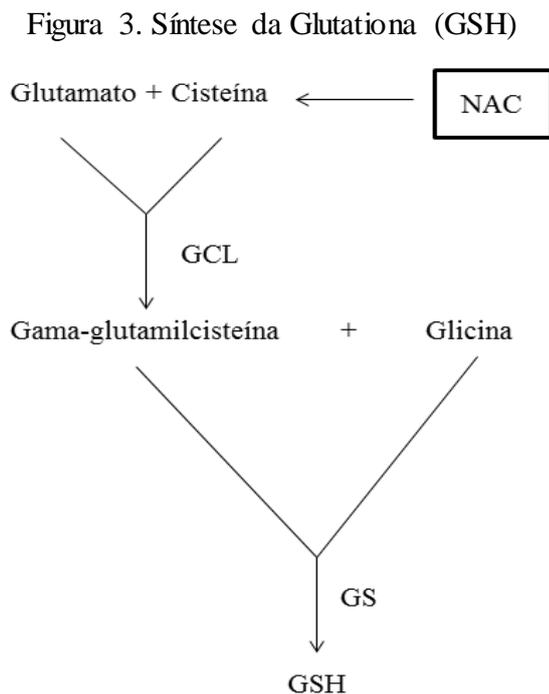
A glutathiona (GSH) é o mais importante antioxidante endógeno e desempenha um papel importante na desintoxicação de xenobióticos e seus metabolitos, bem como na manutenção do equilíbrio redox intracelular (GU et al., 2015). Ela foi descoberta em leveduras por dois cientistas independentes há mais de um século atrás. Em 1888, J. de Rey-Pailhade identificou uma substância a partir de células de levedura, que ele chamou de "philothione" (das palavras gregas que significa "amor" e "enxofre") devido à sua reatividade com enxofre para formar sulfeto de hidrogênio. Subsequentemente, F.G. Hopkins relatou esta substância como um dipeptídeo contendo glutamato e cisteína, e ele nomeou-a "glutathiona". Na verdade, a glutathiona é um tripeptídeo consistindo de glutamato, cisteína e glicina. No entanto, a importância da função da GSH em células vivas não recebeu muita atenção até a década de 1970, quando uma série de estudos sobre as reações bioquímicas relacionadas a GSH e o seu metabolismo emergiu (AOYAMA & NAKAKI, 2013). No cérebro, a concentração de GSH é mais elevada nas células da glia do córtex (GU et al., 2015).

Figura 2. As relações entre radicais livres e algumas defesas antioxidantes



As reações entre os radicais livres e os antioxidantes enzimáticos são apresentados no texto. Observar a importância da GSH como substrato para a ação da GSH-Px na transformação de H_2O_2 em oxigênio e água, bem como a peroxidação lipídica pelo $OH\cdot$, formando TBARS. (Adaptado de Flatow et al., 2013)

A via de manutenção da homeostase da GSH intracelular inclui o ciclo redox da GSH, absorção direta e síntese de-novo (Figura 3). GSH é sintetizada no citossol através de duas reações enzimáticas consecutivas dependentes de ATP, catalisadas pela glutamato cisteína ligase (GCL) e glutathiona sintetase (GS). A GCL medeia o primeiro passo da síntese de GSH, isto é, a reação entre glutamato e cisteína para formar gama-glutamilcisteína (GGC). Em seguida, GGC é acoplada com glicina para formar GSH, numa reação catalisada pela glutathiona sintetase (GS). A cisteína é o aminoácido limitante da velocidade para a síntese de GSH porque seus níveis são mais baixos do que os de glutamato e glicina, e GCL é a enzima limitante da velocidade. O grupo sulfidríla da unidade cisteína fornece os equivalentes redutores da GSH. Como já mencionado, GSH é oxidada em GSSG pela GSH-Px durante a redução de H_2O_2 ou outros hidroperóxidos orgânicos, e o GSSG pode ser convertido novamente à GSH pela glutathiona redutase (GR) (GU et al., 2015).

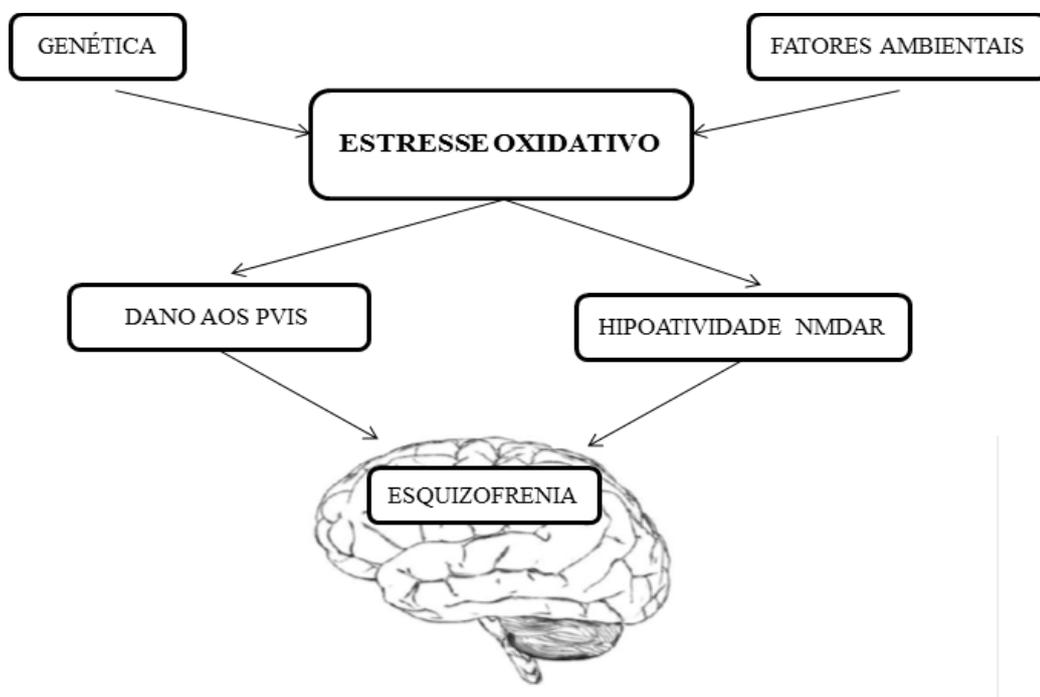


A GSH é sintetizada a partir dos aminoácidos glutamato, cisteína e glicina. A GCL é a enzima limitante e a cisteína o aminoácido limitante da velocidade da reação. N-acetilcisteína é um precursor para a síntese de cisteína. Mais informações no texto. Adaptado de Gu et al., 2015.

1.4. ESTRESSE OXIDATIVO E ESQUIZOFRENIA

Uma das hipóteses amplamente aceitas para a etiologia da esquizofrenia é que variações em vários genes de risco, cada uma com um efeito aditivo modesto, interagindo com fatores ambientais, contribuem para o fenótipo da doença. Influências ambientais têm sido implicadas como fatores de risco para esquizofrenia pois gêmeos idênticos têm uma taxa de concordância de apenas 50% e parentes de primeiro grau têm um risco de 5 a 10%. Riscos ambientais importantes incluem complicações pré-natais e durante o parto, tais como hipóxia, infecções neonatais, época de nascimento, abuso de drogas e doença auto-imune. Como tais fatores de risco muito diferentes podem aumentar o risco para esquizofrenia? Uma possível explicação é que todos estes fatores de riscos heterogêneos estão associados ao aumento no estresse oxidativo e inflamação. A perturbação causada pelo estresse oxidativo, especialmente durante as fases sensíveis do desenvolvimento do cérebro, pode ter um impacto adverso a circuitos cerebrais relevantes para o neurodesenvolvimento adequado, levando à esquizofrenia (KOGA et al., 2016; WU et al., 2013; BITANHIRWE & WOO, 2011). (Figura 4).

Figura 4. Ilustração esquemática do envolvimento do estresse oxidativo na esquizofrenia



Susceptibilidades genéticas e ambientais podem levar ao estresse oxidativo na esquizofrenia, que por sua vez, contribuem para algumas disfunções responsáveis pela fisiopatologia da doença, como dano aos PVIS e hipoatividade do NMDAR. Adaptado de Bitanhirwe e Woo (2011).

As anormalidades envolvendo defesas antioxidantes na esquizofrenia tem sido um achado duradouro, com associações em diferentes subpopulações de pacientes, metodologias de estudo e tecnologias de ensaio. Alterações de vários componentes do sistemas redox tem sido observadas em pacientes em primeiro episódio psicótico que nunca fizeram uso de antipsicóticos (LI et al., 2011; RAFFA et al., 2011), familiares de primeiro grau (BEN OTHMEN et al., 2008) e pacientes crônicos estabilizados vivendo na comunidade (FLATOW et al., 2013).

Estudos *post-mortem* relataram uma diminuição de 40% de GSH no núcleo caudado de pacientes com esquizofrenia (YAO et al., 2006). Da mesma forma, Gawryluk et al. (2010) relataram redução dos níveis de GSH no córtex pré-frontal de pacientes com esquizofrenia. Além disso, estudos de espectroscopia por ressonância magnética mostraram que os níveis de GSH estão reduzidos em 52% no córtex pré-frontal e em 27% no fluido cerebrospinal de pacientes com esquizofrenia que nunca receberam antipsicóticos (DO et al., 2000). O estudo de Baumann et al. (2016) encontrou que em pacientes com psicose de início recente, mas não nos controles, menor volume do hipocampo está associado com uma elevada atividade da GSH-Px, o que pode dar suporte a um papel do estresse oxidativo nos mecanismos da doença (BAUMANN et al., 2016).

Estudos em animais sugerem que os deficits de GSH e o estresse oxidativo no cérebro em desenvolvimento são suficientes para induzir um comportamento tipo esquizofrenia. A relevância causal do estresse oxidativo foi ainda reforçada pela demonstração de que o tratamento com o antioxidante e precursor da GSH, N-acetilcisteína (NAC), previne o estresse oxidativo em um modelo de desenvolvimento de esquizofrenia em ratos (o modelo de lesão neonatal do hipocampo ventral). Além disso, ao prevenir o estresse oxidativo, o tratamento com NAC inibe a emergência de deficits morfológicos, eletrofisiológicos e comportamentais. Os deficits cognitivos também foram aliviados pelo tratamento com NAC (HARDINGHAM & DO, 2016).

Uma abordagem importante para caracterizar o estresse oxidativo é medir diretamente seus subprodutos consequentes aos danos dos radicais livres a componentes celulares, tais como proteínas, lípidos e DNA. Como já relatado, o cérebro é especialmente enriquecido em lípidos, que responde por 40, 60, e 80% do peso seco da matéria cinzenta, substância branca, e mielina, respectivamente. Vários estudos têm identificado produtos de oxidação de lípidos aumentados na esquizofrenia, tais como MDA, que é medido através de substâncias reativas

ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), em plaquetas, eritrócitos, urina e soro/plasma (KOGA et al., 2016; WU et al., 2013).

Provas convergentes também apontam para alterações em PUFAs de membrana na esquizofrenia. Como os PUFAs são altamente susceptíveis a insultos de radicais livres, aumento no estresse oxidativo pode ser um dos mecanismos responsáveis pela redução de PUFAs nas membranas. Na verdade, o estresse oxidativo em pacientes em primeiro episódio de esquizofrenia está associado à diminuição do conteúdo de PUFAs e aumento de produtos de decomposição dos lípidos da membrana, possivelmente com uma base familiar. Em particular, a diminuição dos níveis de PUFAs está associada ao aumento dos níveis de peroxidação lipídica total, diminuição dos níveis de vitamina E, e aumento da severidade dos sintomas negativos (DO et al., 2015).

Fatores genéticos também podem contribuir na modulação do limiar para a vulnerabilidade ao estresse oxidativo na esquizofrenia (CHOWDARI et al., 2010). Evidências recentes têm mostrado que polimorfismo nos genes das enzimas SOD, CAT e GSH-Px estão associadas a diminuição da concentração plasmática de GSH (BOSKOVIC et al., 2013).

1.5. INTERNEURÔNIOS GABAÉRGICOS QUE EXPRESSAM PARVALBUMINA (PVI)s

O interesse no estudo de interneurônios GABAérgicos na esquizofrenia deveu-se à especulação de que anormalidades em outros sistemas de neurotransmissores poderiam justificar a hiperativação dos neurônios dopaminérgicos, já que não há indícios desta hiperativação ser primária. Estudos *post-mortem* na década de 80 e 90 sugeriram deficits GABAérgicos em regiões límbicas e do hipocampo. Estes deficits correlacionavam-se com elevação dopaminérgica na amígdala, dando algum suporte à especulação de que a elevação de dopamina pode ser secundária a deficits em neurônios inibitórios. Durante os anos seguintes, outros estudos estabeleceram claramente que existem deficits de interneurônios GABAérgicos em regiões corticais e límbicas na esquizofrenia (REYNOLDS & NEILL, 2016).

A complexa circuitaria cerebral compreende redes hierarquizadas de neurônios excitatórios e inibitórios. Os principais elementos da microcircuitaria no cortex cerebral são os neurônios piramidais (NPs) excitatórios glutamatérgicos e os interneurônios GABAérgicos inibitórios. Células piramidais especializaram-se em transmitir informação entre diferentes áreas corticais

e de áreas corticais para outras regiões do cérebro. Já os interneurônios contribuem para uma rede neuronal local, em que eles fornecem entradas (*inputs*) inibitórios e moldam oscilações sincronizadas. O balanço entre excitação e inibição é crucial para a função cortical e, conseqüentemente, importantes mecanismos fisiológicos e de desenvolvimento mantem este equilíbrio dinâmico (MARÍN, 2012).

Os interneurônios não somente contribuem para o balanço global da atividade nas redes corticais como também medeiam o fluxo preciso de informação através de vias de sinalização específicas. Eles atingem este objetivo controlando tanto temporalmente como espacialmente a quantidade de *inputs* excitatórios e inibitórios que os neurônios recebem individualmente (MARÍN, 2012).

O córtex cerebral contém vários tipos diferentes de interneurônios GABAérgicos, que são classificados com base na morfologia e na expressão de proteínas de ligação ao cálcio. Os interneurônios que expressam parvalbumina (PVI) fazem sinapses principalmente no segmento inicial do axônio e nos dendritos proximais ao corpo celular e, assim, regulam a taxa de disparo dos neurônios piramidais. A parvalbumina (PV), ao contrário das demais proteínas de ligação ao cálcio, é expressa após o nascimento em seres humanos. Isto indica um possível período durante o desenvolvimento, antes da expressão de PV, em que esse subgrupo de neurônios GABAérgicos está vulnerável aos danos associados aos fatores de risco para o surgimento da esquizofrenia. Os PVIs recebem amplo *input* excitatório, que é responsável por suas altas taxas de disparo basais, favorecendo o somatório e transmissão de *inputs* de convergência que chegam de forma sincronizada para os NPs. Ao controlar o estado de excitabilidade sincronizada de uma rede de NPs, os PVIs também permitem a ligação de informações que atingem diferentes NPs durante um período definido e estreito de tempo. Portanto, PVIs influenciam fortemente a dinâmica da rede neuronal local, contribuindo para funções cognitivas (VOLK & LEWIS, 2014). Eles têm uma ampla arborização axonal, com uma única célula estimada em fazer sinapse com mais de 200 neurônios piramidais, inibindo, assim, a taxa de disparo de grandes grupos de aferentes corticais (TAYLOR & TSO, 2015; HOMAYOUN & MOGHADDAM, 2007).

A hipótese de uma redução específica em PVIs foi identificada há 20 anos (BEASLEY & REYNOLDS, 1997). Este achado foi replicado em estudos posteriores, com deficits em PVIs no córtex frontal e hipocampo. Esta redução dos PVIs é um dos principais achados fisiopatológicos encontrados na esquizofrenia, com análises de 100 estudos neuroquímicos

em uma série de tecidos cerebrais *post-mortem* encontrando esta redução (TORREY et al., 2005). Os dados atuais sugerem uma maturação deficiente dos PVIs ao invés de um redução devido à cronicidade da doença. O córtex pré-frontal dorsolateral (DLPFC) de pacientes jovens já apresenta uma baixa expressão nos níveis de PV, e o perfil de expressão gênica em PVIs dos indivíduos com esquizofrenia se assemelha a células não maduras (STEULLET et al., 2016).

Estudos recentes revelaram anomalias nos PVIs do hipocampo e pré-frontais em muitos modelos animais pré-clínicos com o objetivo de reproduzir vulnerabilidades genéticas ou fatores de risco ambientais para a esquizofrenia, tais como estresse pré-natal materno, ativação imunológica materna e perinatal, hipóxia, dose crônica ou aguda de ketamina, deficiência de ferro no início da vida, separação materna e isolamento social. Em ratos com lesão neonatal no hipocampo ventral, a maturação normal dos PVIs que ocorre na adolescência é prejudicada e este modelo mostra evidências que o estresse oxidativo pode ser o responsável por esta maturação anormal dos PVIs, pois o estresse oxidativo ocorre antes do início dos déficits comportamentais. (STEULLET et al., 2016; TAYLOR & TSO, 2015; SULLIVAN & O'DONELL, 2012). Existem várias outras evidências de que PVIs são particularmente afetados durante o seu desenvolvimento por estresse oxidativo e hipofunção NMDAR, como veremos a seguir.

Genes associados a aumento da suscetibilidade à esquizofrenia como DISC1, NRG1/ERBB4 também apresentam um papel crucial na integração e função da circuitaria ligada aos PVIs em roedores. Assim, alterações nos PVIs são um ponto final em comum para diferentes fatores de risco ambientais e genéticos associados à esquizofrenia (HARDINGHAM & DO, 2016; MARÍN, 2012).

1.6. A DISFUNÇÃO DOS PVIS NA ESQUIZOFRENIA PODE SER DEVIDA AO ESTRESSE OXIDATIVO

Para dar suporte a sincronização neuronal, PVIs de disparo rápido demandam muita energia. Isto exige um desempenho mitocondrial máximo com elevada atividade metabólica e fosforilação oxidativa, levando a elevada produção de EROs pela mitocôndria. Consequentemente, PVIs precisam de sistemas antioxidantes bem regulados para neutralizar as EROs e manter o estado redox adequado. Curiosamente, a intensidade de atividade

neuronal de frequência da banda gama, que reflete a sincronização neuronal e cuja geração e integridade depende dos PVIs (TAYLOR & TSO, 2015), está correlacionada positivamente com os níveis de GSH no sangue dos pacientes (BALLESTEROS et al., 2013b) e N-acetilcisteína corrige esta sincronização neuronal alterada em pacientes com esquizofrenia (CARMELI et al., 2012). PVIs são vulneráveis à desregulação redox, quer induzida por um sistema antioxidante comprometido ou superprodução de EROs. Num modelo animal com baixo conteúdo de GSH, como relatado no cérebro de alguns pacientes com esquizofrenia (GAWRYLUK et al., 2011; YAO et al., 2006; DO et al., 2000), existe um déficit de PVIs no córtex pré-frontal e no hipocampo, prejudicando a sincronização neuronal de banda gama (CABUNGCAL et al., 2013a,b; STEULLET et al., 2010). PVIs também podem ser afetados quando outros sistemas antioxidantes que não o GSH são comprometidos. Estes modelos fornecem uma evidência mecanicista de que a perturbação da homeostase redox pode perturbar preferencialmente os PVIs.

Mais importante ainda, PVIs corticais pré-frontais são mais vulneráveis a uma desregulação redox durante o desenvolvimento pós-natal do que mais tarde na vida, o que é compatível com a epidemiologia da esquizofrenia, que mostra que a síndrome completa surge na adolescência ou na idade de adulto jovem. Este fato também é compatível com a hipótese da alteração no neurodesenvolvimento na esquizofrenia. Assim, PVIs imaturos podem ter um sistema de defesa antioxidante menos robusto do que células maduras (STEULLET et al., 2016).

O estresse oxidativo em fase iniciais do desenvolvimento pode desregular a expressão de freios moleculares que normalmente se segue à maturação dos PVIs, e assim pode ampliar a neuroplasticidade durante o período de desenvolvimento. Isto poderá desestabilizar a função dos circuitos no sentido a uma maior susceptibilidade à informação indesejável, como pode ser visto na esquizofrenia. Assim, a desregulação redox seria um alvo para a intervenção preventiva durante o neurodesenvolvimento. Alternativamente, uma vez que o prejuízo funcional aos PVIs for detectado (por exemplo, alterações nas oscilações da banda gama), um reforço suplementar de freios moleculares sobre a plasticidade pode ser considerado (DO et al., 2015).

Para concluir, vários modelos animais de esquizofrenia e evidências indiretas em pacientes (correlações entre oscilações gama e GSH) fornecem evidências que o estresse oxidativo preferencialmente induz a deficits nos PVIs. Além disto, danos oxidativos específicos aos

PVIs durante o desenvolvimento são suficientes para induzir anormalidades cognitivas e comportamentais duradouras nos adultos (HARDINGHAM & DO, 2016).

1.7. RECEPTORES N-METIL D-ASPARTATO (NMDAR) E SUAS RELAÇÕES COM ESTRESSE OXIDATIVO, GSH E PVIS

1.7.1. A hipofunção NMDA na esquizofrenia

Sinapses glutamatérgicas conferem a maioria da neurotransmissão excitatória no SNC, e uma sinalização glutamatérgica intacta é crítica para boa parte do processamento sensorial e função cognitiva. Assim, qualquer disfunção não fatal no desenvolvimento ou função das sinapses glutamatérgicas tem o potencial de prejudicar profundamente as habilidades cognitivas do cérebro humano (VOLK et al., 2015).

O glutamato confere suas ações fisiológicas via canais iônicos ligados ao glutamato, denominados receptores glutamatérgicos ionotrópicos (iGluRs), e também pelos receptores acoplados a proteína G ativados por glutamato, denominados receptores glutamatérgicos metapotróticos (mGluRs). iGluRs são subdivididos em receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), receptor ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico (AMPA) e receptor cainato (KA). Todos os iGluRs são proteínas de membrana integrais tetraméricas formadas a partir de diferentes subunidades que contribuem para diferentes capacidades de condutância de canal, sinalização, localização e tipos de interação. NMDARs são canais de cátions heterotetraméricos compostos por duas subunidades GluN1 e duas subunidades GluN2A/B/C/D ou GluN3A/B, com GluN1/GluN2A e GluN1/GluN2B sendo as combinações mais comuns (VOLK et al., 2015).

A hipótese de que hipofunção no NMDAR pode ser um gatilho patogênico para a esquizofrenia surgiu de observações que a administração dos anestésicos dissociativos fenciclidina e quetamina a indivíduos saudáveis mimetizou os principais sintomas da esquizofrenia, juntamente com a constatação de que estes compostos são antagonistas do NMDAR. Estes compostos mimetizam a síndrome esquizofrênica completa, com sintomas positivos, negativos e cognitivos, ao contrário da administração de agonistas dopaminérgicos que somente levam ao aparecimento de sintomas positivos (COHEN et al., 2015). Recentemente, foram relatados doenças auto-imunes associadas com anticorpos específicos

de NMDAR associadas com sintomas psicóticos graves. Estudos de imagem, comportamentais, neurofisiológicas e funcionais têm dado suporte à hipótese da hipofunção do NMDAR na esquizofrenia, mostrando que os indicadores de disfunção sensorial em pacientes com esquizofrenia - como “*mismatch negativity*” (MMN) e alterações nos potenciais relacionados a eventos auditivos e visuais - podem ser mimetizados por tratamento de indivíduos saudáveis com antagonistas NMDAR. Estudos *post mortem* de cérebros de pacientes com esquizofrenia revelaram níveis mais baixos de expressão da subunidade obrigatória GluN1 do NMDAR, expressão aumentada do kinuerato, um antagonista endógeno de NMDAR, e uma redução nos níveis de seu coagonista (d-serina) e de d-serina racemase, a enzima que catalisa a produção de d-serina. Estudos de imagem cerebral revelaram atividade hiperglutamatérgica em pacientes com esquizofrenia e nos grupos de alto risco para desenvolver esquizofrenia, que pode ser atribuível a hipofunção de NMDAR. Evidências de estudos genéticos também apontam para uma alteração da função do NMDAR na esquizofrenia (HARDINGHAM & DO, 2016), e também demonstram indícios que variações genéticas relacionadas ao prejuízo cognitivo na esquizofrenia envolvem o receptor NMDA e a rede glutamatérgica (OHI et al., 2015).

Os receptores de NMDA medeiam o potencial pós-sináptico excitatório ao longo do cérebro mas, paradoxalmente, os antagonistas do receptor de NMDA produzem excitação cortical em roedores e seres humanos. Conforme já relatado, a atividade dos neurônios piramidais corticais é regulada por interneurônios GABA de disparo rápido (como os PVIs). Esses interneurônios têm potenciais excitatórios pós-sinápticos mais rápidos do que neurônios piramidais e são mais eficazmente recrutados por *inputs* excitatórios, sugerindo que os NMDARs podem desempenhar um papel mais importante na regulação do disparo espontâneo de interneurônios de disparo rápido em comparação com os neurônios piramidais. Assim, um mecanismo plausível que pode explicar a excitação cortical induzida pelos antagonistas de NMDAR é que uma redução na função do receptor de NMDA preferencialmente reduz a taxa de disparo de interneurônios, resultando em desinibição dos neurônios piramidais. Isto irá então conduzir a uma excitação da rede cortical, que é normalmente observada após a administração de antagonistas de NMDAR em estudos em animais acordados ou humanos (HOMAYOUN & MOGHADDAM, 2007).

1.7.2. Hipofunção do NMDAR altera os PVIS

NMDAR são fundamentais para o desenvolvimento e função adulta de interneurônios GABAérgicos. Como já relatado, seu antagonismo reduz a transmissão sináptica inibitória, e os NMDARs também regulam a expressão de PV. Em modelos animais, a aprendizagem é melhorada pelo aumento farmacogenético de expressão de PV, e diminuída pela sua redução farmacogenética. Ablação genética de NMDAR reduz a PV no córtex e hipocampo de ratos, um déficit que está associado a comportamentos semelhantes a esquizofrenia, tais como hiperlocomoção induzida por novidade e prejuízos na inibição pré-pulso. Estes estudos mostram que a sinalização do NMDAR é necessária para o desenvolvimento e função adequados dos PVIs, o que sugere que hipofunção do NMDAR contribui para as alterações nos PVIs vistas na esquizofrenia. (OWEN et al., 2015)

Como já relatado, uma consequência do impulso inibitório reduzido na esquizofrenia é a perturbação da oscilação de atividade gama de 30-100 Hz, que é importante para sincronia em microcircuitos corticais locais (SOHAL et al., 2009). PVIs corticais são particularmente importantes para a geração dessas oscilações. Estimulação optogenética destas células é suficiente para gerar oscilações gama, enquanto que a sua inibição atenua estas oscilações (SOHAL et al., 2009). Mais importante, o bloqueio farmacológico ou a ablação genética de NMDAR sobre PVIs resulta na perturbação do ritmo gama, um fenótipo fisiológico encontrado em pacientes com esquizofrenia, e que se correlaciona com os sintomas semelhantes a esquizofrenia em modelos animais (KOROTKOVA et al., 2010). Este fenótipo só é visto na ablação dos NMDARs durante o período pós-natal e não no período pós-adolescente, sugerindo que a atividade NMDAR nos PVIs durante o desenvolvimento pode ser importante para a maturação da função fisiológica necessária para dar suporte às oscilações gama (COHEN et al., 2015).

Assim, a hipofunção dos NMDARs em interneurônios GABAérgicos, especialmente nos PVIs, pode resultar em circuitos GABAérgicos subdesenvolvidos e inibição reduzida, e, assim, contribuir com muitos dos sintomas da esquizofrenia (COHEN et al., 2015).

1.7.3. Hipofunção do NMDAR, PVIs e estresse oxidativo

Existem claras semelhanças entre o impacto da hipofunção do NMDAR no desenvolvimento e aquele causado pelo estresse oxidativo em modelos animais: ambos causam um comprometimento seletivo na função dos PVIs e distúrbios comportamentais e cognitivos

similares. De fato, evidências crescentes sugerem que a hipofunção do NMDAR e o desequilíbrio redox podem estar reciprocamente ligados, levando a alterações nos PVIs via mecanismos moleculares relacionados (HARDINGHAM & DO, 2016; JIANG et al., 2013).

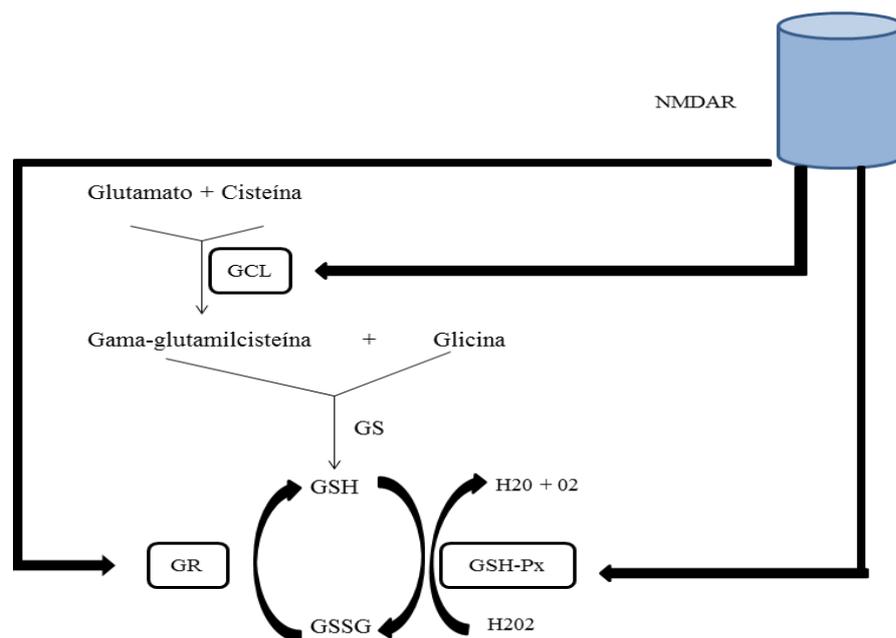
Consistente com este modelo, foi demonstrado que a quetamina pode produzir uma redução na expressão de PV indiretamente, através de um aumento do estresse oxidativo (COHEN et al, 2015).

O estado redox (principalmente através da diminuição dos níveis de GSH) pode modular e comprometer a função do NMDAR e a ativação sináptica do NMDAR reforça os mecanismos de defesa antioxidantes neuronais (STEULLET et al., 2016). Este acoplamento entre atividade do NMDAR e o sistema antioxidante é feito através de um aumento na capacidade dos neurônios para produzir, utilizar e reciclar a glutatona (GSH). A atividade sináptica do NMDAR resulta na transcrição do gene que codifica a subunidade catalítica da glutamato-cisteína ligase (CGCL), aumentando assim a capacidade da enzima limitante da velocidade de biossíntese da GSH. Já a indução da GR aumenta a capacidade de reciclagem da GSH (redução da glutatona oxidada – GSSG - em GSH reduzida). E a indução da transcrição de GSH-Px aumenta a capacidade do sistema de GSH para reduzir os peróxidos celulares. No entanto, como resultado do aumento da atividade de GR e GCL, os níveis de neuronais de GSH podem ser mantidos (HARDINGHAM & DO, 2016). (Figura 5)

Assim como a hipofunção dos receptores de NMDA pode levar a estresse oxidativo nos PVIs, esta hipofunção também pode ser um resultado direto do estresse oxidativo, sugerindo um possível processo de retroalimentação bidirecional (DO et al., 2009; FORDER & TYMIANSKI, 2009). Depleção farmacológica de GSH aumenta a oxidação do receptor de NMDA e prejudica a potenciação a longo prazo dependente de NMDA (STEULLET et al., 2006). Diminuição dos níveis de GSH são associados com prejuízos na LTP (ALMAGUER-MELIAN et al., 2000). Pode-se argumentar que os déficits de glutatona simplesmente levam a EROs tóxicos que prejudicam os mecanismos normais de plasticidade sináptica. No entanto, como é o caso com a sinalização mediada pelos EROS, a GSH parece ter papéis inesperados na regulação da neurotransmissão. A adição de GSH pode aumentar a despolarização associada ao NMDA (JANÁKY et al., 2007; OJA et al., 2000), e até mesmo induzir diretamente a despolarização neuronal (JANÁKY et al., 2007;. VARGA et al., 1997). Não há receptores conhecidos para a neurotransmissão por glutatona e ela não é armazenada em vesículas sinápticas. O bloqueio dos receptores de NMDA não afeta a atividade

neuromodulatória da GSH, entretanto, a glutathione e os seus metabólitos podem ser candidatos para regular a neurotransmissão glutamatérgica. Recentemente, foi relatado que a glutathione pode servir como um reservatório neuronal de glutamato, já que um terço de sua formação é devido ao glutamato. A GSH existe a uma concentração considerável no cérebro, e sua reciclagem também é rápida (KOGA et al., 2011). Assim, podemos especular que o aumento da demanda por GSH em um estado pró-oxidativo pode diminuir a reserva de glutamato, favorecendo assim a hipofunção do NMDAR vista durante o estresse oxidativo, gerando desta forma um ciclo vicioso em que a disfunção de NMDAR pode ser a causa e consequência do estresse oxidativo.

Figura 5. Atividade do NMDAR potencializa a capacidade dos sistemas antioxidantes neuronais



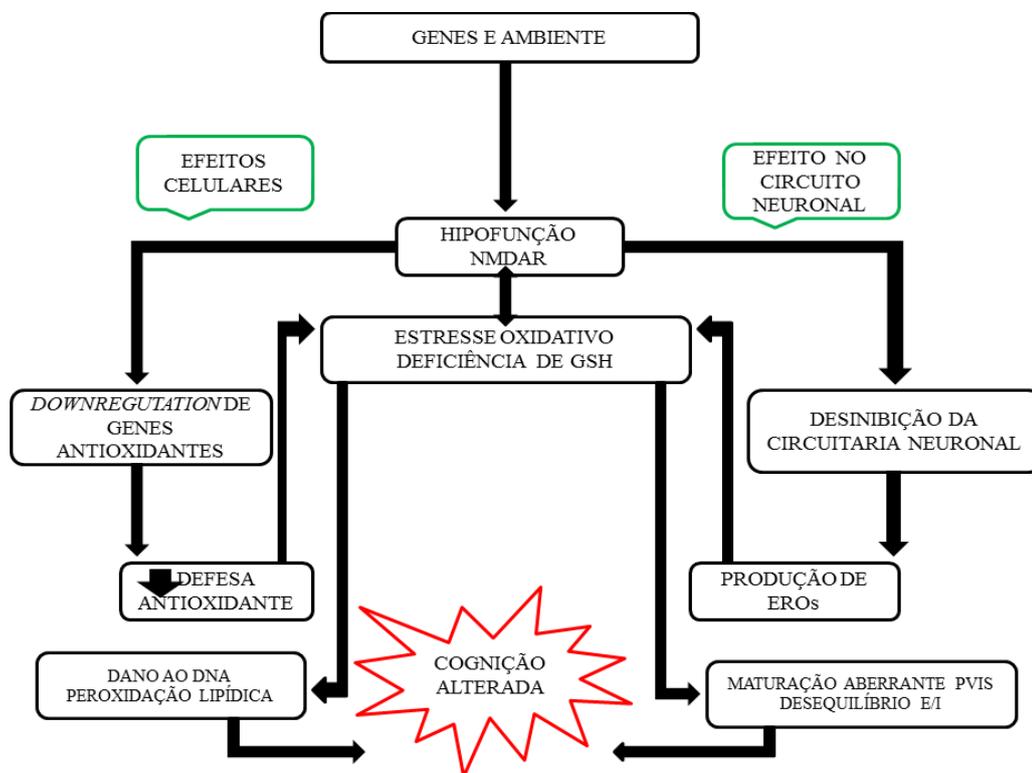
A ativação sináptica do NMDAR estimula a transcrição do gene da GSH-Px. Para não ocorrer uma diminuição dos níveis neuronais de GSH, a transcrição dos genes da GCL e GR também é estimulada. (Adaptado de Hardingham e Do, 2016)

Este mecanismo é de grande interesse no contexto da hipótese glutamatérgica da esquizofrenia, por isto Xin et al. (2016) analisaram as concentrações de glutamato e GSH no córtex pré-frontal medial de pacientes e controles, encontrando associações entre as concentrações de GSH e glutamato no córtex pré-frontal medial de controles de baixo risco

para polimorfismo do gene GCLC, corroborando a relação entre GSH e glutamato (XIN et al., 2016).

Portanto, os sistemas redox e glutamatérgico podem ser considerados em conjunto como um "eixo central", no qual uma desregulação em qualquer um deles pode levar a uma condição fisiopatológica comum, como falha na conectividade neuronal via lesão de PVIs, resultando nos prejuízos cognitivos observados na esquizofrenia (HARDINGHAM & DO, 2016; STEULLET et al., 2016). (Figura 6)

Figura 6. Relações entre hipofunção do NMDAR, PVIS e estresse oxidativo



A hipofunção do NMDAR resulta tanto em efeitos celulares (*downregulation* de genes antioxidantes) como na circuitaria neuronal (levanta a desinibição e produção de EROs devido a aumento da demanda energética). Estes eventos podem causar estresse oxidativo e diminuir a reserva de GSH, levando à maior hipofunção do NMDAR, completando um ciclo vicioso. O estresse oxidativo, por sua vez, resulta em lesão celular (através de peroxidação lipídica, por exemplo) e maturação aberrante dos PVIS, resultando em um desequilíbrio entre excitação e inibição neuronal. Estes efeitos, em última análise, podem contribuir para os prejuízos cognitivos observados na esquizofrenia. (Adaptado de Steullet et al., 2016)

1.8. NMDAR, PVIS, ESTRESSE OXIDATIVO E FUNÇÕES COGNITIVAS

Como já relatado, a inibição sináptica via interneurônios GABAérgicos é necessária para o ajuste temporal e espacial dos neurônios piramidais e para um disparo sincronizado das redes corticais e, assim, desempenha um papel crítico nas funções cognitivas. Por exemplo, o

bloqueio de receptores GABA no PFC e a desinibição resultante dos neurônios piramidais perturba o ajuste desses neurônios durante as fases sensória-motora e mnemônicas de tarefas de memória de trabalho (HOMAYOUN & MOGHADDAM, 2007).

Considera-se que as oscilações de frequência gama proporcionam uma estrutura temporal para o processamento da informação no cérebro. Elas contribuem para funções cognitivas, como a formação de memória e processamento sensorial, e estão perturbadas em alguns transtornos psiquiátricos. Como já salientado, PVIs têm um papel fundamental na geração destas oscilações (BARTOS et al., 2007). Existe uma relação entre níveis *in vivo* de GABA e atividade oscilatória gama (ROWLAND et al., 2013). Pacientes com esquizofrenia exibem oscilações gama aberrantes no córtex pré-frontal (PFC) durante o desempenho em testes de memória de trabalho, o que pode refletir deficiência da atividade dos interneurônios GABAérgicos (CHEN et al., 2014; HAENSCHHEL et al., 2009).

Um achado muito importante vem do trabalho de Murray et al. (2015). Para identificar como PVIs contribuem para comportamentos relacionados à atividade no PFC, estes autores inativaram seletivamente PVIs nesta região cerebral de ratos e compararam as consequências desta inativação a perturbações não seletivas do PFC. Os autores observaram que disfunção nos PVIs produz deficits específicos no domínio cognitivo, especialmente em memória de trabalho, mas não alterações de correlatos de sintomas positivos e negativos. Este estudo encontrou que várias modalidades de avaliação da memória de trabalho dependem integralmente da integridade dos PVIs. Esta divisão de trabalho entre diferentes subpopulações de neurônios é reforçada pelo fato de que a inativação de outras populações de interneurônios não causa alteração na memória de trabalho avaliada pelos mesmos testes que se mostraram alterados quando se inativam os PVIs (MURRAY et al., 2015). Outro estudo demonstrou que em camundongos que tiveram mutações induzidas nos PVIs para não conter receptores NMDA, ocorreram grandes mudanças na rede de sincronização e representações espaciais que foram acompanhadas por deficiências profundas na memória de trabalho. O estudo também demonstrou que a perda dos receptores de NMDA nos PVIs diferencialmente afeta as oscilações teta e gama do hipocampo (KOROTKOVA et al., 2010). Além disso, um estudo de Magnetoencefalograma (MEG) em indivíduos saudáveis demonstrou que a força de resposta de banda gama em regiões frontais reflete o número de itens comportamentalmente relevantes armazenados na memória de trabalho, durante uma tarefa de memória visuospatial (ROUX et al., 2012). Já um estudo avaliando pacientes com esquizofrenia de início recente demonstrou uma correlação significativa entre atividade

GABAérgica e memória de trabalho. Corroborando os estudos em animais, esta foi a única correlação entre atividade GABA e os domínios cognitivos avaliados (TAKAHASHI et al., 2013). Outro estudo, avaliando os níveis de GABA por espectroscopia de prótons por ressonância magnética (ROWLAND et al., 2016) também confirma esta especificidade entre déficits de GABA e memória de trabalho, demonstrando que em pacientes idosos com esquizofrenia, os níveis de GABA correlacionam-se à memória de trabalho, mas não a velocidade de processamento e sintomas positivos e negativos.

A atividade GABAérgica também pode ser importante para os mecanismos neurais subjacentes à cognição social. O estudo de Mehta et al. (2014b) demonstrou que pacientes com esquizofrenia que nunca usaram antipsicóticos tem a inibição cortical GABAérgica reduzida. Além disso, neste grupo, esta inibição apresentou uma associação inversa significativa com a capacidade de processar emoções de sinais faciais e capacidade global de cognição social.

A neurotransmissão inibitória mediada pelo GABA realiza a regulação do padrão oscilatório gama cortical que estabelece o quadro temporal do processamento cognitivo, que é essencial para informar a geração de modelos momento a momento para as ações de outros indivíduos. Isso pode proporcionar um modelo de entendimento sobre como a inibição intracortical aberrante pode mediar os déficits na cognição social (MEHTA et al., 2014b).

Outro paradigma importante é o componente de potencial relacionado a evento (ERP) eletrofisiológico medido por eletroencefalograma, denominado “*Mismatch negativity*” (MMN), que está amplamente relacionado à disfunção no sistema NMDAR. Este potencial é gerado automaticamente quando uma sequência de estímulos relativamente uniforme é interrompida pela apresentação infreqüente de estímulos desviantes. Especula-se que MMN reflete uma medida automática de detecção de mudança de percepção ou um pré-requisito sensorial da cognição. Déficits no MMN parecem ser um índice de declínio cognitivo, independentemente das sintomatologias específicas e etiologias das desordens envolvidas (LEE et al., 2014).

Déficits em MMN foram observados em pacientes com esquizofrenia. MMN não é influenciado pelos efeitos de medicação antipsicótica, e alterações no MMN podem refletir a progressão da doença ou comprometimento neurocognitivo pré-mórbido. (LEE et al., 2014).

De grande relevância para este trabalho é que vários estudos encontraram relação entre déficits em teoria da mente e percepção de emoções e alterações em MMN (LEE et al., 2014; WYNN et al., 2010). Além disto, N-acetilcisteína, precursor da GSH, corrige o MMN em pacientes com esquizofrenia (LAVOIE et al., 2008) reforçando as relações entre o sistema glutamatérgico e estresse oxidativo, bem como demonstrando que o estresse oxidativo pode ter um papel nos déficits na cognição social em esquizofrenia.

Outra evidência indireta que pode haver uma relação entre cognição social e estresse oxidativo vem de estudos que demonstraram associações entre teoria da mente e percepções de emoções e atividade gama, assim como os resultados de que os níveis de GSH e NAC também estão relacionados a estas oscilações e sincronização neuronal (POPOV et al., 2013; WILLIAMS et al., 2009).

Assim, qualquer fator que prejudique a função dos PVIs e NMDAR, como o estresse oxidativo, pode levar a alterações na neurotransmissão GABAérgica e nas oscilações gama, resultando em déficits na neurocognição (especialmente memória de trabalho) e cognição social. Isto é o que foi encontrado nos estudos que avaliaram indiretamente as funções GABAérgicas e do NMDAR (inibição cortical, estudos de imagem, MMN, oscilações gama) e suas relações com estresse oxidativo e medidas de cognição social.

Com isto, esperamos que os dados apresentados nesta introdução tenham fornecido um arcabouço teórico sólido para justificar a importância de se investigar a relação entre estresse oxidativo e cognição na esquizofrenia.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAIS

- 1) Avaliar a associação entre a neurocognição, cognição social e marcadores periféricos de estresse oxidativo em pacientes com esquizofrenia e sujeitos controles;
- 2) Adaptar para o português brasileiro e analisar algumas das qualidades psicométricas de um teste de teoria da mente: o Teste das Insinuações (Hinting Task);
- 3) Analisar algumas qualidades psicométricas do Teste de Reconhecimento de Expressões Faciais.

2.2. ESPECÍFICOS

- 1) Avaliar a validade discriminante, convergente e concorrente, bem como a confiabilidade do Teste das Insinuações e do Teste de Reconhecimento de Expressões Faciais;
- 2) Correlacionar duas dosagens séricas de estresse oxidativo – Glutationa (GSH) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) – a:
 - Neurocognição, avaliada através de avaliação neuropsicológica (Avaliação breve da cognição na esquizofrenia - *The Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia* - BACS)
 - Cognição social, avaliada através de um teste de Teoria da Mente (Teste das Insinuações – *Hinting Task*) e de processamento de emoções (Reconhecimento de Expressões Faciais)
 - Nos pacientes, correlacionar as dosagens de estresse oxidativo à sintomatologia, através da Escala das Síndromes Positiva e Negativa (PANSS) e da Escala Calgary de Depressão para Esquizofrenia, e desempenho funcional através da Avaliação de desempenho baseada em habilidades da Universidade da Califórnia em San Diego (UPSA).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. PARTICIPANTES

Foram avaliados 104 pacientes estabilizados em tratamento ambulatorial com diagnóstico de esquizofrenia confirmado por entrevista estruturada através do MINI-plus (AMORIM, 2000), provenientes do ambulatório do Instituto Raul Soares (FHEMIG) e do serviço da saúde mental da rede pública de saúde (SUS) no município de Nova Lima, Minas Gerais. Critérios de inclusão e exclusão para os pacientes foram: idade maior de 18 anos e menor de 65 anos, ausência de dependência atual de álcool ou outras drogas (exceto tabagismo), ausência de história de doença neurológica, retardo mental ou trauma encefálico. Estabilidade foi definida quando os pacientes pontuam 19 ou menos na subescala de sintomas positivos da PANSS e quatro ou menos em qualquer item desta subescala (SALGADO et al., 2007). Destes pacientes, 85 tiveram o sangue coletado para análise de estresse oxidativo. Não houve diferença significativa entre nenhuma medida de dados sócio-demográficos, sintomatologia, cognição e desempenho funcional entre a amostra total e da coleta.

Foram também avaliados 89 controles provenientes da equipe de trabalhadores do Instituto Raul Soares e da FioCruz, membros da Guarda Municipal do município de Belo Horizonte, bem como estudantes do programa de educação para jovens e adultos (EJA) da Escola Estadual Cândido Portinari e da Escola Municipal Milton Sales. Critérios de inclusão e exclusão dos controles foram: idade maior de 18 anos e menor de 65 anos, não apresentar histórico de doença neurológica, retardo mental ou trauma encefálico e não apresentar nenhuma patologia do eixo um do Manual de Diagnóstico e Estatística da Associação Psiquiátrica Norte-americana (DSM-IV), confirmado pelo MINI-plus (AMORIM, 2000). Destes controles, 75 tiveram a análise sérica de estresse oxidativo realizada. Assim como no grupo dos pacientes, não houve diferença significativa entre a amostra total e aqueles que tiveram o soro analisado.

Todos os participantes convidados foram instruídos sobre o design do estudo e seus objetivos. Aqueles que concordaram em participar assinaram o termo de consentimento informado, de acordo com o comitê de ética da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG).

3.2. ESCALAS DE AVALIAÇÃO

3.2.1. Clínicas/ Psicopatologia

A Escala das Síndromes Positiva e Negativa (PANSS) – *The Positive and Negative Syndrome Scale* (PANSS) (CHAVES & SHIRAKAWA, 1996) e a Escala Calgary de Depressão para Esquizofrenia (BRESSAN et al., 1998) foram utilizadas para avaliação da severidade dos sintomas positivos, negativos e depressivos. A PANSS tem uma pontuação que varia de 7 a 49 tanto para os sintomas positivos quanto para os negativos. A Escala Calgary apresenta um escore que vai de 0 a 27. Nestas duas escalas, quanto maior o escore, maior o grau de sintomatologia.

3.2.2. Neurocognição

- Avaliação breve da cognição na esquizofrenia - *The Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia* (BACS) (ARAÚJO et al., 2015; SALGADO et al., 2007)

Este instrumento foi desenvolvido para avaliar os principais déficits cognitivos na esquizofrenia e ser de administração e pontuação rápida. Os domínios cognitivos avaliados e os respectivos testes utilizados seguem-se abaixo:

Memória verbal

Os sujeitos foram apresentados a 15 palavras e, em seguida, orientados a recordar o maior número possível. Este procedimento foi repetido cinco vezes. Medida: Número de palavras lembradas em qualquer ordem (pontuação: 0-75).

Memória de trabalho

Teste de sequenciamento de algarismos: Foram apresentados oralmente aos sujeitos agrupamentos de algarismos de comprimento crescente, de dois (exemplo: 5, 2) a oito algarismos (exemplo: 1, 2, 4, 3, 6, 5, 8, 9). Foi então solicitado aos sujeitos que digam ao examinador os algarismos apresentados em ordem crescente, do menor para o maior. Medida: número de respostas corretas (pontuação: 0-28).

Velocidade motora

Tarefa motora com fichas: Os pacientes receberam 100 fichas de plástico e pediu-se para colocá-las de duas em duas em um recipiente o mais rápido possível. Foi imposto um limite de tempo de 60 segundos. Medida: número de fichas corretamente colocadas no recipiente durante o minuto total (pontuação: 0-100).

Fluência verbal

Fluência semântica ou categorial: Os pacientes tiveram 60s para citar tantas palavras quanto possível dentro de uma determinada categoria (nomes de animais).

Fluência fonética ou por letra: Em dois momentos separados, os pacientes tiveram 60s para gerar tantas palavras quanto possível que começam com uma determinada letra (F, S). Medidas: número de palavras geradas.

Atenção e velocidade de processamento de informação

Codificação de símbolos: Foi explicado aos sujeitos que cada símbolo individualmente corresponde a um dos algarismos de 01 a 09. A seguir, foi solicitado aos participantes que preencham o algarismo correspondente abaixo a uma série de símbolos, o mais rápido possível. A visualização do símbolo e seu algarismo correspondente está disponível ao participante durante todo o tempo da realização do teste. O limite de tempo para a realização desta tarefa é de 90 segundos. Medida: número de números corretos (pontuação: 0-110).

Raciocínio e resolução de problemas

Torre de Londres: Foram mostradas duas gravuras simultaneamente aos sujeitos. Cada gravura mostrava três bolas de cores diferentes organizadas em três pinos verticais, com as bolas dispostas em um arranjo diferente em cada gravura. Os participantes deverão então informar o número mínimo de vezes que as bolas de uma gravura teriam que ser movidas para tornar o arranjo de bolas idêntico à outra gravura mostrada. A tarefa consiste em 20 arranjos diferentes. Os arranjos são de dificuldade variável, com uma tendência geral para os itens finais apresentarem maior grau de dificuldade. Aos participantes que responderam corretamente todos os 20 arranjos, dois testes adicionais de maior dificuldade foram administrados. Os sujeitos tem 20 segundos para dar a resposta. Medida: número de respostas corretas (pontuação: 0-22).

3.2.3. Avaliação da Cognição Social

- Teste das Insinuações (*Hinting Task*)

Esta tarefa foi concebida para testar a capacidade de sujeitos em inferir as reais intenções por trás de um discurso indireto. A tarefa inclui 10 curtas histórias que apresentam uma interação entre dois personagens. Todas as histórias terminam com um dos personagens deixando uma insinuação muito óbvia. Ao sujeito é perguntado o que o personagem realmente quis dizer quando ele/ ela disse a insinuação. Uma resposta adequada nesta fase é atribuída uma pontuação de dois e a próxima história é lida. Se, no entanto, o sujeito não consegue dar a resposta correta, por exemplo, simplesmente parafraseando a 'insinuação' e, portanto, sem uso de habilidades inferenciais, mais conteúdo é adicionado à história na forma de uma insinuação ainda mais óbvia. O sujeito é então perguntado sobre o que o personagem quer que o outro faça. Se uma resposta correta é dada, nesta fase, é atribuída uma pontuação de um. Se o sujeito falhar novamente em inferir o significado pretendido para as duas partes do discurso indireto, em seguida, uma pontuação de zero é dada para esse item. Todos os itens da tarefa são lidos em voz alta para os sujeitos, de modo que informações apropriadas de prosódia são apresentadas (CORCORAN et al., 1995). Foi realizada a tradução e retro-tradução para o português (Brasil) deste instrumento, supervisionadas pela autora do teste original (R. Corcoran). As propriedades psicométricas do instrumento construído serão apresentadas no tópico Resultados.

- Reconhecimento de expressões faciais

Em uma tela de 15 polegadas de um computador, após um período de treinamento, foram mostradas aos participantes fotos em preto e branco de faces de caucasianos (dois homens e duas mulheres), retiradas do catálogo de expressões faciais de Ekman (EKMAN et al, 1972), com uma duração de 0,5 segundos. Os participantes tiveram um tempo de dois segundos para apertar a tecla correspondente à emoção que eles acreditam que melhor descreveu a expressão facial vista na foto. As expressões são: medo, raiva, nojo, tristeza, surpresa e alegria. Estas emoções são distribuídas aleatoriamente e em mesma quantidade de aparições, em quatro intensidades diferentes, totalizando 96 fotos. Há também quatro fotos em que as faces não demonstram qualquer emoção. Nesse contexto, os participantes deverão apertar a tecla NEUTRO. O programa Matlab, versão R2007a, é utilizado para rodar o teste. As propriedades psicométricas deste instrumento serão apresentadas no tópico Resultados.

3.2.4. Avaliação do desempenho funcional

- Avaliação de desempenho baseada em habilidades da Universidade da Califórnia em San Diego (*The UCSD Performance-based Skills Assessment – UPSA*)

Este teste avalia as habilidades necessárias para realização de tarefas envolvidas na vida em comunidade. Ele é composto por cinco subdomínios (compreensão e planejamento, finanças, comunicação, mobilidade e cuidado com o domicílio) e mostrou boas propriedades psicométricas para se avaliar a capacidade funcional (MANTOVANI et al., 2015).

3.3. DETERMINAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO

3.3.1. Determinação dos níveis de peroxidação lipídica

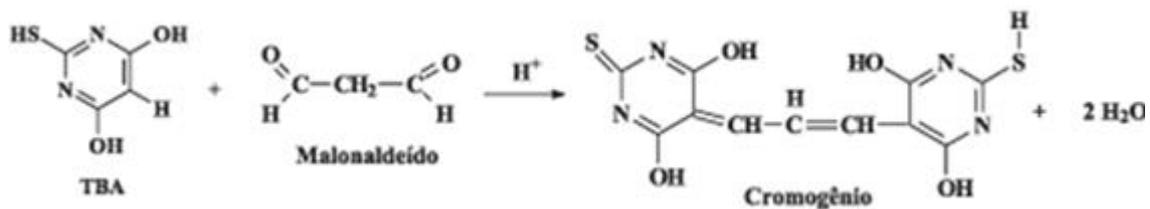
A peroxidação lipídica foi determinada usando o ácido tiobarbitúrico, que reage com o malonaldeído (MDA) e outros produtos da peroxidação lipídica formando as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) – ver figura 7. A determinação dos níveis de TBARS foi realizada adaptando-se o método descrito por Ohkawa et al. (1979), como a seguir: a cada 100uL de soro, foram adicionados 100 uL de solução composta por ácido tiobarbitúrico 1% p/v, NaOH 0,05M e Butil-hidroxi-tolueno 0,01mM e posteriormente 50uL de ácido fosfórico 7% v/v. Após a homogeneização, a mistura foi submetida a 100°C no

banho seco por 15' e posteriormente a -20°C (freezer) por 10'. A seguir, adicionou-se 375 uL de butanol e após homogeneização no vórtex, as amostras foram centrifugadas a 2.000 rpm por 5'. O sobrenadante foi coletado para a realização da leitura em espectrofotômetro nas absorvâncias de 532 e 600 nm. O branco é composto por 100uL de solução composta por NaOH 0,05M e Butil-hidroxi-tolueno 0,01mM, 100uL de ácido fosfórico, 100uL de HCl 1M e 0,75 mL de butanol. A leitura foi imediatamente realizada em placas de ELISA nas absorvâncias de 600 nm e 532 nm.

Cálculos:

TBARS (nmol/mL): ABSORBÂNCIA DA AMOSTRA ($A_{532}-A_{600}$) x $10^3/156$, onde 156 se refere ao coeficiente de extinção molar do TBARS.

Figura 7. Reação entre o ácido tiobarbitúrico e malonaldeído



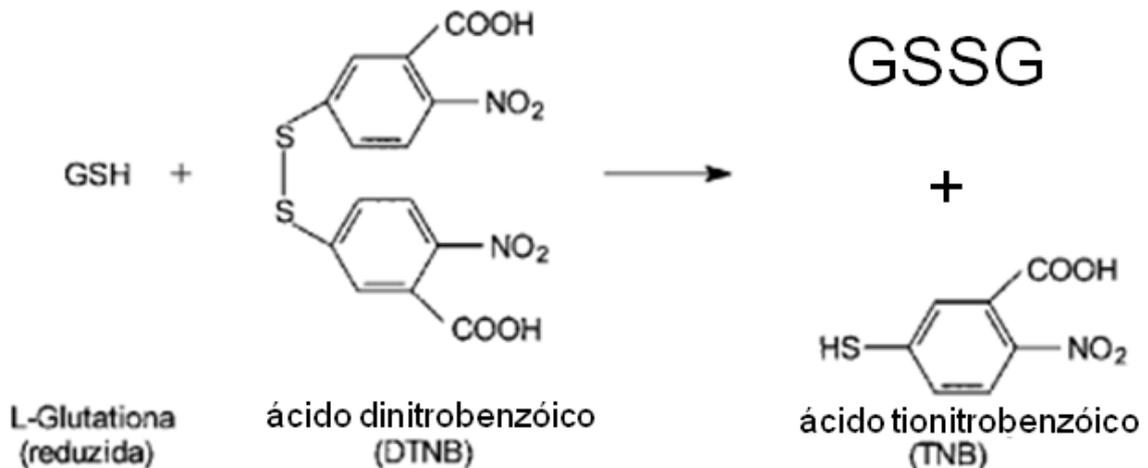
A reação entre o ácido tiobarbitúrico e o malonaldeído formam as TBARS, composto colorido medido espectrofotometricamente a 532nm.

3.3.2. Determinação da glutathiona reduzida através de sua reação com o ácido dinitrobenzóico (DTNB)

A determinação da GSH reduzida foi realizada através de sua reação com o DTNB, produzindo o ácido tionitrobenzóico (TNB) – figura 8, que apresenta coloração analisável em espectrofotômetro. O método foi adaptado de Sedlak et al. (1968), descrito a seguir. Em 100uL de soro foram adicionados 100 uL de ácido tricloroacético (tris HCl) 12,5%. Esta mistura foi homogeneizada e acondicionada no freezer (-20°C) por 30' para precipitação das proteínas. Posteriormente a mistura foi centrifugada a 4°C por 15 minutos, 3.000 rpm. Coletou-se 30µl da porção translúcida (sobrenadante) de cada amostra para a placa de ELISA onde foi adicionado mais 270uL de tris HCl e 5 uL de solução DTNB 10 mM. O branco foi composto por 300µl de TRIS HCl. A curva de GSH foi feita com 2mg de GSH diluído em 01

ml de TRIS HCl 0,4M (2.400mg/ml). A leitura foi realizada em espectrofotômetro na absorvância de 415 nm. O resultado é expresso em ug de GSH reduzida por mL de soro.

Figura 8. Reação entre a GSH e o DTNB



A reação entre a GSH reduzida e o DTNB forma a GSSG e o TNB, medido espectrofotometricamente

3.4. VALIDAÇÃO DOS TESTES DE COGNIÇÃO SOCIAL

A validade discriminante dos testes de cognição social foi avaliada através da capacidade dos testes em discriminar pacientes e controles. A validade convergente foi avaliada através da comparação entre as médias de desvio-padrão encontrados no presente estudo e na literatura. A validade concorrente foi avaliada através das correlações dos testes entre si, com neurocognição, sintomatologia e capacidade funcional (UPSA). A confiabilidade foi avaliada através da consistência interna (alfa de Cronbach).

3.5. DESENHO DO EXPERIMENTO

Todos os sujeitos, pacientes ou controles, foram testados em um único dia, na seguinte ordem: assinatura do consentimento informado, obtenção dos dados sócio-demográficos, aplicação do MINI-plus, avaliação da sintomatologia, coleta de sangue, avaliação da neurocognição (BACS) e cognição social (Teste das Insinuações e Reconhecimento de expressões faciais) e avaliação da capacidade funcional (UPSA), esta último apenas para os pacientes.

3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizou-se a versão 20 do software SPSS (IBM) para a análise estatística dos dados. Verificou-se a distribuição paramétrica de todas as variáveis através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Foram feitas correlações de Pearson (para dados paramétricos) e Spearman (para dados não paramétricos) entre as variáveis de interesse. Para as demais comparações entre pacientes e controles, ou entre tabagistas e não tabagistas, foram utilizados o teste t de Student ou de Mann-Whitney, conforme a normalidade dos dados. Para a comparação entre gênero de pacientes e controles, foi utilizado o teste do Qui-quadrado. Foi calculada a consistência interna do Teste das Insinuações (*Hinting Task*) através do alfa de Cronbach. Realizou-se também o teste de ANOVA para se observar se havia diferença, tanto em pacientes como controles, da quantidade de acertos devido à diferença na intensidade das emoções, avaliada pelo Teste de Reconhecimento de Expressões Faciais. Foi feito também análise de regressão linear múltipla para se avaliar os preditores dos testes de cognição social, da UPSA e do teste de sequenciamento de dígitos (memória de trabalho). Foi realizada também a normalização do escore obtido no Teste das Insinuações, através do logaritmo refletido. Esta transformação permite a normalização de dados com distribuição negativamente assimétrica, através da seguinte fórmula: Dados transformados = $\log_{10}(\text{maior valor obtido no teste} + 1 - \text{dados originais})$ (ROBERTS, 2008).

4. RESULTADOS

4.1. AMOSTRA

Os dados sócio-demográficos e clínicos são apresentados na tabela 1. Não houve diferença estatística significativa entre a média de idade, gênero e escolaridade entre pacientes e controles. Pacientes apresentam baixa pontuação na subescala de sintomatologia positiva da PANSS e sintomas depressivos da Calgary e baixa a moderada pontuação na subescala de sintomas negativos.

Tabela 1. Dados sócio-demográficos e clínicos para pacientes e controles

	Pacientes N=104	Controles N=89	Teste estatístico	P
Média de idade(dp)	41,99(12,07)	40,23(11,58)	T= -1,07	0,286
Gênero, masculino (%)	59(56,6)	49(55,1)	X ² =0,53	0,818
Anos de educação(dp)	7,12(4,19)	7,77(2,46)	Z= 1,72	0,085
Dose de antipsicótico – eq. Clorpr(dp)	316,05(216,93)			
PANSS(dp)				
Positiva	9,94(2,86)			
Negativa	18,57(6,86)			
Geral	26,05(6,46)			
Total	54,35(12,78)			
Calgary	1,98(2,27)			

4.2. PROPRIEDADES PSICOMÉTRICAS E VALIDADE DOS TESTES DE COGNIÇÃO SOCIAL (TESTE DAS INSINUAÇÕES – *HINTING TASK* – E RECONHECIMENTO DE EXPRESSÕES FACIAIS)

4.2.1. Diferença ente pacientes e controles

Como a distribuição do resultado do teste das Insinuações não segue uma distribuição normal, foi realizado o teste de Mann-Whitney para comparar o escore de pacientes e controles. Como observado na Tabela 2, há diferença estatisticamente significativa entre pacientes e controles no Teste das Insinuações.

No teste de Reconhecimento de Expressões Faciais (REF), foi utilizado o teste t de Student, já que estes dados obedecem a uma distribuição normal. Neste caso houve uma diferença estatisticamente significativa entre a média dos acertos totais entre pacientes e controles (Tabela 2).

É uma tendência da literatura que somente a realização de testes de significância da hipótese nula não é suficiente para a comparação da diferença das médias de duas ou mais variáveis. Técnicas de estimativas como o tamanho de efeito e intervalos de confiança estão sendo cada vez mais utilizadas para se observar a magnitude da diferença entre duas variáveis, e desta forma estabelecer a real importância de uma intervenção (CUMMING, 2014). Assim, para uma melhor visualização da diferença do escore de pacientes e controles nos testes de

cognição social, as médias e o intervalo de confiança de 95% foram apresentando na forma de gráficos de barra de erros (figuras 9 e 10). Observa-se que não há interseção entre as barras, ou seja, podemos admitir com 95% de segurança que as médias do escore dos teste são diferentes.

Tabela 2. Diferença entre controles e pacientes – cognição social

Cognição Social	Pacientes (N=104) média(dp)/mediana	Controles (N=89) média(dp)/mediana	Teste estatístico	P	Alfa de Cronbach
Teste das Insinuações (Hinting Task)	13,89(3,41)/ 15	17,11(1,98)/17	Z= -6,85	<0,001	0,68
Reconhecimento de expressões faciais	34,59(13,00)	44,17(10,92)	T= 4,88	<0,001	0,75*/0,87**

*calculando-se pelos tipos de emoções **calculando-se pela intensidade das emoções

Figura 9. Gráfico de barra de erro (95% intervalo de confiança) da diferença entre as médias de controles e pacientes no Teste das Insinuações

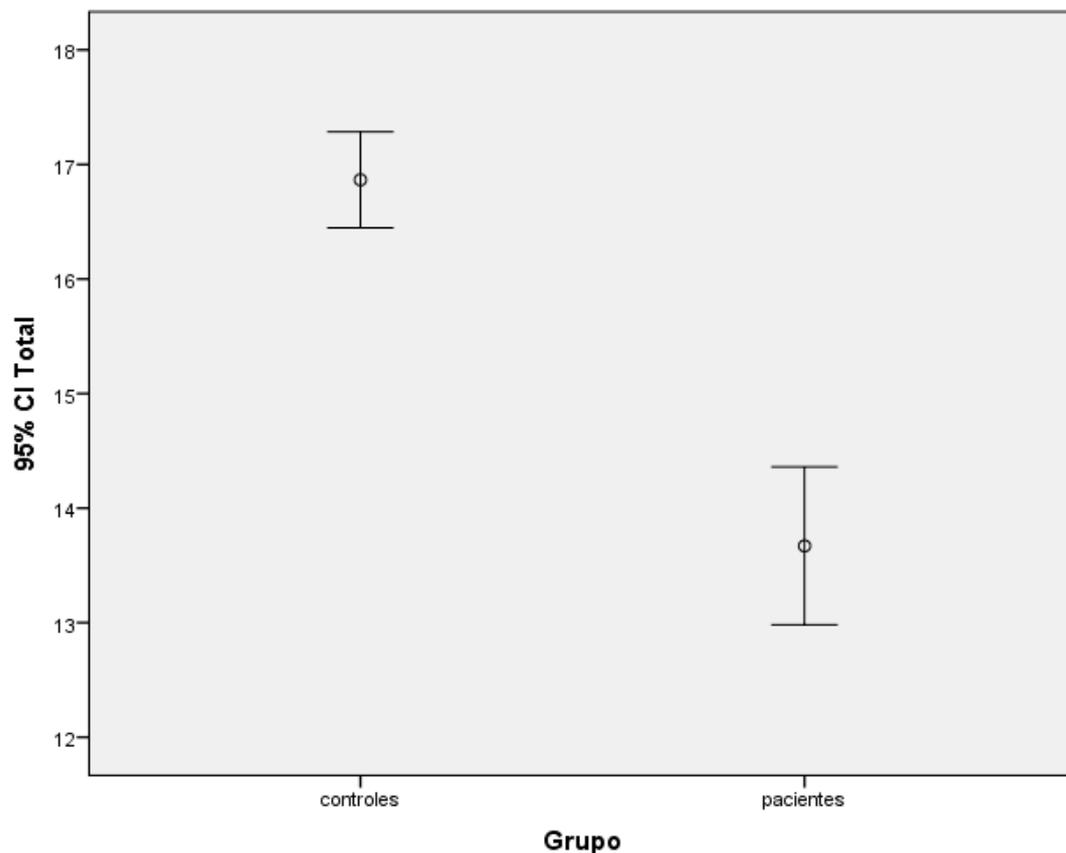
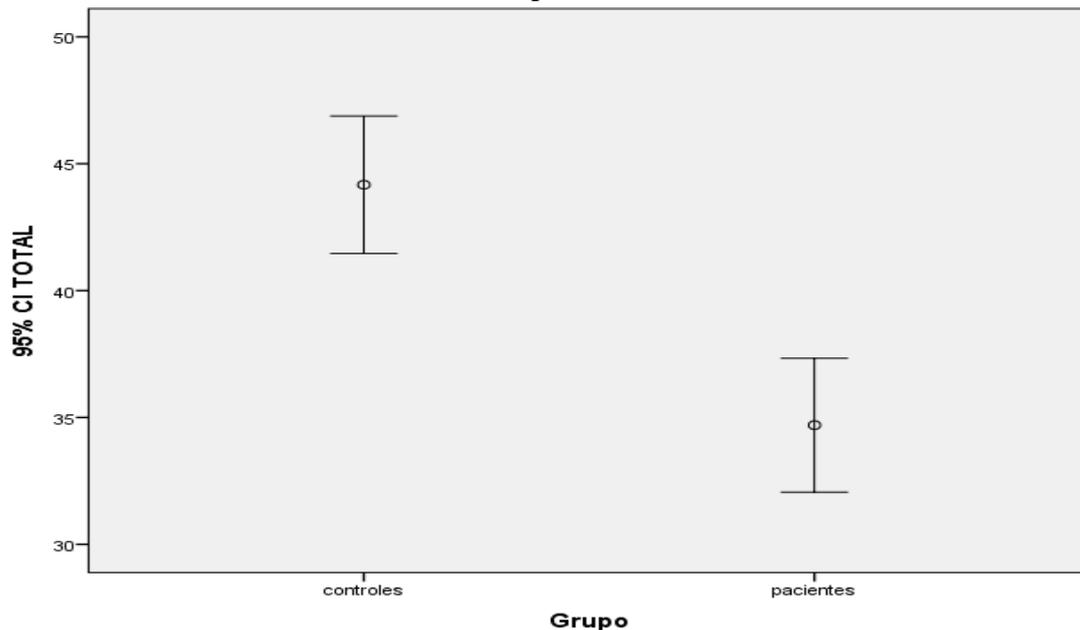


Figura 10. Gráfico de barra de erro (95% intervalo de confiança) da diferença entre as médias de controles e pacientes no Teste REF

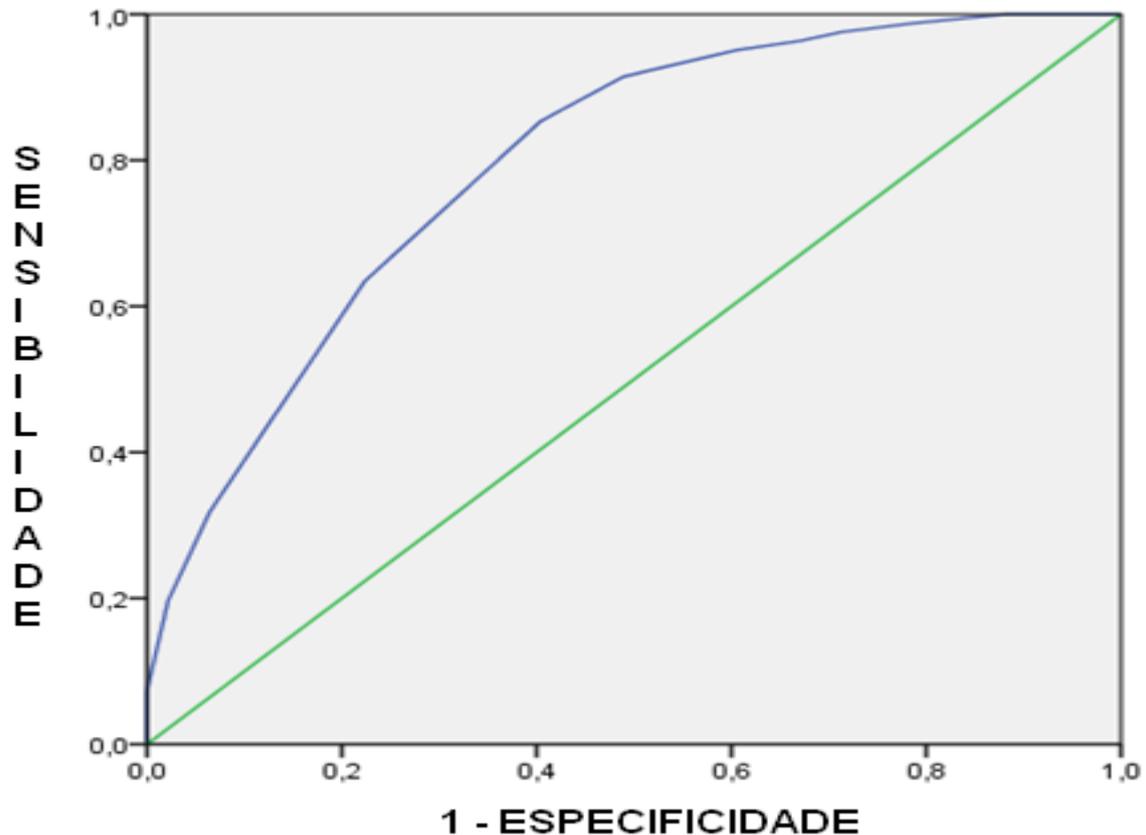


Calculando-se o tamanho de efeito (d de Cohen) para a diferença entre as médias de acertos nos testes, observa-se que o Teste das Insinuações obteve um valor de $d=1,2$ e o Teste de Reconhecimento de Expressões Faciais apresentou um valor de $d=0,8$. Isto quer dizer que existe uma sobreposição entre os escores dos pacientes e controles de 37% no Teste das Insinuações e de 53% no Teste de Reconhecimento de Expressões Faciais. Efetuando-se a normalização dos resultados obtidos no Teste das Insinuações calculando-se o logaritmo refletido dos escores obtidos neste teste (ROBERTS, 2008; NAKAGAWA & CUTHILL, 2007), o tamanho de efeito permanece praticamente inalterado ($d=1,16$). Assim, apesar da cautela ao se analisar o tamanho de efeito para o Teste das Insinuações, a normalização dos dados revelou valores muito semelhantes.

Outra forma de se visualizar estes dados é através de curva ROC, que não necessita que se assumam a normalidade dos dados. A área sob esta curva mostra a probabilidade de que um escore escolhido aleatoriamente na amostra dos controles irá exceder o resultado de um escore escolhido aleatoriamente na amostra dos pacientes (figuras 11 e 12). No caso do Teste das Insinuações, a área sobre a curva ROC foi de 0,80 (intervalo de confiança a 95%: 0,73-0,86), ou seja, existe uma chance de 73 a 86% do escore de qualquer controle ser maior que o escore de qualquer paciente neste teste. Já no Teste de Reconhecimento de Expressões Faciais, a área sobre a curva foi de 0,72 (intervalo de confiança a 95%: 0,64 a 0,80). Neste caso, um escore

escolhido aleatoriamente de qualquer controle tem uma chance de 64 a 80% de ser maior que um escore do grupo dos pacientes.

Figura 11. Curva ROC Teste das Insinuações



Quanto à consistência interna, o alfa de Cronbach foi de 0,68 para o Teste das Insinuações, que se aproxima do valor apropriado para sua utilização como ferramenta para pesquisa (PINKHAM et al., 2016) e também é um valor muito semelhante ao encontrados por Gil et al. (2012) (0,69), que validaram o *Hinting Task* para o espanhol. Já o valor para o Teste de Reconhecimento de Expressões Faciais é 0,75 quando se calcula o alfa de Cronbach através dos tipos de emoções e 0,87 quando se realiza a estatística através dos valores obtidos quanto à intensidade das emoções.

Foi também realizada uma comparação entre as 10 histórias do Teste das Insinuações usando-se o teste de Mann-Whitney (tabela 3). Observa-se que os escores dos pacientes e controles diferem em todas as histórias, excetuando-se a história 02, cujo valor de p é 0,065 (tabela3). Retirando-se a história 02, o alfa de Cronbach vai para 0,66, por isto decidiu-se manter as 10 histórias originais do teste nas demais análises deste estudo.

Figura 12. Curva ROC Reconhecimento de Expressões Faciais

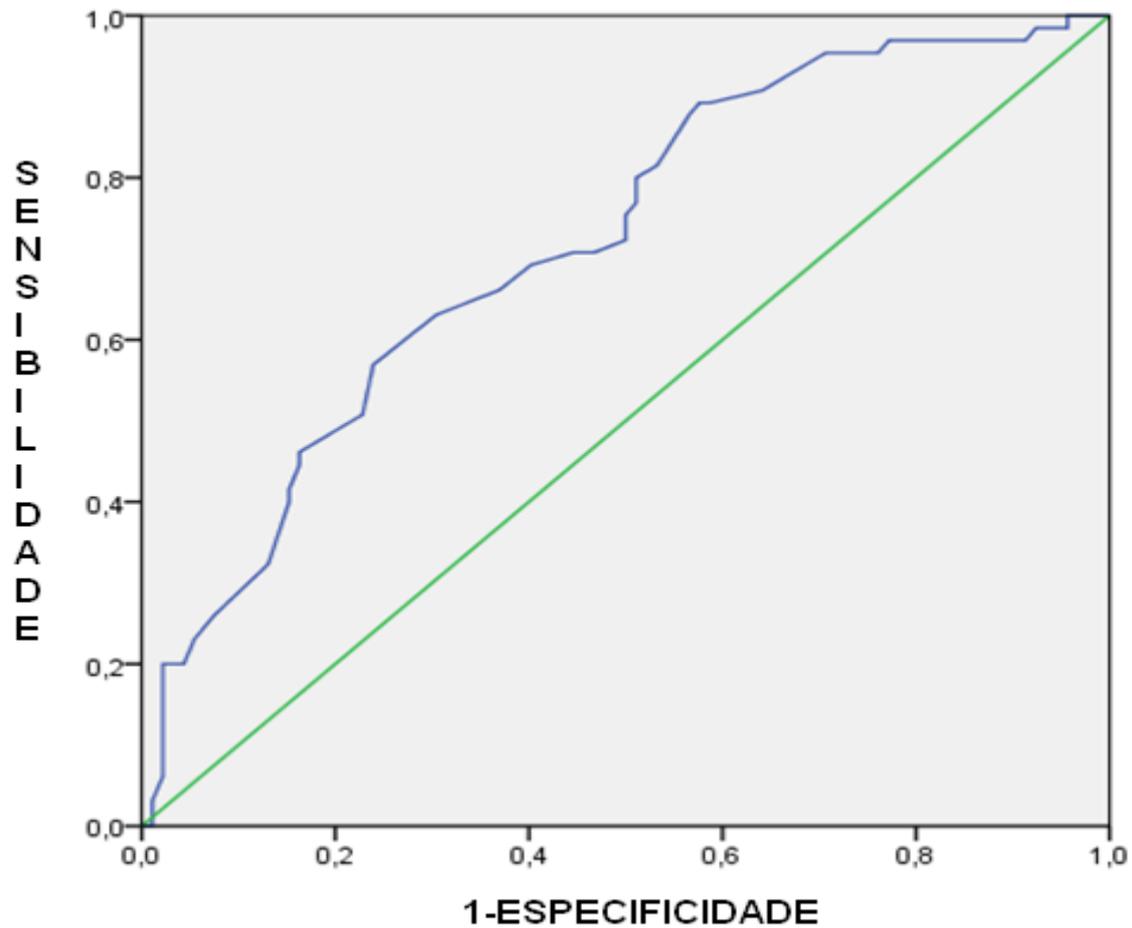


Tabela 3: Teste de Mann-Whitney para diferença dos itens entre pacientes e controles do Teste das Insinuações

	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10
Mann-Whitney	2171	2549,5	2084	2470,5	2054	2185	2079,5	2088	1837	2029
Z	-2,923	-1,846	-3,347	-2,304	-4,277	-2,598	-4,632	-3,258	-4,458	-4,512
p	0,003	0,065	0,001	0,021	<0,001	0,009	<0,001	0,001	<0,001	<0,001

Foi realizada uma comparação entre pacientes e controles quanto à média de acertos em cada um dos tipos e intensidades de emoções do Teste de Reconhecimento de Expressões (tabela 4). Observou-se que alegria foi a emoção com maior média de acertos entre pacientes e controles, e medo foi a menor. Maior nível de intensidade das emoções foi acompanhado de maior acurácia, tanto em pacientes como controles, como observado ao se realizar uma ANOVA de medidas repetidas. Essa análise demonstrou ser improvável que as diferenças entre as médias das intensidades das emoções tenham se originado somente em virtude do acaso (pacientes: $F=230,142$; controles: $F=259,307$; $p<0,001$). Ou seja, podemos afirmar com

segurança que à medida que as figuras do teste expressam as emoções de forma mais óbvia, pacientes e controles aumentam sua quantidade de acerto. As diferenças entre as médias das quatro intensidades (30, 50, 70 e 100%) também são diferentes entre si, tanto nos pacientes como nos controles, mesmo realizando-se o ajuste de Bonferroni para comparações múltiplas, como mostram as tabelas 5 e 6.

Tabela 4: Média e desvio padrão dos tipos e intensidade das emoções no teste REF

	Grupo	Média	dp
MEDO	controles	3,02	2,516
	pacientes	2,88	2,466
RAIVA	controles	7,88	2,815
	pacientes	5,28	3,084
NOJO	controles	6,17	2,583
	pacientes	4,76	3,096
TRISTEZA	controles	4,62	3,009
	pacientes	4,01	2,473
SURPRESA	controles	8,72	2,815
	pacientes	6,56	3,680
ALEGRIA	controles	11,35	2,712
	pacientes	9,61	3,247
NEUTRO	controles	2,40	1,222
	pacientes	1,48	1,251
30	controles	4,54	2,077
	pacientes	3,77	2,302
50	controles	9,77	3,151
	pacientes	7,71	3,524
70	controles	12,88	3,582
	pacientes	9,84	4,033
100	controles	14,55	3,816
	pacientes	11,74	4,232
TOTAL	controles	44,17	10,925
	pacientes	34,70	12,740

Tabela 5. Comparação entre os níveis de intensidade das emoções do REF nos pacientes

(I) intensidade pacientes	(J) intensidade pacientes	Diferença da média (I-J)	p [*]	Intervalo de confiança 95% para a diferença [*]	
				Limite inferior	Limite superior
30	50	-3,947*	<,0001	-4,722	-3,172
	70	-6,074*	<,0001	-7,046	-5,103
	100%	-7,979*	<,0001	-8,962	-6,995
50	30	3,947*	<,0001	3,172	4,722
	70	-2,128*	<,0001	-3,000	-1,256
	100%	-4,032*	<,0001	-4,868	-3,196
70	30	6,074*	<,0001	5,103	7,046
	50	2,128*	<,0001	1,256	3,000
	100%	-1,904*	<,0001	-2,588	-1,221
100%	30	7,979*	<,0001	6,995	8,962
	50	4,032*	<,0001	3,196	4,868
	70	1,904*	<,0001	1,221	2,588

*ajuste para comparações múltiplas: Bonferroni

Tabela 6. Comparação entre os níveis de intensidade das emoções do REF nos controles

(I) intensidade controles	(J) intensidade controles	Diferença da média (I-J)	p [*]	Intervalo de confiança 95% para a diferença [*]	
				Limite inferior	Limite superior
30	50	-5,197	<,0001	-6,128	-4,266
	70	-8,348	<,0001	-9,430	-7,267
	100%	-9,970	<,0001	-11,238	-8,701
50	30	5,197	<,0001	4,266	6,128
	70	-3,152	<,0001	-4,128	-2,175
	100%	-4,773	<,0001	-5,778	-3,767
70	30	8,348	<,0001	7,267	9,430
	50	3,152	<,0001	2,175	4,128
	100%	-1,621	<,0001	-2,621	-,621
100%	30	9,970	<,0001	8,701	11,238
	50	4,773	<,0001	3,767	5,778
	70	1,621	<,0001	,621	2,621

*ajuste para comparações múltiplas: Bonferroni

Foi realizada também uma comparação entre as médias dos acertos de pacientes e controles quanto ao tipo e intensidade das emoções observadas durante realização do teste de REF, utilizando-se o teste t de Student (tabela 7). A média dos acertos difere entre pacientes e controles dentre todos os níveis de intensidade das emoções. Quanto ao tipo de emoções, todas as médias de acerto diferiram entre pacientes e controles, exceto medo e tristeza. Quando se leva em consideração o intervalo de confiança de 95% entre as médias, além de medo e tristeza, a intensidade de 30% das emoções também mostra interseção entre os intervalos de confiança de pacientes e controles (figuras 13 e 14).

Tabela 7. Teste t de Student para comparação entre as médias de pacientes e controles quanto aos tipos e intensidade de emoções no teste de REF

	t	p	Diferença da média
MEDO	,330	0,742	,132
RAIVA	5,414	<0,001	2,600
NOJO	3,024	0,003	1,414
TRISTEZA	1,386	,0168	,605
SURPRESA	3,991	<0,001	2,159
ALEGRIA	3,563	<0,001	1,747
NEUTRO	4,609	<0,001	,921
30,	2,164	0,032	,773
50,	3,775	<0,001	2,056
70,	4,882	<0,001	3,036
100,	4,281	<0,001	2,809
TOTAL	4,863	<0,001	9,474

Figura 13: Gráfico de barras e erros para diferença entre as médias com intervalo de 95% de confiança da diferença entre as médias entre pacientes e controles quanto aos tipos de emoções no Teste de Reconhecimento de Expressões

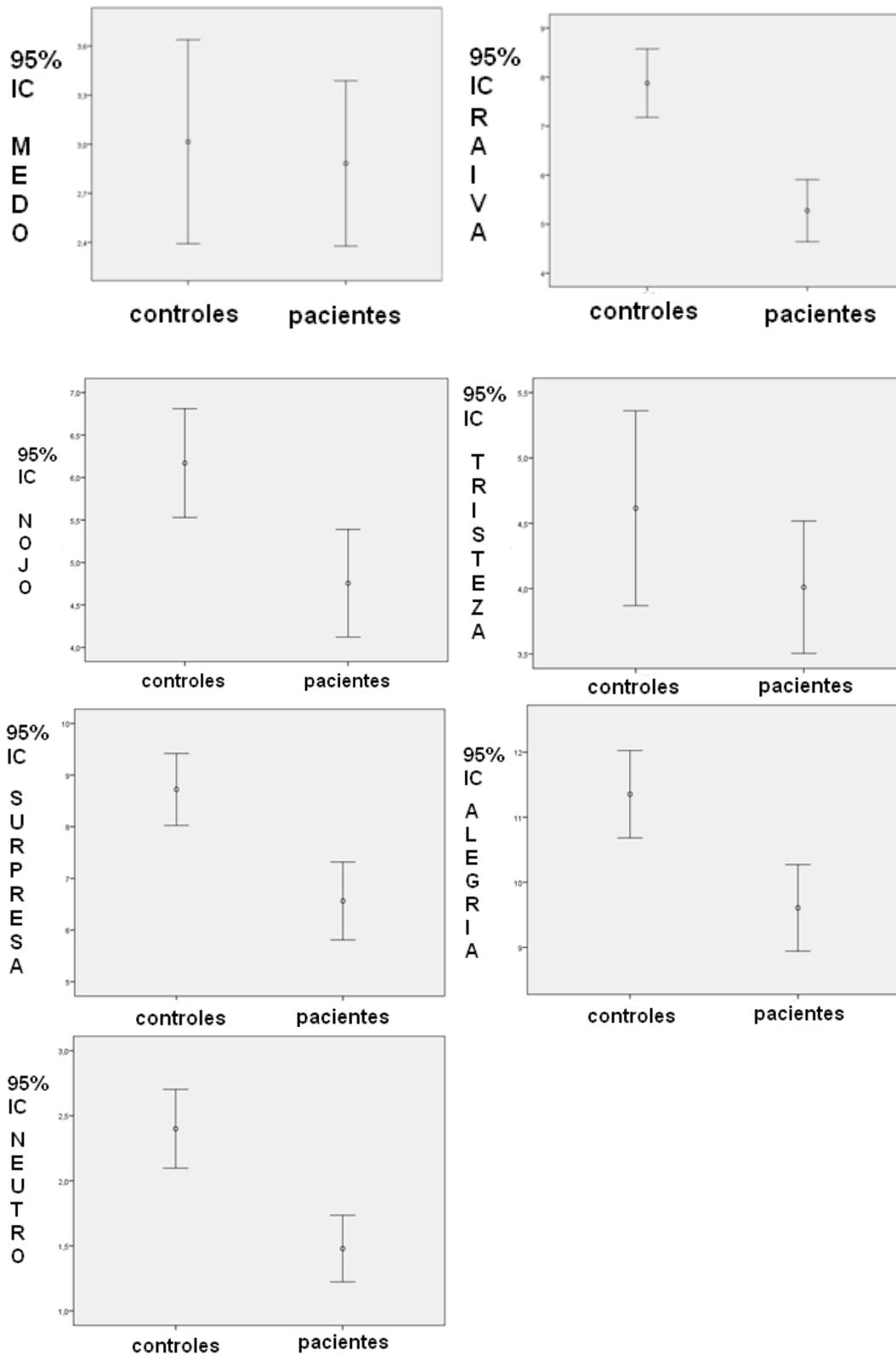
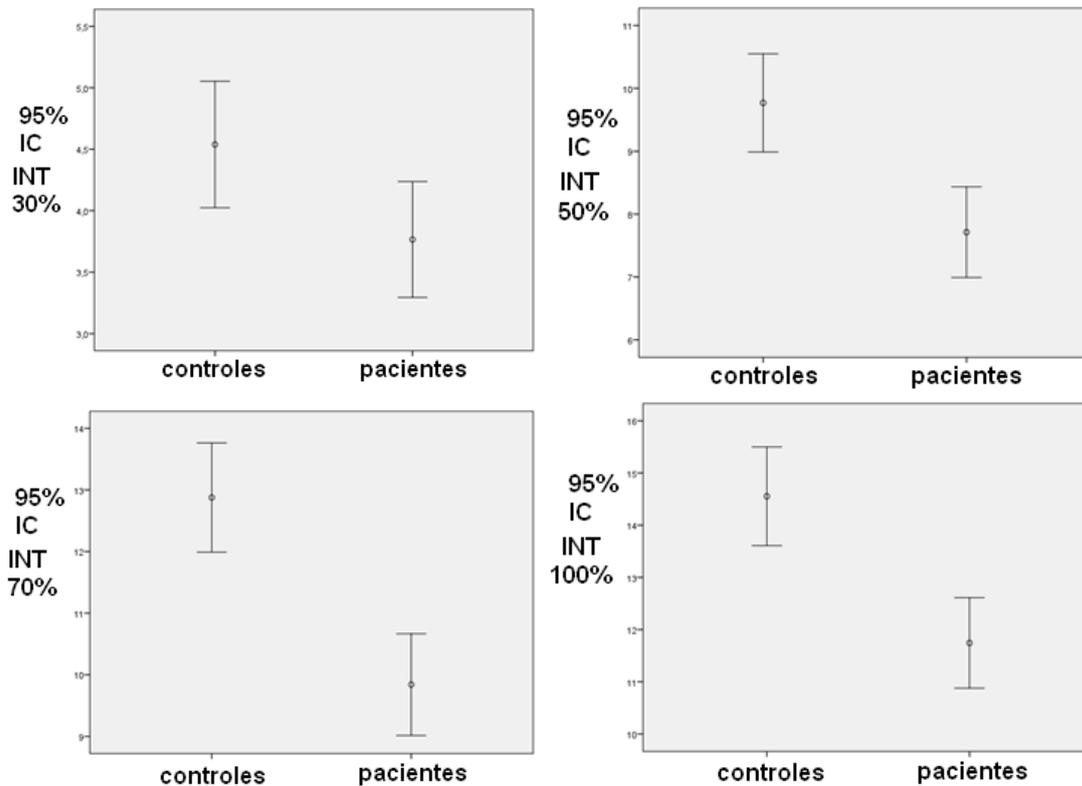


Figura 14: Gráfico de barras e erros para diferença entre as médias com intervalo de 95% de confiança da diferença entre as médias entre pacientes e controles quanto à intensidade das emoções no Teste de Reconhecimento de Expressões



4.2.2 Relações com dados sócio-demográficos, sintomatologia, neurocognição e capacidade funcional

Conforme observado na tabela 8, nos pacientes, os testes de cognição social não se correlacionam com a idade e a dose de antipsicótico. O teste REF correlacionou-se aos anos de estudo ($r=0,380$; $p<0,01$) nos pacientes.

Não houve nenhuma correlação entre dados sócio-demográficos e cognição social nos controles.

O Teste das Insinuações correlacionou-se a PANSS negativa ($\rho=-0,241$, $p<0,05$) e Calgary ($\rho=-0,248$; $p<0,05$). Reconhecimento de expressões faciais não se relacionou a sintomatologia.

O Teste das Insinuações correlaciona-se apenas fracamente com o teste de reconhecimento de expressões faciais ($\rho=0,288$, $p<0,01$), o que seria de se esperar, já que ambos avaliam a cognição social, mas domínios diferentes (teoria da mente e percepção de emoções,

respectivamente). O Teste das Insinuações e o Teste de Reconhecimento de Expressões também se correlacionam de forma fraca a moderada a todos os domínios da cognição geral, excetuando-se velocidade motora (teste das fichas), como observado na tabela 9. A média do escore Z da BACS para os pacientes foi de -1,08, ou seja, a média dos pacientes difere em relação aos controles em cerca de um desvio padrão, replicando-se resultado de metanálise recente (FIORAVANTI et al., 2012).

Os testes de cognição social também se correlacionam de forma moderada/forte à capacidade funcional, avaliada pela UPSA-BR (Teste das Insinuações: $\rho=0,52$; $p<0,001$; Teste de Reconhecimento de Expressões Faciais: $r=0,55$; $p<0,001$). A correlação entre os testes de cognição social e UPSA permanece significativa mesmo quando se controla o resultado levando-se em consideração a cognição geral ($r=0,42$; $p=0,002$ para o Teste das Insinuações e $r=0,27$; $p=0,05$ para o REF). E quando se leva em consideração a pontuação nos testes de cognição social, a correlação entre neurocognição e UPSA-BR perde força, indo de $r=0,65$ para $0,52$ ($p<0,001$) quando se controla o resultado levando-se em consideração o Teste das Insinuações e para $0,39$ ($p=0,003$) quando se controla o resultado levando-se em consideração o REF.

Tabela 8. Correlações de Cognição Social

	Idade	Anos est.	PANSS Positiva	PANSS Negativa	Calgary	REF	UPSA
HINTING	-0,82	0,211	-0,67	-0,241*	-0,248*	0,288**	0,518**
REF	-0,13	0,38**	0,09	-0,134	0,15		0,548**

* $p<0,05$; ** $p<0,01$; REF: Reconhecimento de Expressões Faciais

Tabela 9. Correlações entre cognição Social e neurocognição

	Memória verbal	Seq. dígitos	Fichas	Fluência animais	Fluência F	Fluência S	Símbolos	T. Londres	Escore Z
HINTING	0,397**	0,323**	0,125	0,369**	0,470**	0,320**	0,383**	0,314**	0,451**
REF	0,366**	0,355**	0,135	0,410**	0,380**	0,441**	0,443**	0,540**	0,502**

* $p<0,05$; ** $p<0,01$; REF: Reconhecimento de Expressões Faciais

Foi também realizada uma regressão linear múltipla para se analisar os preditores dos escores dos testes de cognição social. Todas as variáveis que apresentaram correlações estatisticamente significativas com os testes de cognição social foram avaliadas. Em relação ao Teste das Insinuações, permaneceram no modelo apenas fluência verbal e memória de trabalho (sequenciamento de dígitos), que juntos explicam 26% da variação no Teste das

Insinuações (22% para fluência verbal e 4% para memória de trabalho). As demais variáveis que apresentaram correlações simples significativas (observar tabelas 10 e 11) com o teste não mantiveram valor estatístico significativo ($p < 0,05$) na regressão múltipla. A normalização dos dados através do logaritmo refletido não trouxe mudanças significativas ao modelo. Apesar disto, estes dados devem ser analisados com cautela, já que o escore do Teste das Insinuações não possui uma distribuição normal.

Tabela 10. Modelo de regressão linear múltipla para o Teste das Insinuações

Modelo	R	R ² ajustado	F	p
Fluência verbal	0,479	0,219		
Fluência verbal + Seq. dígitos	0,526	0,257	14,129	<0,001

Tabela 11. Variáveis excluídas na regressão linear do Teste das Insinuações

Variáveis excluídas	t	p	Correlações parciais
PANSS negativa	-1,935	0,057	-0,221
Calgary	-1,63	0,109	-0,204
Memória verbal	,632	0,529	0,074
Escore Z BACS	,669	0,506	0,085
Cod. símbolos	,058	0,954	0,007
Torre de Londres	,126	0,900	0,015

A regressão múltipla para o Teste de Reconhecimento de Expressões Faciais encontrou que o escore Z da BACS explica 37% da variação do teste. As demais variáveis que apresentaram correlações simples significativas (observar tabelas 12 e 13) com o teste não mantiveram valor estatístico significativo ($p < 0,05$) na regressão múltipla.

Tabela 12. Modelo de regressão linear múltipla para o Teste REF

Modelo	R	R ² ajustado	F	p
Escore Z	0,618	0,37	21,64	<0,001

Tabela 13. Variáveis excluídas regressão linear Teste das Insinuações

Variáveis excluídas	t	p	Correlações parciais
Anos estudo	0,30	0,976	0,005
Memória verbal	-0,645	0,522	-0,099
Torre de Londres	0,112	0,889	0,021
Seq. Dígitos	0,725	0,472	0,111
Cod. símbolos	-0,321	0,749	-0,50
Fluência verbal	0,883	0,749	0,135

Para se avaliar os preditores de capacidade funcional, também foi realizada uma regressão múltipla levando-se em consideração as variáveis que apresentaram correlações simples com a UPSA (tabelas 14, 15 e 16). O modelo incluindo memória de trabalho (seqüenciamento de dígitos) e reconhecimento de expressões faciais é responsável por 65% da variação no escore da UPSA, com a memória de trabalho contribuindo com 47% da variação e o reconhecimento de expressões faciais acrescentando 18% à variação. As demais variáveis não atingiram nível de significância.

Tabela 14. Correlações simples significativas UPSA

Variável	r	Variável	r
Idade	-0,372**	Seq. Dígitos	0,615**
Anos estudo	0,647**	Fichas motora	0,272*
PANSS negativa	-0,469**	Fluência verbal animais	0,427**
Hinting	0,518** ^a	Fluência verbal F	0,461**
REF	0,548**	Fluência verbal S	0,342**
Escore Z	0,654**	Cod. Símbolos	0,561**
Memória verbal	0,476**	Torre de Londres	0,564**

*p<0,05; **p<0,01; ^acorrelação Spearman (rho)

Tabela 15. Modelo de regressão linear múltipla para a UPSA

Modelo	R	R ² ajustado	F	p
Seq. Dígitos	0,701	0,472		
Seq. Dígitos +	0,824	0,654	26,483	<0,0001
REF				

Tabela 16. Variáveis excluídas da regressão linear UPSA

Variáveis excluídas	t	p	Correlações parciais
Anos estudo	1,269	0,217	0,251
Idade	-2,038	0,053	-0,384
PANSS neg.	-0,429	0,672	-0,087
Z-score	0,904	0,375	0,182
Memória verbal	0,666	0,512	0,135
Fluência verbal	0,337	0,739	0,069
Símbolos	1,549	0,134	0,302
Torre de Londres	1,113	0,277	0,222
Fichas	0,597	0,556	0,121
Hinting	1.039	0,309	0,207

4.3. ESTRESSE OXIDATIVO

4.3.1. Comparação de níveis séricos de GSH e TBARS entre pacientes e controles

85 pacientes e 75 controles tiveram amostra de soro coletada para análise de estresse oxidativo. Não houve diferenças significativas entre esta amostra e a amostra total, seja de pacientes ou de controles, quanto aos dados epidemiológicos, de sintomatologia ou cognitivos. Os níveis séricos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney, já que TBARS dos controles e GSH dos pacientes não obedecem à distribuição normal. Houve diferença estatística significativa entre os níveis de TBARS ($Z=5,51$; $p<0,001$), com os pacientes apresentando níveis mais elevados de peroxidação lipídica. Também houve diferença estatística significativa entre os níveis de GSH, com os pacientes apresentando menores níveis ($Z=3,56$; $p<0,001$) (tabela 17 e figuras 15 e 16).

Tabela 17. Diferença entre pacientes e controles quanto à concentração sérica de TBARS e GSH

	Pacientes (n=85)	Controles (n=75)	Teste estatístico	p
TBARS(nmol/mL)	0,37* (0,27-0,61)**	0,19* (0,03-0,40)**	$Z=5,51$	<0,001
GSH (ug/mL)	4,99* (3,38-5,98)**	6,33* (4,74-8,16)**	$Z=3,56$	<0,001

*Valor refere-se à mediana/ **Valores referem-se aos percentis 25-75

Não houve diferença estatística significativa entre tabagistas e não tabagistas em nenhum grupo (pacientes ou controles) em medidas de estresse oxidativo (tabelas 18 e 19).

Quando se analisa apenas os pacientes e controles tabagistas, a diferença estatística significativa na concentração de TBARS dos grupos se mantém, ao passo que a diferença nas concentrações de GSH deixa de atingir significância estatística. A aproximação da mediana da concentração de GSH entre os grupos tabagistas parece ser devido a um decréscimo na mediana dos controles tabagistas. Devido ao pequeno número de sujeitos tabagistas nos dois grupos, os resultados obtidos podem ser devido ao acaso, devendo ser analisados com cautela (tabela 20).

Figura 15. Gráfico de barras da diferença entre as medianas de controles e pacientes (com intervalo de confiança de 95%) na concentração sérica de TBARS

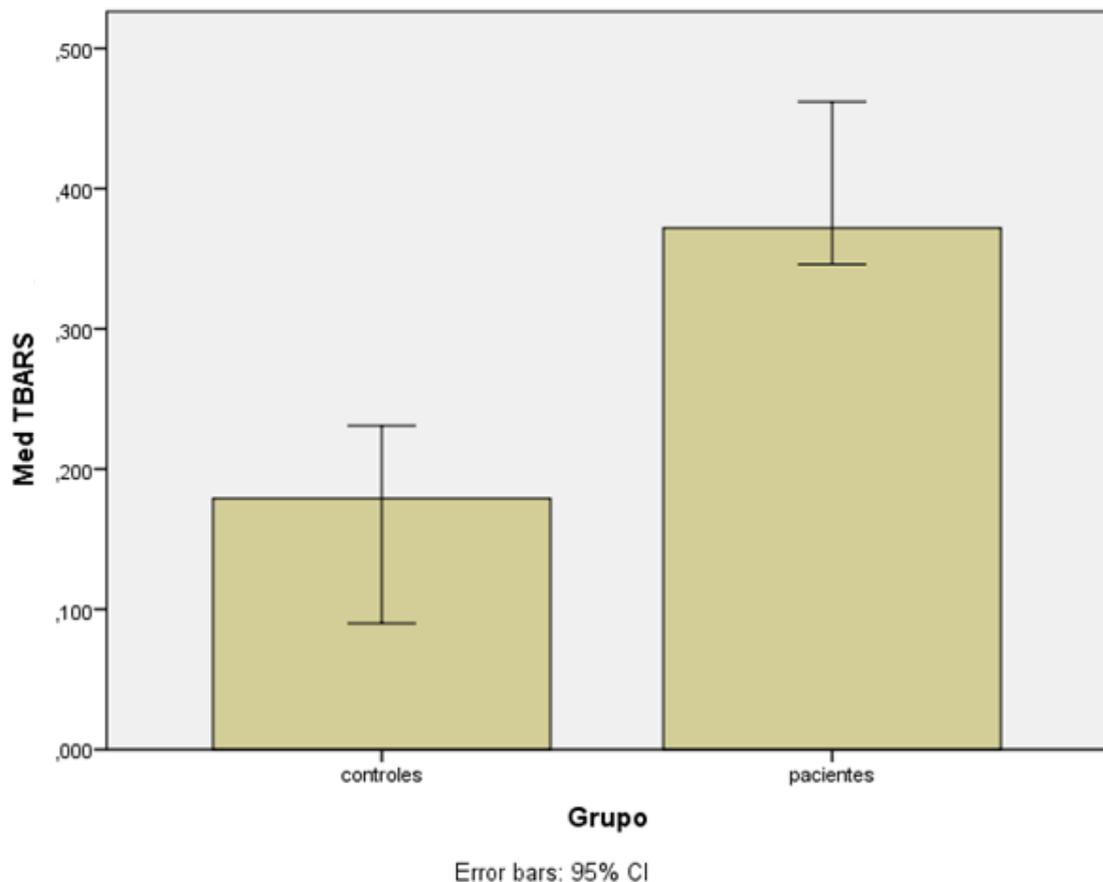


Figura 16. Gráfico de barras da diferença entre as medianas de controles e pacientes (com intervalo de confiança de 95%) na concentração sérica de GSH

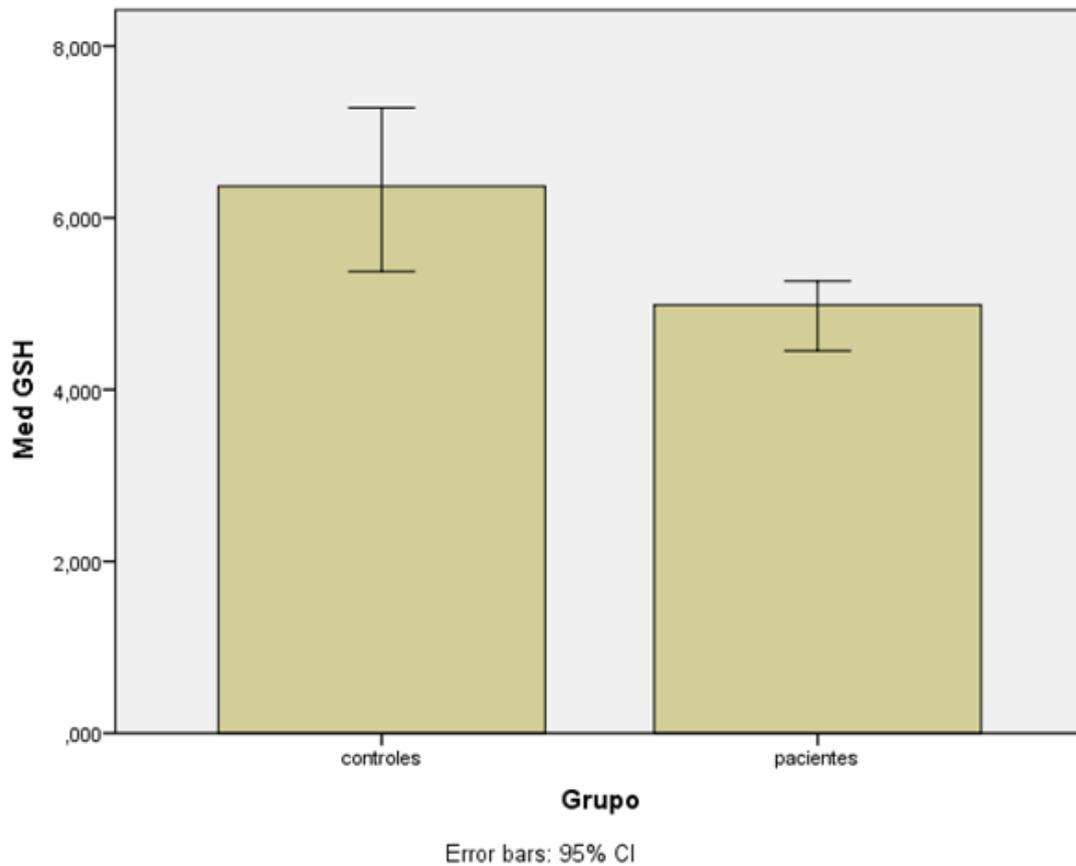


Tabela 18: Diferença entre pacientes tabagistas e não tabagistas quanto à concentração sérica de TBARS e GSH

	Tabagistas(n=22)	Não tabagistas(n=63)	Teste Estatístico	p
TBARS(nmol/mL)	0,54* (0,22-0,82)**	0,37* (0,28-0,53)**	Z=1,49	0,14
GSH (ug/mL)	4,9* (3,76-6,91)**	5,04* (3,30-5,99)**	Z=0,28	0,83

*Valor refere-se à mediana/ **Valores referem-se aos percentis 25-75

Tabela 19: Diferença entre controles tabagistas e não tabagistas quanto à concentração sérica de TBARS e GSH

	Tabagistas(n=13)	Não tabagistas(n=62)	Teste Estatístico	p
TBARS(nmol/mL)	0,18* (0,08-0,38)**	0,19* (0,03-0,42)**	Z=0,20	0,84
GSH (ug/mL)	4,74* (3,46-9,27)**	6,45* (5,00-8,14)**	Z=1,29	0,20

*Valor refere-se à mediana/ **Valores referem-se aos percentis 25-75

Tabela 20: Diferença entre controles e pacientes tabagistas quanto à concentração sérica de TBARS e GSH

	Pacientes(n=22)	Controles(n=13)	Teste Estatístico	p
TBARS _(nmol/mL)	0,54* (0,22-0,82)**	0,18* (0,08-0,38)**	Z=2,40	0,016
GSH (ug/mL)	4,9* (3,76-6,91)**	4,74* (3,46-9,27)**	Z=0,10	0,094

*Valor refere-se à mediana/ **Valores referem-se aos percentis 25-75

Excluindo-se os resultados de controles e pacientes tabagistas, a concentração sérica de TBARS e GSH da amostra formada apenas por controles e pacientes não tabagistas mantém-se estatisticamente significativa (tabela 21).

Tabela 21: Diferença entre controles e pacientes não tabagistas quanto à concentração sérica de TBARS e GSH

	Pacientes(n=63)	Controles(n=62)	Teste Estatístico	p
TBARS _(nmol/mL)	0,37* (0,28-0,53)**	0,19* (0,03-0,42)**	Z=4,31	<0,001
GSH (ug/mL)	5,04* (3,30-5,99)**	6,45* (5,00-8,14)**	Z=3,58	<0,001

*Valor refere-se à média/ **Valores referem-se aos percentis 25-75

4.3.2. Correlações entre as medidas de estresse oxidativo

TBARS e GSH não se correlacionam nos pacientes. Já nos controles, a correlação é $\rho = -0,58$ ($p < 0,001$), ou seja, menor concentração de GSH indica uma maior peroxidação lipídica.

4.3.3. Estresse oxidativo e dados sócio-demográficos, dose de antipsicóticos, sintomatologia e capacidade funcional

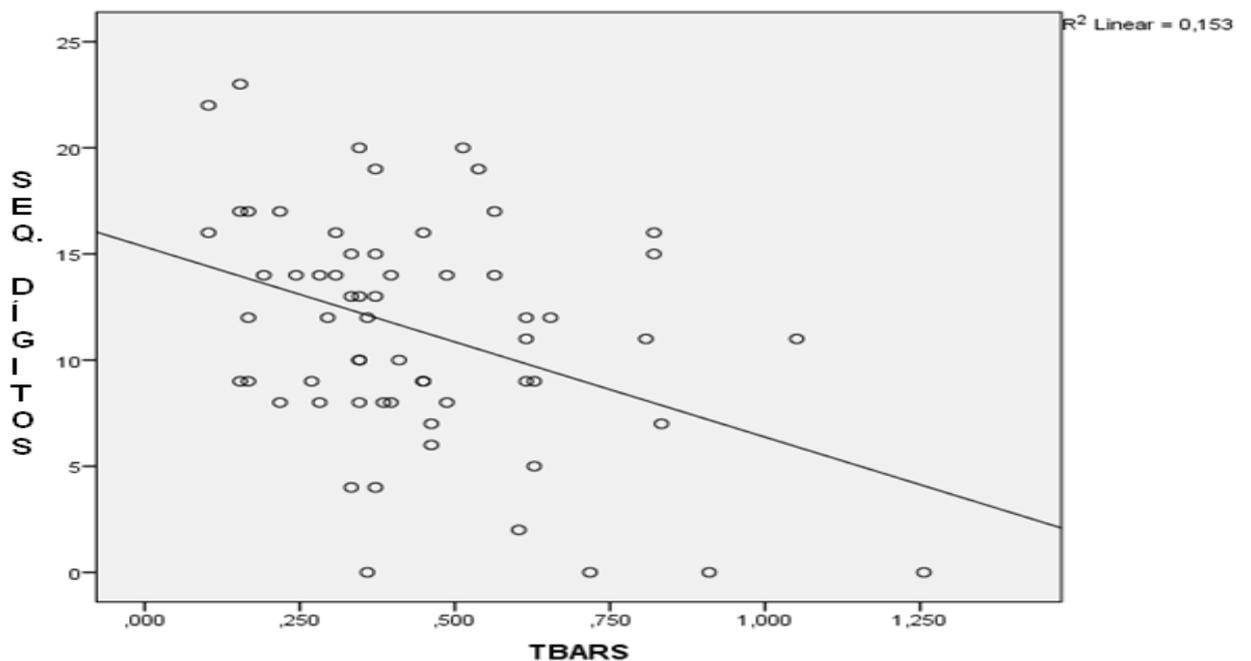
Nenhuma das variáveis avaliadas (idade e anos de estudo nos controles e estas mais PANSS positiva e negativa, Calgary e UPSA nos pacientes) apresentou correlações significativas com as medidas de estresse oxidativo.

4.3.4. Estresse oxidativo e neurocognição

Nos pacientes, TBARS correlacionou-se negativamente com o teste de seqüenciamento de dígitos da BACS ($r = -0,39$; $p = 0,002$) (figura 17). Ou seja, pior desempenho na tarefa de memória de trabalho relaciona-se a maior peroxidação lipídica. Esta correlação manteve-se

significativa mesmo quando se faz a correção de Bonferroni para correlações múltiplas, ou seja, dividindo-se o valor de p inicial pelo número de correlações realizadas entre a variável TBARS e as demais variáveis (i.e. 24) no grupo dos pacientes ($p=0,048$). GSH não se correlacionou a nenhuma variável de neurocognição nos pacientes.

Figura 17. Gráfico de dispersão entre os valores de TBARS e Teste de sequenciamento de dígitos



No intuito de se realizar uma regressão linear múltipla para se avaliar as variáveis que influenciam o resultado do teste de sequenciamento de dígitos, foram feitas correlações bivariadas entre este teste e demais variáveis. Além de TBARS, o escore Z da BACS, anos de estudo, idade e PANSS negativa mostraram correlações significativas com o teste de memória de trabalho (tabela 22).

Tabela 22. Correlações (r) do teste de sequenciamento de dígitos

Escore Z	Anos estudo	TBARS	PANSS neg.	Idade
0,67 ($p<0,001$)	0,56 ($p<0,001$)	-0,39 ($p=0,002$)	-0,25 ($p=0,009$)	-0,21 ($p=0,03$)

Optou-se por não incluir o escore Z da BACS e anos de estudos na regressão multivariada. A correlação entre o teste de sequenciamento de dígitos e o escore Z é óbvia, já que o teste é um dos domínios cognitivos utilizados para se calcular o escore Z. Além disso, a correlação entre

o escore Z e anos de estudo é alta ($r=0,65$; $p<0,001$). Retirando-se estas variáveis da regressão, evita-se a multicolinearidade, condição que não deve estar presente ao se realizar uma regressão linear.

Incluindo-se TBARS, idade e PANSS negativa na regressão linear multivariada passo a passo (*stepwise*), produz-se um modelo em que apenas TBARS e idade entram na equação, com TBARS explicando 12% da variação no teste de seqüenciamento de dígitos e idade explicando 7% adicionais. O coeficiente de regressão para TBARS foi de -8,129 (IC de 95% = -2,52 a -13,7). Como os intervalos de confiança não incluíram um valor positivo, podemos inferir que os coeficientes de regressão da população são negativos ($t=-2,91$; $p=0,005$). O coeficiente de regressão padronizado (beta) de -0,36 indica que para cada aumento de um desvio padrão na concentração sérica de TBARS, o escore do teste de seqüenciamento de dígitos diminui 0,36 desvios-padrões. O coeficiente de regressão padronizado para idade é -0,30, indicando que TBARS é mais relevante para o modelo (tabela 23).

Tabela 23. Coeficientes de regressão das variáveis (TBARS e idade) que entraram no modelo de predição do teste de seqüenciamento de dígitos

Modelo	Coef. Não padr. (B)	Coef. padr. (Beta)	t	p	IC 95% Beta
TBARS	-8,12	-0,36	-2,91	0,005	-2,53 a -13,71
Idade	-0,13	-0,30	-2,48	0,16	-0,03 a -0,24

Nos controles, TBARS correlaciona-se negativamente ao teste de tarefa motora com fichas - velocidade motora ($\rho=-0,41$; $p=0,005$), ao teste de fluência verbal – média dos subtestes com letras F e S e nomes de animais ($\rho=-0,30$; $p=0,043$) e ao escore global da BACS – escore Z ($\rho=0,35$; $p=0,016$). Entretanto, quando se realiza a correção de Bonferroni, estas correlações não atingem significância estatística. A GSH correlaciona-se positivamente ao teste de tarefa motora com fichas ($r=0,31$; $p=0,034$); mas esta correlação também deixa de ser significativa após a correção de Bonferroni.

4.3.5. Estresse oxidativo e cognição social

Nos pacientes, TBARS e GSH não se correlacionam a nenhuma medida de cognição social.

Nos controles, TBARS correlaciona-se negativamente ao Teste das Insinuações ($\rho=-0,36$; $p=0,002$) e a identificação das emoções “alegria” ($\rho=-0,31$; $p=0,018$) e “neutro” ($\rho=-0,39$;

$p=0,003$). Entretanto, após a correção de Bonferroni, ou seja, dividindo-se o valor de p pelo número de correlações avaliadas entre a variável TBARS e as demais variáveis nos controles (19), apenas a correlação com o Teste das Insinuações manteve-se significativa ($p=0,038$). GSH não se correlacionou a nenhuma variável de cognição social.

5. DISCUSSÃO

5.1. VALIDAÇÃO DOS TESTES DE COGNIÇÃO SOCIAL

Validade pode ser definida como o grau de confiança que podemos ter ao fazer as inferências que fazemos sobre as pessoas baseadas em seus escores em uma escala (STREINER, 2016). Esta definição enfatiza que validade não é uma propriedade fixa do teste, e sim uma interação do teste, os sujeitos que foram submetidos a ele e as circunstâncias sobre as quais o teste foi realizado. Portanto, validade não é um fenômeno dicotômico tipo presente/ausente, mas existe em um *continuum*, dependendo do peso da evidência até o momento (STREINER, 2016).

Uma forma de se validar os testes de cognição social utilizados neste trabalho é comparando os resultados obtidos com aqueles vistos na literatura.

As médias e os desvios-padrão do *Hinting Task* (Teste das Insinuações) encontrados neste trabalho foram muito semelhantes a recente estudo de Pinkham et al. (2016) (pacientes – média: 13,89, desvio padrão: 3,41 contra 13,59/3,87, respectivamente; controles: 17,11/1,98 contra 16,82/2,05, respectivamente) que analisou as qualidades psicométricas de diversos testes dos mais variados subdomínios da cognição social. Outra semelhança foi entre a correlação do Teste das Insinuações com UPSA: $r=0,518$ no presente estudo e $r=0,462$ no trabalho de Pinkham et al. (2016), ambas com $p<0,001$.

O tamanho de efeito para a diferença entre pacientes e controles quanto a ToM e processamento de emoções encontrados neste estudo (1,2 e 0,8, respectivamente) é semelhante ao encontrado na metanálise de Savla et al. (2013) – $g=0,96$ para ToM e $g=0,88$ processamento de emoções.

Outro aspecto que reforça as qualidades psicométricas do Teste das Insinuações é sua validade discriminativa com o teste de reconhecimento de expressões faciais. A correlação entre eles é fraca ($r=0,29$; $p<0,01$), sendo o que se espera, já que ambos avaliam a cognição social, mas subdomínios diferentes (teoria da mente e processamento de emoções,

respectivamente). Esse achado também encontra respaldo na literatura. Os estudos de Lysaker et al. (2014) e Hagiya et al. (2015), encontraram uma correlação entre o Hinting Task e teste de reconhecimento de expressões faciais semelhante ao nosso estudo ($r=0,33$ e $r=0,34$, respectivamente).

Com relação às associações entre neurocognição e cognição social, também se percebe semelhanças com outros trabalhos. O estudo de Mehta et al. (2014) encontrou, em uma população de pacientes com esquizofrenia em remissão, que neurocognição prediz cerca de 19% da variação observada em teoria da mente e 39% da variação observada no reconhecimento de emoções, resultados semelhantes ao atual estudo, cuja regressão múltipla demonstrou que neurocognição explica 26% da variação no Teste das Insinuações e 37% no Teste de Reconhecimento de Expressões Faciais (ver tabelas 10 e 12). Já a metanálise de Ventura et al. (2013) também confirma que as correlações entre cognição social e neurocognição são em sua maioria moderadas e consistentes, e mais elevadas do que entre cognição social e sintomas negativos.

Assim como o trabalho de Brown et al. (2014), o presente estudo também encontrou uma associação fraca entre o Teste das Insinuações e sintomas negativos, não encontrando relações entre sintomatologia positiva. Outra semelhança entre os trabalhos é que não foram encontradas associações entre sintomatologia e teste de reconhecimento de expressões faciais. O estudo de Brown não avaliou sintomas depressivos, que se correlacionam fracamente ao Teste das Insinuações no presente estudo. Vale lembrar, entretanto, que tanto sintomas negativos como depressivos não entraram no modelo de regressão múltipla.

O presente estudo mostrou que medo e tristeza foram as emoções em que não ocorreram diferenças significativas entre pacientes e controles no Teste de Reconhecimento de Expressões Faciais. Também foi encontrado que felicidade é a emoção de maior quantidade de acerto e medo a de menor, tanto em pacientes como controles. Além disto, o aumento de intensidade nas emoções expressas aumenta a quantidade de acertos. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Hargreaves et al. (2016), que também demonstrou que felicidade e medo são as emoções com maior e menor média de acertos, respectivamente, bem como que a acurácia aumenta com a intensidade das emoções. Entretanto, neste estudo a emoção que não diferiu nos acertos entre pacientes e controles foi a surpresa. O achado do presente estudo de que medo é a emoção com menor identificação em controles e pacientes também tem respaldo na literatura (TRACY & ROBBINS, 2008; KOHLER et al., 2003).

Achado muito relevante deste trabalho é que a cognição social, mais especificamente o reconhecimento de emoções, explica variação do escore da UPSA em adição à neurocognição. No presente estudo, memória de trabalho explica 47% da variação na UPSA e reconhecimento de expressões confere 18% de explicação adicional. A UPSA é a medida de capacidade funcional mais utilizada e foi avaliada como possuindo as melhores propriedades psicométricas entre medidas de funcionamento baseadas em desempenho e em entrevistas. Tem sido atribuída a este instrumento substancial validade de construto como um mediador entre o desempenho neuropsicológico e o funcionamento no mundo real. A UPSA captura cerca de 15 a 37% da variância no mundo real para atividades como vida independente e comportamento social (VESTERAGER et al., 2012; MANTOVANI et al., 2015).

O trabalho de Vesterager et al. (2012), avaliando pacientes com primeiro episódio de esquizofrenia, encontrou resultado em regressão múltipla muito semelhante ao presente estudo, a saber: memória de trabalho explicou 30% da variação na UPSA, com cognição social conferindo 4% adicionais a variância. Outros domínios cognitivos não trouxeram explicação adicional. Já o trabalho de Mancuso et al. (2011) demonstrou que processamento de emoções contribui com uma variação adicional de 8% na UPSA. ToM de segunda ordem não trouxe variação adicional, resultado semelhante ao deste trabalho, em que teste de ToM também não entrou no modelo de regressão múltipla.

Outro achado na literatura que dá suporte ao modelo observado neste trabalho vem de Alden et al. (2015). Estes autores encontraram que pacientes com esquizofrenia com altos níveis de funcionamento na comunidade (a UPSA foi um dos instrumentos utilizados) apresentam melhor memória de trabalho verbal em comparação aos indivíduos com baixos níveis de funcionamento. Esta diferença não pode ser atribuída à capacidade cognitiva geral e memória de trabalho foi o único domínio cognitivo que mostrou diferença entre os grupos de alto e baixo nível de funcionamento.

Resumindo, o presente estudo confirma dados da literatura que pacientes apresentam déficits na cognição social comparados aos controles, que a cognição social é relacionada à neurocognição e ao desempenho funcional, conferindo uma explicação adicional aos testes neuropsicológicos em relação ao prejuízo funcional. Além disto, o Teste das Insinuações correlaciona-se fracamente aos sintomas negativos e ao reconhecimento de expressões faciais. Desta forma, estas evidências sugerem que os instrumentos utilizados são válidos.

5.2. ESTRESSE OXIDATIVO

Este estudo encontrou que pacientes com esquizofrenia estabilizados e em tratamento ambulatorial apresentam concentração sérica mais elevada de TBARS, que é indicador de peroxidação lipídica, e concentração sérica mais baixa do antioxidante GSH, em relação aos controles. Isto sugere que os pacientes apresentam maior dano tecidual devido ao estresse oxidativo e menor capacidade de defesa contra este dano. Estes resultados estão de acordo com a metanálise de Flatow et al. (2013), que também encontrou maior concentração sérica (mas não plasmática) de TBARS em pacientes estabilizados vivendo na comunidade. Esta metanálise também encontrou, nesta subpopulação de pacientes, diminuição de SOD nas hemácias, mas aumento desta substância no soro, e aumento da CAT nas hemácias e de nitrito no plasma. A metanálise não avaliou a GSH sérica. Apesar disto, a interpretação destes resultados deve ser feita com cautela, já que as metodologias incluídas na meta-análise variam muito (e.g. o tipo de amostra - plasma, soro, leucócitos, hemácias - e a técnica para obtenção dos resultados), bem como o perfil de populações específicas de pacientes (primeiro episódio psicótico, virgens de tratamento farmacológico, pacientes estáveis internados, vivendo na comunidade ou com exacerbação dos sintomas psicóticos). Esta metanálise mostra que estes fatores são muito importantes, já que, por exemplo, a CAT está diminuída em pacientes com agudização dos sintomas psicóticos, mas aumentada em pacientes estabilizados. E dependendo do tipo de amostra, mesmo em uma mesma subpopulação, os resultados podem ser opostos, como por exemplo, a SOD, que está diminuída nas hemácias, mas aumentada no soro de pacientes crônicos estabilizados (FLATOW et al., 2013).

O consumo de tabaco também pode aumentar a peroxidação lipídica e induzir mecanismos antioxidantes compensatórios (BALLESTEROS et al., 2013a; DURAK et al., 2002). O tabagismo é um hábito freqüente entre pessoas com esquizofrenia. De Leon e Diaz (2005) encontraram um risco relativo de cerca de seis vezes entre a associação de esquizofrenia e tabagismo. No presente estudo, não houve diferenças entre pacientes e controles tabagistas e não tabagistas quanto aos níveis séricos de TBARS e GSH. Entretanto, a diferença estatística que há entre os níveis séricos de GSH da amostra total de pacientes e controles deixa de existir quando se avalia somente os tabagistas dos dois grupos. Isto poderia ser devido ao aumento de GSH como compensação ao insulto oxidativo originado pelo tabagismo, como descrito por Ballesteros et al. (2013a). Estes autores mostraram que no grupo controle de seu estudo, os níveis de GSH dos tabagistas são maiores, o que não acontece no grupo dos pacientes com esquizofrenia. Os autores sugerem que o aumento de GSH compensatório que

ocorre nos controles não é observado no grupo dos pacientes, talvez devido a um prejuízo desta regulação neste último grupo. Não é isto que ocorre no presente estudo, já que, embora não significativa do ponto de vista estatístico, ocorre um decréscimo nos valores da mediana da concentração de GSH no grupo controle, ao passo que este valor se mantém inalterado nos pacientes. A diferença entre os dois trabalhos pode ser devida ao baixo número de tabagistas na amostra de ambos estudos. Assim, trabalhos com um número maior de tabagistas são necessários para se avaliar se existem subpulações cujos níveis de GSH reagem de formas diferentes ao tabagismo, bem como os efeitos desta reação em outras variáveis. O estudo de Ballesteros et al. (2013a) também encontrou um menor nível de GSH (no sangue total) de pacientes em relação aos controles, e esta diferença não foi devida a fatores de dieta, medicação ou tabagismo.

O presente estudo encontrou uma correlação negativa entre os níveis de GSH e TBARS no soro dos controles. Ou seja, menores concentrações séricas do antioxidante GSH associam-se a maior nível de peroxidação lipídica medida por TBARS. Outros estudos também encontraram esta associação em sedentários após prática de atividade física (STEINBERG et al., 2007), pacientes submetidos a hemodiálise (MONTAZERIFAR et al., 2012) e em pacientes com câncer oral (SRIVASTANA et al., 2012). Já nos pacientes com esquizofrenia, não há uma correlação entre os níveis de GSH e TBARS, o que pode indicar que o insulto oxidativo que leva a peroxidação lipídica neste grupo provém de uma gama variada de alterações em agentes pró e antioxidantes.

Assim como na metanálise de Flatow et al. (2013), este estudo também não encontrou quaisquer associações entre sintomatologia e estresse oxidativo.

No presente estudo, a única correlação significativa entre estresse oxidativo e neurocognição ocorreu entre TBARS e o teste de sequenciamento de dígitos, observada no grupo dos pacientes com esquizofrenia. Ou seja, um nível mais elevado de peroxidação lipídica está associado a pior desempenho no teste de memória de trabalho. Como visto na introdução, existem vários elos teóricos e estudos pré-clínicos que sugerem uma ligação entre prejuízos na neurocognição e estresse oxidativo na esquizofrenia. Entretanto, apenas um pequeno número de estudos avaliou tal associação (GONZALES-LIENCRES et al., 2014; MARTÍNEZ-CENGOTITABENGOA et al., 2012; MARTÍNEZ-CENGOTITABENGOA et al., 2014; ZHANG et al., 2012; ZHANG et al., 2013a; ZHANG et al., 2013b; ASEVEDO et al., 2013). Estes trabalhos encontraram as mais diversas associações entre medidas de estresse oxidativo

e neurocognição, como, por exemplo, estado oxidante total e memória e atenção (MARTÍNEZ-CENGOTITABENGOA et al., 2014; ZHANG et al., 2012), GSH e função executiva (MARTÍNEZ-CENGOTITABENGOA et al., 2012), SOD e escore neurocognitivo total (ZHANG et al., 2013a) e tioredoxina e atenção (ZHANG et al., 2013b). Interessante resultado foi encontrado por Asevedo et al. (2013), que entre vários domínios cognitivos avaliados, encontrou associação apenas entre memória de trabalho e oxidação proteica, resultado semelhante ao presente estudo. Entretanto, embora tanto estes autores quanto o trabalho atual tenham avaliado pacientes com vários anos de evolução da doença, Asevedo et al. (2013) utilizaram amostra de plasma sanguíneo para realização das medidas de estresse oxidativo. Assim, novamente se pede cautela na generalização destes resultados, devido ao pequeno número de participantes dos estudos (em geral, menos de 40 sujeitos pacientes) e à variabilidade de agentes oxidantes/ antioxidantes avaliados, bem como aos vários instrumentos para avaliação neurocognitiva utilizados e populações de diferentes perfis (e.g. pacientes estáveis, primeiro episódio psicótico).

O fato da memória de trabalho ter sido o único domínio neurocognitivo relacionado ao estresse oxidativo no presente estudo nos faz especular sobre um possível mecanismo de dano aos interneurônios GABAérgicos como resultado desta relação. Como já salientado na introdução, os interneurônios GABAérgicos são especialmente sensíveis ao estresse oxidativo. Estes mesmos neurônios também são diretamente responsáveis por alguns mecanismos cerebrais necessários à realização dos testes de memória de trabalho, como a geração de oscilações gama (D'ESPOSITO & POSTLE, 2015; ERIKSSON et al., 2015, CHEN et al., 2014). Achados relevantes em favor desta hipótese são encontrados nos trabalhos de Murray et al. (2015) e Takahashi et al. (2013). O primeiro, ao inativar especificamente os PVIs, observou que os únicos testes cognitivos cujos ratos obtinham pior desempenho eram aqueles que avaliam memória de trabalho. O último, avaliando pacientes com esquizofrenia, demonstrou uma correlação entre a função GABAérgica e o mesmo teste de sequenciamento de dígitos do presente trabalho. Esta associação foi específica ao teste de memória de trabalho, não estando presente nos outros domínios cognitivos avaliados pela BACS.

Memória de trabalho pode ser definida como um sistema para manutenção e manipulação temporária de informação durante o desempenho em uma série de tarefas cognitivas. Assim, a memória de trabalho está na base da execução bem sucedida de comportamentos complexos, independentemente dos aspectos comportamentais que estão sendo avaliados. Desta forma,

quando existe um prejuízo na memória de trabalho, o mesmo acontece com a capacidade de realizar muitas atividades da vida diária (D'ESPOSITO & POSTLE, 2015). Visto dessa perspectiva, não é surpreendente que a memória de trabalho esteja prejudicada na esquizofrenia e que este prejuízo relaciona-se ao desempenho funcional. Corroborando este achado, Alden et al. (2015) encontraram que o desempenho em testes de memória de trabalho foi o único preditor capaz de diferenciar um grupo de pacientes com esquizofrenia de baixo e alto desempenho funcional. O presente estudo também aponta a importância da memória de trabalho para o desempenho funcional, já que este domínio cognitivo foi o principal preditor da variação no escore da UPSA.

O achado deste trabalho que a peroxidação lipídica pode ser fator mais relevante do que idade e sintomas negativos para os prejuízos na memória de trabalho salienta a importância da prevenção ao estresse oxidativo para a melhoria do prognóstico da esquizofrenia.

Segundo é de nosso conhecimento, apesar dos elos teóricos entre os dois temas (ver introdução), apenas um estudo até o momento analisou as relações entre estresse oxidativo e cognição social (GONZALES-LIENCRES et al., 2014). Neste estudo, assim como o nosso, não foram encontradas correlações entre GSH e peroxidação lipídica e cognição social (*Hinting Task* e teste de reconhecimento de expressões faciais) em pacientes com esquizofrenia em tratamento na comunidade.

No nosso estudo, a única correlação (após correção para correlações múltiplas) entre estresse oxidativo e cognição nos controles ocorreu entre TBARS e o Teste das Insinuações (Teoria da Mente). O trabalho de Gonzales-Liencres et al. (2014) não analisou as correlações entre estresse oxidativo e cognição nos controles, de forma que não é possível comparar este resultado. De qualquer forma, este achado fomenta investigações futuras, devido a especificidade da correlação, já que nenhuma variável neurocognitiva correlacionou-se de forma significativa após correção de Bonferroni com estresse oxidativo.

A análise do estresse oxidativo via dosagem sérica de substâncias, entretanto, apresenta uma série de limitações. Por exemplo, medidas periféricas dos níveis de GSH mostraram grandes discrepâncias na literatura devido não só a diferenças entre metodologias de análise, mas também em relação ao tipo de material a ser testado (sangue total *vs* soro *vs* células sanguíneas *vs* plasma), a exposição à medicação (virgens de tratamento *vs* retirada da droga *vs* medicados), estágios da doença (início de psicose *vs* crônica ou ativa *vs* remissão), estilo de vida ou perfil de dieta. É também importante notar que os níveis sanguíneos de GSH são

suscetíveis a oxidação durante a preparação e armazenagem por longa data de amostras, a menos que seja feito um cuidado especial para evitar esta oxidação imediatamente após a coleta de sangue (tais como condições de armazenamento e bloqueio de reagentes tíos), o que é difícil de se garantir em contextos clínicos psiquiátricos (XIN et al., 2016). Outro aspecto que deve ser levado em consideração é que em circunstâncias normais, os níveis intracelulares de glutathiona normalmente excedem os níveis extracelulares por 1000 vezes, o que leva alguns autores a preferirem a quantificação de GSH do sangue total, a fim de minimizar a influência que a hemólise pode ter na concentração plasmática ou sérica (KOGA et al., 2016; XIN et al., 2016). Isto sugere que níveis periféricos de GSH dificilmente refletem níveis cerebrais, sendo que a provável origem da GSH sanguínea é hepática, com o estudo de Xin et al. (2016) não encontrando relações entre o nível sanguíneo e no córtex medial pré-frontal de GSH.

6. CONCLUSÃO

Prejuízos na neurocognição e cognição social são características fundamentais da esquizofrenia. Há poucos testes devidamente validados que avaliam cognição social para a população brasileira que sofre deste transtorno. No presente estudo, os testes de cognição social (Teste das Insinuações e Reconhecimento das Expressões Faciais) apresentaram qualidades psicométricas que conferem validade para seu uso nesta população. Este estudo também confirmou a importância dos prejuízos na neurocognição (especialmente memória de trabalho) e na cognição social para o desempenho funcional na esquizofrenia.

O estresse oxidativo parece desempenhar papel importante na etiopatogenia da esquizofrenia. O presente estudo demonstrou que pacientes com esta condição apresentam maior peroxidação lipídica e menor defesa antioxidante em relação aos controles. A peroxidação lipídica está associada a prejuízos na memória de trabalho, provavelmente devido a maior vulnerabilidade dos interneurônios GABAérgicos (especialmente os PVIs) ao estresse oxidativo. O prejuízo na memória de trabalho devido ao estresse oxidativo é mais relevante que os efeitos da idade e dos sintomas negativos sobre este domínio neurocognitivo. Desta forma, intervenções que visam a corrigir o desequilíbrio redox na esquizofrenia apresentam potencial para melhoria dos prejuízos cognitivos e, de forma indireta, do desempenho funcional deste transtorno.

REFERÊNCIAS

- 1 ALDEN EC, COBIA DJ, REILLY JL, SMITH MJ. Cluster analysis differentiates high and low community functioning in schizophrenia: Subgroups differ on working memory but not other neurocognitive domains. **Schizophr Res.** 2015; 168(1-2):273-8.
- 2 ALMAGUER-MELIAN W, CRUZ-AGUADO R, BERGADO JA. Synaptic plasticity is impaired in rats with a low glutathione content. **Synapse.** 2000; 38(4):369-74.
- 3 AMORIM P. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. **Rev Bras Psiquiatr.** 2000; 22(3):106-15.
- 4 ANG GK, PRIDMORE S. Theory of Mind and Psychiatry: An Introduction. **Australas Psychiatry.** 2009; 17(2):117-22
- 5 AOYAMA K, NAKAKI T. Impaired glutathione synthesis in neurodegeneration. **Int J Mol Sci.** 2013; 14(10):21021-44.
- 6 ARAÚJO GE, RESENDE CB, CARDOSO AC, TEIXEIRA AL, KEEFE RS, SALGADO JV. Validity and reliability of the Brazilian Portuguese version of the BACS (Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia). **Clinics.** 2015; 70(4): 278-82.
- 7 ASEVEDO E, GADELHA A, NOTO C, MANSUR RB, ZUGMAN A, BELANGERO SI, BERBERIAN AA, SCARPATO BS, LECLER E, TEIXEIRA AL, GAMA CS, BRESSAN RA, BRIETZKE E. Impact of peripheral levels of chemokines, BDNF and oxidative markers on cognition in individuals with schizophrenia. **J Psychiatr Res.** 2013; 47(10): 1376-82.
- 8 BALLESTEROS A, JIANG P, SUMMERFELT A, DU X, CHIAPPELLI J, O'DONNELL P, KOCHUNOV P, HONG LE. No evidence of exogenous origin for the abnormal glutathione redox state in schizophrenia. **Schizophr Res.** 2013(a); 146(1-3):184-9.
- 9 BALLESTEROS A, SUMMERFELT A, DU X, JIANG P, CHIAPPELLI J, TAGAMETS M, O'DONNELL P, KOCHUNOV P, HONG LE. Electrophysiological intermediate biomarkers for oxidative stress in schizophrenia. **Clin Neurophysiol.** 2013(b); 124(11):2209–15.
- 10 BARTOS M, VIDA I, JONAS P. Synaptic mechanisms of synchronized gamma oscillations in inhibitory interneuron networks. **Nat Rev Neurosci.** 2007; 8(1):45-56.

- 11 BAUMANN PS, GRIFFA A, FOURNIER M, GOLAY P, FERRARI C, ALAMEDA L, CUENOD M, THIRAN JP, HAGMANN P, DO KQ, CONUS P. Impaired fornix-hippocampus integrity is linked to peripheral glutathione peroxidase in early psychosis. **Transl Psychiatry**. 2016;6(7):e859.
- 12 BEASLEY CL, REYNOLDS GP. Parvalbumin-immunoreactive neurons are reduced in the prefrontal cortex of schizophrenics. **Schizophr Res**. 1997; 24(3):349-55.
- 13 BEN OTHMEN L, MECHRI A, FENDRI C, BOST M, CHAZOT G, GAHA L, KERKENI A. Altered antioxidant defense system in clinically stable patients with schizophrenia and their unaffected siblings. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**. 2008; 32(1):155-9.
- 14 BITANHIRWE BK, WOO TU. Oxidative Stress in Schizophrenia: An Integrated Approach **Neurosci Biobehav Rev**. 2011; 35(3):878-93.
- 15 BOSKOVIC M, VOVK T, SAJE M, GORICAR K, DOLZAN V, KORES PLESNICAR BK, GRABNAR I. Association of SOD2, GPX1, CAT, and TNF Genetic Polymorphisms with Oxidative Stress, Neurochemistry, Psychopathology, and Extrapyrmidal Symptoms in Schizophrenia. **Neurochem Res**. 2013; 38(2):433–442.
- 16 BRESSAN RA, CHAVES AC, SHIRAKAWA I, DE MARI J. Validity study of the Brazilian version of the Calgary Depression Scale for Schizophrenia. **Schizophr Res**. 1998; 32(1):41-9.
- 17 BROWN EC, TAS C, CAN H, ESEN-DANACI A, BRÜNE M. A closer look at the relationship between the subdomains of social functioning, social cognition and symptomatology in clinically stable patients with schizophrenia. **Compr Psychiatry**. 2014; 55(1):25-32.
- 18 CABUNGCAL JH, STEULLET P, KRAFTSIK R, CUENOD M, DO KQ. Early-life insults impair parvalbumin interneurons via oxidative stress: reversal by N-acetylcysteine. **Biol Psychiatry**. 2013(a); 73(6):574–82.
- 19 CABUNGCAL JH, STEULLET P, MORISHITA H, KRAFTSIK R, CUENOD M, HENSCH TK, DO KD. Perineuronal nets protect fast-spiking interneurons against oxidative stress. **Proc Natl Acad Sci USA**. 2013(b); 110(22):9130–5.
- 20 CARMELI C, KNYAZEVA MG, CUENOD M, DO KQ. Glutathione precursor N-acetyl-cysteine modulates EEG synchronization in schizophrenia patients: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **PLoS One**. 2012; 7(2):e29341.
- 21 CHAVES AC, SHIRAKAWA I. Escala das Síndromes Positiva e Negativa – PANSS e seu uso no Brasil. **Rev psiquiatr clín**. 1998; 25(6):337-43.

- 22 CHEN CM, STANFORD AD, MAO X, ABI-DARGHAM A, SHUNGU DC, LISANBY SH, SCHROEDER CE, KEGELES LS. GABA level, gamma oscillation, and working memory performance in schizophrenia. **Neuroimage Clin.** 2014; 4:531-9.
- 23 CHOWDARI KV, BAMNE MN, NIMGAONKAR VL. Genetic Association Studies Of Antioxidant Pathway Genes And Schizophrenia. **Antioxid Redox Signal.** 2011; 15(7):2037-45.
- 24 CITROME L. Unmet needs in the treatment of schizophrenia: new targets to help different symptom domains. **J Clin Psychiatry.** 2014; 75(S1):S21-6.
- 25 COHEN SM, TSIEN RW, GOFF DC, HALASSA MM. The impact of NMDA receptor hypofunction on GABAergic neurons in the pathophysiology of schizophrenia. **Schizophr Res.** 2015; 167(1-3):98-107.
- 26 CORCORAN R, MERCER G, FRITH CD. Schizophrenia, symptomatology and social inference: Investigating "theory of mind" in people with schizophrenia. **Schizophr Res.** 1995; 17(1):5-13.
- 27 COUTURE SM, PENN DL, ROBERTS DL. The Functional Significance of Social Cognition in Schizophrenia: A Review. **Schizophr Bull.** 2006; 32(S1):S44-63.
- 28 CUMMING G. The new statistics: why and how. **Psychol Sci.** 2014; 25(1): 7-29.
- 29 D'ESPOSITO M, POSTLE BR. The cognitive neuroscience of working memory. **Annu Rev Psychol.** 2015; 66: 115-142.
- 30 DE ACHÁVAL D, COSTANZO EY, VILLAREAL M, JÁUREGUI IO, CHIODI A, CASTRO MN, FAHRER RD, LEIGUARDA RC, CHU EM, GUINJOAN SM. Emotion processing and theory of mind in schizophrenia patients and their unaffected first-degree relatives. **Neuropsychologia.** 2010; 48(5):1209-15.
- 31 DE LEON J, DIAZ FJ. A meta-analysis of worldwide studies demonstrates an association between schizophrenia and tobacco smoking behaviors. **Schizophr Res.** 2005; 76(2-3):135-57.
- 32 DO KQ, CABUNGCAL JH, FRANK A, STEULLET P, CUENOD M. Redox dysregulation, neurodevelopment, and schizophrenia. **Curr Opin Neurobiol.** 2009; 19(2):220-30.
- 33 DO KQ, CUENOD M, HENSCH TK. Targeting Oxidative Stress and Aberrant Critical Period Plasticity in the Developmental Trajectory to Schizophrenia. **Schizophr Bull.** 2015; 41(4):835-46.

- 34 DO KQ, TRABESINGER AH, KIRSTEN-KRÜGER M, LAUER CJ, DYDAK U, HELL D, HOLSBOER F, BOESIGER P, CUENOD M. Schizophrenia: glutathione deficit in cerebrospinal fluid and prefrontal cortex in vivo. **Eur J Neurosci**. 2000; 12(10):3721–8.
- 35 DUKAK I, ELGÜN S, KEMAL BINGÖL N, BURAK CIMEN MY, KAÇMAZ M, BÜYÜKKOÇAK S, SERDAR OZTÜRK H. Effects of cigarette smoking with different tar content on erythrocyte oxidant/antioxidant status. **Addict Biol**. 2002; 7(2):255-8.
- 36 EKMAN P, FRIESEN WV, ELLSWORTH P. **Emotion in the human face: guidelines for research and an integration of findings**. New York: Pergamon, 1972.
- 37 ERIKSSON J, VOGEL EK, LANSNER A, BERGSTRÖM F, NYBERG L. Neurocognitive Architecture of Working Memory. **Neuron**. 2015;88(1):33-46.
- 38 FETT AJ, VIECHTBAUER W, DOMINGUEZ M, PENN DL, VAN OS J, Krabbendam L. The relationship between neurocognition and social cognition with functional outcomes in schizophrenia: A meta-analysis. **Neurosci Biobehav Rev**. 2011; 35(3):537-88.
- 39 FIORAVANTI M, BIANCHI V, CINTI ME. Cognitive deficits in schizophrenia: an updated metanalysis of the scientific evidence. **BMC Psychiatry**. 2012; 12:64
- 40 FLATOW J, BUCKLEY P, MILLER BJ. Meta-analysis of oxidative stress in schizophrenia. **Biol Psychiatry**. 2013;74(6):400-9.
- 41 FORDER JP, TYMIANSKI M. Postsynaptic mechanisms of excitotoxicity: Involvement of postsynaptic density proteins, radicals, and oxidant molecules. **Neuroscience**. 2009; 158(1):293-300.
- 42 GAWRYLUK JW, WANG JF, ANDREAZZA AC, SHAO L, YOUNG LT. Decreased levels of glutathione, the major brain antioxidant, in post-mortem prefrontal cortex from patients with psychiatric disorders. **Int J Neuropsychopharmacol**. 2011; 14(1):123–30.
- 43 GIL D, FERNÁNDEZ-MODAMIO M, BENGOCHEA R, ARRIETA M. Adaptation of the Hinting Task theory of the mind test to Spanish. **Rev Psiquiatr Salud Ment**. 2012 ;5(2):79-88.
- 44 GONZALES-LIENCRES C, TAS C, BROWN EC, ERDIN S, ONUR E, CUBUKCOGLU Z, AYDEMIR O, ESEN-DANACI A, BRÜNE M. Oxidative stress

- in schizophrenia: a case-control study on the effects on social cognition and neurocognition. **BMC Psychiatry**. 2014; 14:268.
- 45 GREEN MF, OLIVIER B, CRAWLEY JN, PENN DL, SILVERSTEIN S. Social Cognition in Schizophrenia: Recommendations from the Measurement and Treatment Research to Improve Cognition in Schizophrenia New Approaches Conference. **Schizophr Bull**. 2005; 31(4):882-7.
- 46 GREEN MF, LLERENA K, KERN RS. The "Right Stuff" Revisited: What Have We Learned About the Determinants of Daily Functioning in Schizophrenia? **Schizophr Bull**. 2015; 41(4):781-5.
- 47 GU F, CHAUHAN V, CHAUHAN A. Glutathione redox imbalance in brain disorders. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**. 2015; 18(1):89-95.
- 48 HAENSCHEL C, BITTNER RA, WALTZ J, HAERTLING F, WIBRAL M, SINGER W, LINDEN DE, RODRIGUEZ E. Cortical oscillatory activity is critical for working memory as revealed by deficits in early-onset schizophrenia. **J Neurosci**. 2009; 29(30):9481–9.
- 49 HAGIYA K, SUMIYOSHI T, KANIE A, PU S, KANEKO K, MOGAMI T, OSHIMA S, NIWA S, INAGAKI A, IKEBUCHI E, KIKUCHI A, YAMASAKI S, IWATA K, NAKAGOME K. Facial expression perception correlates with verbal working memory function in schizophrenia. **Psychiatry Clin Neurosci**. 2015; 69(12):773-81
- 50 HARDINGHAM GE, DO KQ. Linking early-life NMDAR hypofunction and oxidative stress in schizophrenia pathogenesis. **Nat Rev Neurosci**. 2016; 17(2):125-34.
- 51 HARGREAVES A, MOTHERSILL O, ANDRESON M, LAWLESS S, CORVIN A, DONOHOE G. Detecting facial emotion recognition deficits in schizophrenia using dynamic stimuli of varying intensities. **Neurosci Lett**. 2016; 633:47–54
- 52 HOMAYOUN H, MOGHADDAM B. NMDA Receptor Hypofunction Produces Opposite Cortex Interneurons and Pyramidal Neurons. **J Neurosci**. 2007; 27(43):11496–500.
- 53 JANSSEN I, KRABBENDAN L, JOLLES J, VAN OS J. Alterations in theory of mind in patients with schizophrenia and non-psychotic relatives. **Acta Psychiatr Scand**. 2003; 108(2):110-7.
- 54 JERIKSSON J, VOGEL EK, LANSNER A, BERGSTRÖM F, NYBERG L. Neurocognitive Architecture of Working Memory. **Neuron**. 2015; 88(1): 33-46.

- 55 JIANG Z, ROMPALA GR, ZHANG S, COWELL RM, NAKAZAWA K. Social isolation exacerbates schizophrenia-like phenotypes via oxidative stress in cortical interneurons. **Biol Psychiatry**. 2013; 73(10):1024–34.
- 56 KOGA M, SERRITELLA AV, MESSMER MM, HAYASHI-TAKAGI A, HESTER LD, SNYDER SH, SAWA A, SEDLAK TW. Glutathione is a physiologic reservoir of neuronal glutamate. **Biochem Biophys Res Commun**. 2011; 409(4):596-602.
- 57 KOGA M, SERRITELLA AV, SAWA A, SEDLAK TW. Implications for reactive oxygen species in schizophrenia pathogenesis. **Schizophr Res**. 2016; 176(1): 52-71.
- 58 KOHLER CG, TURNER TH, BILKER WB, BRENSINGER CM, SIEGEL SJ, KANES SJ, GUR RE, GUR RC. Facial emotion recognition in schizophrenia: intensity effects and error pattern. **Am J Psychiatry**. 2003; 160(10):1768-74.
- 59 KOROTKOVA T, FUCHS EC, PONOMARENKO A, VON ENGELHARDT J, MONYER H. NMDA receptor ablation on parvalbumin-positive interneurons impairs hippocampal synchrony, spatial representations, and working memory. **Neuron**. 2010; 68(3):557-69.
- 60 LAVOIE MA, PLANA I, BÉDARD LACROIX J, GODMAIRE-DUHAIME F, JACKSON PL, ACHIM AM. Social cognition in first-degree relatives of people with schizophrenia: a meta-analysis. **Psychiatry Res**. 2013; 209(2):129-35.
- 61 JANÁKY R, DOHOVICS R, SARANSAARI P, OJA SS. Modulation of [3H]dopamine release by glutathione in mouse striatal slices. **Neurochem Res**. 2007; 32(8):1357-64.
- 62 LAVOIE S, MURRAY MM, DEPPEN P, KNYAZEVA MG, BERK M, BOULAT O, BOVET P, BUSH AI, CONUS P, COPOLOV D, FORNARI E, MEULI R, SOLIDA A, VIANI P, CUENOD M, BUCLIN T, DO KQ. Glutathione precursor, N-acetylcysteine, improves mismatch negativity in schizophrenia patients. **Neuropsychopharmacology**. 2008; 33(9):2187-99.
- 63 LEE SH, SUNG K, LEE KS, MOON E, KIM CG. Mismatch negativity is a stronger indicator of functional outcomes than neurocognition or theory of mind in patients with schizophrenia. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**. 2014; 48:213-9.
- 64 LEPAGE M, BODNAR M, BOWIE CR. Neurocognition: Clinical and Functional Outcomes in Schizophrenia. **Can J Psychiatry**. 2014; 59 (1):5-12.

- 65 LI XF, ZHENG YL, XIU MH, CHEN DC, KOSTEN TR, ZHANG XY. Reduced plasma total antioxidant status in first-episode drug-naïve patients with schizophrenia. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**. 2011; 35(4):1064-7.
- 66 LYSAKER PH, LEONHARDT BL, BRÜNE M, BUCK KD, JAMES A, VOHS J, FRANCIS M, HAMM JA, SALVATORE G, RINGER JM, DIMAGGIO G. Capacities for theory of mind, metacognition, and neurocognitive function are independently related to emotional recognition in schizophrenia. **Psychiatry Res**. 2014; 219(1):79-85.
- 67 MANCUSO F, HORAN WP, KERN RS, GREEN MF. Social cognition in psychosis: multidimensional structure, clinical correlates, and relationship with functional outcome. **Schizophr Res**. 2011; 125(2-3):143-51
- 68 MANTOVANI LM, MACHADO-DE-SOUSA JP, SALAGADO JV. UCSD Performance-Based Skills Assessment (UPSA): validation of a Brazilian version in patients with schizophrenia. **Schizophr Res: Cognition**. 2015;2:20-25.
- 69 MARÍN O. Interneuron dysfunction in psychiatric disorders. **Nat Rev Neurosci**. 2012; 13(2):107–20.
- 70 MARTÍNEZ-CENGOTITABENGOA M, MAC-DOWELL KS, LEZA JC, MICÓ JA, FERNANDEZ M, ECHEVARRÍA E, SANJUAN J, ELORZA J, GONZÁLEZ-PINTO A. Cognitive impairment is related to oxidative stress and chemokine levels in first psychotic episodes. **Schizophr Res**. 2012; 137(1-3):66-72.
- 71 MARTÍNEZ-CENGOTITABENGOA M, MICÓ JA, ARANGO C, CASTRO-FORNIELES J, GRAELL M, PAYÁ B, LEZA JC, ZORRILLA I, PARELLADA M, LÓPEZ MP, BAEZA I, MORENO C, RAPADO-CASTRO M, GONZÁLES-PINTO A. Basal low antioxidant capacity correlates with cognitive deficits in early onset psychosis. A 2-year follow-up study. **Schizophr Res**. 2014; 156(1):23-9
- 72 MEHTA UM, BHAGYAVATHI HD, THIRTHALLI J, KUMAR KJ, GANGADHAR BN. Neurocognitive predictors of social cognition in remitted schizophrenia. **Psychiatry Res**. 2014(a); 219(2):268-74.
- 73 MEHTA UM, THIRTHALLI J, BASAVARAJU R, GANGADHAR BN. Association of intracortical inhibition with social cognition deficits in schizophrenia: Findings from a transcranial magnetic stimulation study. **Schizophr Res**. 2014(b);158(1-3):146-50.
- 74 MONTAG C, NEUHAUS K, LEHMANN A, KRÜGER K, DZIOBEK I, HEEKEREN H, HEINZ A, GALLINAT J. Subtle deficits of cognitive theory of mind

- in unaffected first-degree relatives of schizophrenia patients. **Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.** 2012; 262(3):217-26
- 75 MONTAZERIFAR F, HASHEMI M, KARAJIBANI M, SANADGOL H, DIKSHIT M. Evaluation of lipid peroxidation and erythrocyte glutathione peroxidase and superoxide dismutase in hemodialysis patients. **Saudi J Kidney Dis Transpl.** 2012; 23(2): 274-9.
- 76 MURRAY AJ, WOLOSZYNOWSKA-FRASER MU, ANSEL-BOLLEPALLI L, COLE KLH, FOGGETTI A, CROUCH B, RIEDEL G, WULFF P. Parvalbumin-positive interneurons of the prefrontal cortex support working memory and cognitive flexibility. **Sci Rep.** 2015; 5:16778.
- 77 NAKAGAWA S, CUTHILL IC. Effect size, confidence interval and statistical significance: a practical guide for biologists. **Biol Rev Camb Philos Soc.** 2007;82(4):591-605.
- 78 OHI K, HASHIMOTO R, IKEDA M, YAMAMORI H, YASUDA Y, FUJIMOTO M, UMEDA-YANO S, FUKUNAGA M, FUJINO H, WATANABE Y, IWASE M, KAZUI H, IWATA N, WEINBERGER DR, TAKEDA M. Glutamate Networks Implicate Cognitive Impairments in Schizophrenia: Genome-Wide Association Studies of 52 Cognitive Phenotypes. **Schizophr Bull.** 2015;41(4):909-18.
- 79 OHKAWA H, OHISHI N, YAGI K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal Biochem.** 1979;95(2):351-8.
- 80 OJA SS, JANÁKY R, VARGA V, SARANSAARI P. Modulation of glutamate receptor functions by glutathione. **Neurochem Int.** 2000; 37(2-3):299-306.
- 81 OWEN MJ, SAWA A, MORTENSEN PB. Schizophrenia. **Lancet.** 2016; 388(10039): 86–97.
- 82 PARK HY, YUN JY, SHIN NY, KIM SY, JUNG WH, SHIN YS, CHO KI, YOON YB, LIM KO, KIM SN, KWON JS. Decreased neural response for facial emotion processing in subjects with high genetic load for schizophrenia. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.** 2016; 71:90-6.
- 83 PINKHAM AE, PENN DL, GREEN MF, HARVEY PD. Social Cognition Psychometric Evaluation: Results of the Initial Psychometric Study. **Schizophr Bull.** 2016; 42(2):494-504
- 84 POPOV TG, ROCKSTROH BS, POPOVA P, CAROLUS AM, MILLER GA. Dynamics of alpha oscillations elucidate facial affect recognition in schizophrenia. **Cogn Affect Behav Neurosci.** 2014; 14(1):364-77.

- 85 PREMACK D, WOODRUFF G. Does the chimpanzee have a theory of mind? **Behav Brain Sci.** 1978; 1(4):515–26.
- 86 RAFFA M, ATIG F, MHALLA A, KERKENI A, MECHRI A. Decreased glutathione levels and impaired antioxidant enzyme activities in drug-naive first-episode schizophrenic patients. **BMC Psychiatry.** 2011; 11:124.
- 87 REYNOLDS GP, NEILL JC. Modelling the cognitive and neuropathological features of schizophrenia with phencyclidine. **J Psychopharmacol.** 2016;30(11):1141-4.
- 88 ROBERTS S. Transform your data. **Nutrition.** 2008; 24:492-4.
- 89 ROUX F, WIBRAL M, MOHR HM, SINGER W, UHLHAAS PJ. Gamma-band activity in human prefrontal cortex codes for the number of relevant items maintained in working memory. **J Neurosci.** 2012; 32(36):12411-20.
- 90 ROWLAND LM, EDDEN RA, KONTSON K, ZHU H, BARKER PB, HONG LE. GABA predicts inhibition of frequency-specific oscillations in schizophrenia. **J Neuropsychiatry Clin Neurosci.** 2013; 25(1):83-7.
- 91 ROWLAND LM, KRAUSE BW, WIJTENBURG SA, MCMAHON RP, CHIAPPELLI J, NUGENT KL, NISONGER SJ, KORENIC SA, KOCHUNOV P, HONG LE. Medial frontal GABA is lower in older schizophrenia: a MEGA-PRESS with macromolecule suppression study. **Mol Psychiatry.** 2016; 21(2):198-204.
- 92 SAID CP, James V. HAXBY JV, TODOROV A. Brain systems for assessing the affective value of faces. **Phil Trans R Soc Lond B Biol Sci.** 2011(1571); 366:1660–70.
- 93 SALGADO JV, CARVALHAES CFR, PIRES AM, NEVES MCL, CRUZ BF, CARDOSO CS, LAUAR H, TEIXEIRA AL, KEEFE RSE. Sensitivity and applicability of the Brazilian version of the Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia (BACS). **Dement Neuropsychol.** 2007; 1(3):260-265.
- 94 SAVLA GN, VELLA L, ARMSTRONG CC, PENN DL, TWAMLEY EW. Deficits in Domains of Social Cognition in Schizophrenia: A Meta-Analysis of the Empirical Evidence. **Schizophr Bull.** 2013; 39(5):979-92.
- 95 SEDLAK J, LINDSAY RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Anal Biochem.** 1968; 25(1): 192-205.
- 96 SHEFFIELD JM, BARCH DM. Cognition and resting-state functional connectivity in schizophrenia. **Neurosci Biobehav Rev.** 2016; 61:108-20.

- 97 SOHAL VS, ZHANG F, YIZHAR O, DEISSEROTH K. Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. **Nature**. 2009; 459(7247):698–702.
- 98 SRIVASTAVA KC, AUSTIN RD, SHRIVASTAVA D, SETHUPATHY S, RAJESH S. A Case control study to evaluate oxidative stress in plasma samples of oral malignancy. **Contemp Clin Dent**. 2012; 3(3): 271-6.
- 99 STEINBERG JG, BA A, BRÉGEON F, DELLIAUX S, JAMMES Y. Cytokine and oxidative responses to maximal cycling exercise in sedentary subjects. **Med Sci Sports Exerc**. 2007; 39(6):964-8.
- 100 STEULLET P, CABUNGCAL JH, KULAK A, KRAFTSIK R, CHEN Y, DALTON TP, CUENOD M, DO KQ. Redox dysregulation affects the ventral but not dorsal hippocampus: impairment of parvalbumin neurons, gamma oscillations, and related behaviors. **J Neurosci**. 2010; 17;30(7):2547-58.
- 101 STEULLET P, CABUNGCAL JH, MONIN A, DWIR D, O'DONNELL P, CUENOD M, DO KQ. Redox dysregulation, neuroinflammation, and NMDA receptor hypofunction: A "central hub" in schizophrenia pathophysiology? **Schizophr Res**. 2016; 176(1):41-51.
- 102 STEULLET P, NEIJT HC, CUENOD M, DO KQ. Synaptic plasticity impairment and hypofunction of NMDA receptors induced by glutathione deficit: relevance to schizophrenia. **Neuroscience**. 2006; 137(3):807-19.
- 103 STREINER D. Statistics Commentary Series: Commentary No. 17-Validity. **J Clin Psychopharmacol**. 2016;36(6):542-544.
- 104 SULLIVAN EM, O'DONNELL P. Inhibitory interneurons, oxidative stress, and schizophrenia. **Schizophr Bull**. 2012; 38(3):373–6.
- 105 TAKAHASHI S, UKAI S, KOSE A, HASHIMOTO T, IWATANI J, OKUMURA M, TSUJI T, SHINOSAKI K. Reduction of cortical GABAergic inhibition correlates with working memory impairment in recent onset schizophrenia. **Schizophr Res**. 2013; 146(1-3):238-43.
- 106 TAYLOR SF, TSO IF. GABA abnormalities in schizophrenia: a methodological review of in vivo studies. **Schizophr Res**. 2015; 167(1-3):84-90.
- 107 TORREY EF, BARCI BM, WEBSTER MJ, BARTKO JJ, MEADOR-WOODRUFF JH, KNABLE MB. Neurochemical markers for schizophrenia, bipolar disorder, and major depression in postmortem brains. **Biol Psychiatry**. 2005;57(3):252-60.

- 108 TRACY JL, ROBINS RW. The automaticity of emotion recognition. **Emotion**. 2008; 8(1):81-95.
- 109 TSE MT, PIANTADOSI PT, FLORESCO SB. Prefrontal Cortical Gamma-Aminobutyric Acid Transmission and Cognitive Function: Drawing Links to Schizophrenia from Preclinical Research. **Biol Psychiatry**. 2015; 77(11):929–39.
- 110 VARGA V, JENEI Z, JANÁKY R, SARANSAARI P, OJA SS. Glutathione is an endogenous ligand of rat brain N-methyl-D-aspartate (NMDA) and 2-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate (AMPA) receptors. **Neurochem Res**. 1997; 22(9):1165-71.
- 111 VENTURA J, WOOD RC, HELLEMANN GS. Symptom Domains and Neurocognitive Functioning Can Help Differentiate Social Cognitive Processes in Schizophrenia: A Meta Analysis. **Schizophr Bull**. 201; 39(1):102–11.
- 112 VESTERAGER L, CHRISTENSEN TØ, OLSEN BB, KRARUP G, MELAU M, FORCHHAMMER HB, NORDENTOFT M. Cognitive and clinical predictors of functional capacity in patients with first episode schizophrenia. **Schizophr Res**. 2012; 141(2-3):251-6.
- 113 VOLK DW, LEWIS DA. Early developmental disturbances of cortical inhibitory neurons: contribution to cognitive deficits in schizophrenia. **Schizophr Bull**. 2014; 40(5):952-7.
- 114 VOLK L, CHIU SL, SHARMA K, HUGANIR RL. Glutamate synapses in human cognitive disorders. **Annu Rev Neurosci**. 2015; 38:127-49.
- 115 WILLIAMS LM, WHITFORD TJ, NAGY M, FLYNN G, HARRIS AW, SILVERSTEIN SM, GORDON E. Emotion-elicited gamma synchrony in patients with first-episode schizophrenia: a neural correlate of social cognition outcomes. **J Psychiatry Neurosci**. 2009; 34(4):303-13.
- 116 WU JQ, KOSTEN TR, ZHANG XY. Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**. 2013; 46:200-6.
- 117 WYNN JK, SUGAR C, HORAN WP, KERN R, GREEN MF. Mismatch negativity, social cognition, and functioning in schizophrenia patients. **Biol Psychiatry**. 2010; 67(10):940-7.
- 118 XIN L, MEKLE R, FOURNIER M, BAUMANN PS, FERRARI C, ALAMEDA L, JENNI R, LU H, SCHALLER B, CUENOD M, CONUS P, GRUETTER R, DO KQ. Genetic Polymorphism Associated Prefrontal Glutathione and Its Coupling With Brain

- Glutamate and Peripheral Redox Status in Early Psychosis. **Schizophr Bull.** 2016; 42(5):1185-96.
- 119 YAO JK, LEONARD S, REDDY R. Altered glutathione redox state in schizophrenia. **Dis Markers.** 2006; 22(1-2):83–93.
- 120 ZHANG XY, CHEN DC, XIU MH, TAN YL, YANG FD, ZHANG LY, ZHANG LY, HAILE CN, KOSTEN TR. Clinical symptoms and cognitive impairment associated with male schizophrenia relate to plasma manganese superoxide dismutase activity: a case-control study. **J Psychiatr Res.** 2013(a); 47(8):1049-53.
- 121 ZHANG XY, CHEN DC, XIU MH, TANG W, ZHANG F, LIU L, CHEN Y, LIU J, YAO JK, KOSTEN TA, KOSTEN TR. Plasma total antioxidant status and cognitive impairments in schizophrenia. **Schizophr Res.** 2012; 139(1-3):66-72.
- 122 ZHANG XY, CHEN DC, XIU MH, YANG FD, TAN YL, HE S, KOSTEN TA, KOSTEN TR. Thioredoxin, a novel oxidative stress marker and cognitive performance in chronic and medicated schizophrenia versus healthy controls. **Schizophr Res.** 2013(b); 143(2-3):301-6.

APÊNDICE – TESTE DAS INSINUAÇÕES (*HINTING TASK*)

Teste das insinuações

Instruções:

Eu vou ler dez pequenas histórias com duas personagens em cada uma. No final, uma das personagens irá dizer algo. Quando eu terminar, vou te fazer algumas perguntas sobre o que a personagem quis dizer.

Aqui está a primeira delas, ouça com atenção.

Nome: _____ Sexo: _____ Idade: _____ Cotação rápida: _____

Estória	Resposta 1, palavra por palavra, e cotação	Resposta 2, palavra por palavra, e cotação
1. Viagem demorada e quente		
2. Banheiro molhado		
3. Balas		
4. Camisa amarrotada		
5. Estou dura!		
6. Projeto no trabalho		
7. Presente de aniversário		
8. Decoração		
9. Brincando de carrinho		
10. Malas pesadas		

1. Jorge chega ao escritório de Ângela depois de uma viagem demorada e quente pela estrada. Imediatamente, Ângela começa a falar sobre algumas ideias de trabalho. Jorge a interrompe dizendo:

“Nossa senhora! Foi uma viagem longa e quente pela estrada!”

PERGUNTA: O que Jorge realmente quer dizer?

Resposta: Jorge quer dizer ou “Me dá uma água” e/ou “Você pode me dar um tempo antes da gente começar a falar de trabalho”. Pontue uma destas respostas com 2 pontos.

Se não for dada uma resposta correta na primeira tentativa (por exemplo, o participante diz apenas algo como “ele quer dizer exatamente o que ele disse”) então conte o resto da história:

ACRESCENTE: Jorge continua e diz:

“Minha boca está até seca!”

PERGUNTA: O que Jorge quer que Ângela faça?

Resposta: Jorge quer que Ângela pegue ou ofereça a ele algo para beber. Pontue esta resposta com 1 ponto, qualquer outra resposta vale 0.

2. Melissa vai ao banheiro para tomar um banho. Ana acabou de sair do chuveiro. Melissa nota que o banheiro está todo molhado e grita para Ana:

“Você não viu o rodo, Ana?”

PERGUNTA: O que Melissa realmente quer dizer com isso?

Resposta: Melissa quer dizer “por que você não enxugou o banheiro?” ou “vai lá enxugar o banheiro agora”. Pontue esta resposta com 2 pontos e prossiga para o próximo item.

Se o participante errar, continue:

ACRESCENTE: Melissa continua e diz:

“Você é muito preguiçosa, às vezes, Ana!”

PERGUNTA: O que Melissa quer que Ana faça?

Resposta: Melissa quer que Anne enxugue o banheiro. Pontue esta resposta com 1 ponto, qualquer outra resposta vale 0.

3. Gilmar vai ao supermercado com sua mãe. Na estante de doces, Gilmar diz:

“Mãe! Essas balas parecem uma delícia!”

PERGUNTA: O que Gilmar quer realmente dizer?

Resposta: Gilmar quer dizer “Mãe, por favor, compra bala!”

ACRESCENTE: Gilmar continua e diz:

“estou com fome, mãe!”

PERGUNTA: O que Gilmar quer que sua mãe faça?

Resposta: Comprar balas.

4. Paulo precisa sair para uma entrevista de emprego, mas está atrasado. Enquanto limpa seus sapatos, vira para sua esposa, Jane, e diz:

“Eu quero usar aquela camisa azul, mas está muito amarrotada.”

PERGUNTA: O que Paulo quer dizer com isso?

Resposta: Paulo quer dizer “Passe a camisa para mim, por favor?”

ACRESCENTE: Paulo vira e diz:

“A camisa está no cesto de roupa limpa!”

PERGUNTA: O que Paulo quer que a Jane faça?

Resposta: Passar a camisa.

5. Lúcia está sem nenhum tostão, mas quer sair à noite. Ela sabe que Davi acabou de receber seu salário. Ela vira para ele e diz:

“Tô dura! Está tudo tão caro hoje em dia.”

PERGUNTA: O que Lúcia realmente quer dizer com isso?

Resposta: Lucia quer dizer “Você me empresta uma graninha, Davi?” OU “Me leva pra sair hoje à noite? Mas você paga!”

ACRESCENTE: Lucia vira e diz:

“É, estou achando que eu vou ficar em casa hoje à noite.”

PERGUNTA: O que Lucia quer que Davi faça?

Resposta: Ela quer que David empreste dinheiro ou ofereça-se para levá-la para sair e pagar a conta.

6. Daniel quer fazer um projeto no trabalho, mas Ricardo, seu chefe, pediu a outra pessoa para fazê-lo. Daniel diz:

“Que pena, eu nem estou tão ocupado agora.”

PERGUNTA: O que Daniel realmente quer dizer com isso?

Resposta: Daniel quer dizer “Por favor, mude de ideia Ricardo e me dê o projeto.”

ACRESCENTE: Daniel vira e diz:

“Este projeto é a minha cara.”

PERGUNTA: O que Daniel quer que Ricardo faça?

Resposta: Mudar de ideia e dar o projeto para ele fazer.

7. O aniversário de Renata está chegando. Ela diz para seu pai:

“Adoro animais, principalmente cachorros.”

PERGUNTA: O que Renata realmente quer dizer com isso?

Resposta: “Me dá um cachorro de aniversário, pai?”

ACRESCENTE: Renata vira e diz:

“A loja de animais vai estar aberta no meu aniversário, pai?”

PERGUNTA: O que Renata quer que seu pai faça?

Resposta: dizer que ele vai lhe dar um cachorro de aniversário / comprar o cachorro de aniversário.

8. Bete e Miguel se mudaram para sua nova casa na semana passada. Bete está desempacotando a decoração. Ela vira para Miguel e diz:

“Você desempacotou aquelas estantes que nós compramos, Miguel?”

PERGUNTA: O que Bete realmente quer dizer com isso?

Resposta: Bete quer dizer “Monte as estantes pra mim agora, por favor?”

ACRESCENTE: Bete vira e fala:

“Se você quer algo feito, é melhor você mesmo fazer!”

PERGUNTA: O que Bete quer que Miguel faça?

Resposta: Montar as estantes.

9. Jéssica e Marcos estão brincando de carrinho. Jéssica está com o carrinho azul e Marcos com o vermelho. Jéssica vira para Marcos:

“Não gosto deste carrinho.”

PERGUNTA: O que Jéssica realmente quer dizer com isso?

Resposta: Jéssica quer dizer: “eu quero o seu carrinho e você pode ficar com o meu.”

ACRESCENTE: Jéssica vira e fala:

“Vermelho é minha cor favorita.”

PERGUNTA: O que Jéssica quer que Marcos faça?

Resposta: Trocar os carrinhos.

10. Paula acabou de descer do trem com três malas bem pesadas. João está logo atrás dela. Paula vira para João e diz:

“Nossa, estas malas vão acabar comigo!”

PERGUNTA: O que Paula realmente quis dizer com isso?

Resposta: Paula quer dizer “Me ajuda, por favor?”

ACRESCENTE: Paula vira e diz:

“Não sei se eu aguento as três malas.”

PERGUNTA: O que Paula quer que João faça?

Resposta: Ajudá-la com as malas.