

Área de Psiquiatría de la Universidad de Oviedo

# **Biomarcadores de inflamación y estrés oxidativo diferenciales de la dimensión negativa de la esquizofrenia**

**Autora: Leticia González Blanco**

Tutor: Prof. Paz García-Portilla

Co-Tutor: Prof. José M<sup>a</sup> Pelayo Terán

Memoria de Trabajo Fin de Máster Interuniversitario de  
Iniciación a la Investigación en Salud Mental.

Universidad de Cantabria.



# ÍNDICE

Página:

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	
<b>1.1 Esquizofrenia y su dimensión negativa</b> .....	4
<b>1.2 Etiopatogenia de la esquizofrenia</b> .....	6
1.2.1 Estrés oxidativo como mecanismo patogénico implicado	
1.2.2 Inflamación e inmunidad como mecanismos implicados	
<b>2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	
<b>2.1 Hipótesis</b> .....	17
<b>2.2 Objetivos</b> .....	17
<b>3. MATERIAL Y MÉTODO</b>	
<b>3.1 Diseño del estudio</b> .....	18
<b>3.2 Sujetos del estudio</b> .....	18
3.2.1 Criterios de inclusión CASOS	
3.2.2 Criterios de inclusión CONTROLES	
3.2.3 Criterios de exclusión CASOS y CONTROLES	
<b>3.3 Evaluación</b> .....	19
<b>3.4 Análisis estadístico</b> .....	22
<b>3.5 Aspectos éticos</b> .....	23

<b>4. RESULTADOS</b>	
<b>4.1 Análisis descriptivo</b> .....	24
<b>4.2 Análisis comparativo</b> .....	29
<b>4.3 Análisis correlacional</b> .....	32
<b>5. DISCUSIÓN</b>	
<b>5.1 Biomarcadores de inflamación</b> .....	40
5.1.1 PCR	
5.1.2 TNF-alfa	
5.1.3 IL-6	
<b>5.2 Biomarcadores de estrés oxidativo</b> .....	43
<b>5.3 Limitaciones y fortalezas del estudio</b> .....	45
<b>6. CONCLUSIÓN</b> .....	46
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	48

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Esquizofrenia y su dimensión negativa**

La esquizofrenia es un trastorno mental grave, crónico y de evolución fluctuante, que afecta al menos al 0,7% de la población (Wittchen et al., 2011). Este trastorno se asocia a elevadas tasas de morbilidad y mortalidad prematura y causa un deterioro significativo del funcionamiento psicosocial, siendo una de las mayores causas de discapacidad, especialmente en la población joven. De hecho, en los países occidentales, representa la 7ª causa de discapacidad en personas menores de 60 años (WHO, 2011), causando un gran impacto socioeconómico, principalmente en términos de costes indirectos por pérdida de empleo y necesidad de recursos sociales.

La sintomatología de la esquizofrenia es heterogénea, no existiendo ningún síntoma patognomónico de la misma. Hasta el momento, era habitual agrupar los síntomas de la enfermedad en 5 dimensiones: positiva, negativa, desorganizada, cognitiva y afectiva. Sin embargo, el DSM-5 (APA, 2013) propone una evaluación dimensional de las psicosis, incluida la esquizofrenia, que se compone de 8 dimensiones: alucinaciones, delirios, lenguaje desorganizado, comportamiento psicomotor anormal, síntomas negativos, deterioro cognitivo, depresión y manía (Heckers et al., 2013).

La dimensión negativa de la esquizofrenia ha ido adquiriendo cada vez mayor interés en los últimos años debido al reto diagnóstico y terapéutico que supone, y al gran impacto que provoca, junto con los síntomas cognitivos, sobre el funcionamiento de las personas que la padecen (García-Portilla y Bobes, 2013). El Consenso NIMH-MATRICES sobre Síntomas Negativos publicado en abril de 2006 en *Schizophrenia Bulletin* identifica 5 síntomas y signos de la dimensión negativa de la esquizofrenia: (1) aplanamiento afectivo, caracterizado por una reducción de la intensidad y variedad de la expresión emocional manifestada por una comunicación verbal y no verbal que

incluye entonación, expresión facial, gestos y movimientos corporales; (2) alogia, descrita como una disminución de la cantidad del habla, discurso espontáneo reducido y pérdida de fluidez; (3) asociabilidad, explicada por una disminución del interés y motivación para las interacciones sociales con otros, familia y amigos; (4) anhedonia, definida como una capacidad reducida para experimentar y anticipar el placer; y (5) avoliación, entendida como un déficit en la iniciación y mantenimiento de comportamientos dirigidos hacia un fin en diferentes áreas, relacionado con apatía y anergia (Kirkpatrick et al., 2006). Estos dos últimos síntomas descritos son los que parecen tener más relevancia en el deterioro funcional ocupacional, familiar y social (Gard et al., 2007; Foussias et al., 2010).

Ningún antipsicótico utilizado hasta el momento actual ha demostrado ser eficaz para el tratamiento de los síntomas negativos (Rabinowitz et al., 2013), permaneciendo al menos uno de estos síntomas deficitarios en casi el 60% de los pacientes en tratamiento. Entre los obstáculos para el desarrollo de nuevos fármacos caben destacar, entre otros, la ausencia de una definición clara de qué tipo de pacientes incluir en los estudios (con síntomas negativos prominentes versus predominantes) (Rabinowitz et al., 2013) y la falta de biomarcadores que permitan una evaluación de los resultados más sensible y precisa que la obtenida con escalas clínicas basada en el relato de los pacientes de sus síntomas y en la observación de los clínicos. Los biomarcadores son definidos por la FDA como “una característica que se mide objetivamente y que se evalúa como un indicador de procesos biológicos, patogénicos, o de respuesta farmacológica a una intervención terapéutica”. Además, estos marcadores permitirían una mejor estratificación de los pacientes esquizofrénicos (Breier, 2005).

## **1.2 Etiopatogenia de la esquizofrenia**

La esquizofrenia posee una etiopatogenia compleja y multifactorial en la que están involucrados diversos factores de riesgo genéticos, epigenéticos y ambientales, que interactúan entre sí. La teoría del neurodesarrollo, la hipótesis más sólida hasta el momento actual, postula que el trastorno sería el resultado de una alteración producida durante el periodo del desarrollo (Weinberger, 1987) y cuyo origen sería genético, ambiental o por una combinación de ambos. Dicha lesión temprana interactuaría con el proceso de maduración normal del cerebro, en etapas prenatal y perinatal, sobre todo en áreas corticales relacionadas con la respuesta a estrés en el adulto, lo cual daría lugar a la aparición de los síntomas tras un periodo silente en la adolescencia tardía y en los adultos jóvenes (Lewis y Levitt, 2002).

Numerosos estudios han tratado de explicar su etiopatogenia desde diferentes puntos vista neurobiológicos: buscando factores genéticos, mediante la detección de anomalías anatomofuncionales en neuroimagen o mediante hipótesis neuroquímicas, desde la clásica teoría dopaminérgica hasta las más recientes teorías glutamatérgicas. No obstante, los mecanismos etiopatogénicos exactos de la esquizofrenia permanecen desconocidos.

En la última década, ha surgido un nuevo concepto de la esquizofrenia. Kirkpatrick (2009) propone evitar considerarla como una enfermedad exclusivamente cerebral y reconceptualizarla como un trastorno del desarrollo que cursa con anomalías en muchas funciones cerebrales, entre ellas la psicosis, pero que además afecta a otras partes del cuerpo. Este modelo más amplio incluiría un aumento del riesgo metabólico y de la diabetes mellitus como parte de la enfermedad, síndromes neuropsiquiátricos que aparecen en la esquizofrenia además de la psicosis, como los déficits cognitivos o las alteraciones motoras que no se atribuyen al tratamiento antipsicótico; y permitiría

entender este trastorno como una enfermedad sistémica. Este nuevo concepto enlaza con el desarrollo de la psiconeuroinmunología, disciplina que estudia las interacciones del cerebro y el sistema inmune, y sus consecuencias clínicas. Desde hace varias décadas se viene postulando la implicación de alteraciones inflamatorias en la patogénesis de la esquizofrenia (Müller y Schwarz, 2010; Miller et al., 2011) y, paralelamente, la implicación del estrés oxidativo como mecanismo subyacente de la enfermedad.

### **1.2.1 Estrés oxidativo como mecanismo patogénico implicado**

El estrés oxidativo se produce cuando los mecanismos celulares de defensa antioxidantes son insuficientes para inactivar las especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN) que se generan de forma fisiológica en el metabolismo oxidativo celular o de la exposición ambiental a factores prooxidantes (Berg, 2004). Aunque las ERO poseen funciones beneficiosas en la transducción de señales o en la protección frente a patógenos al poseer un importante papel como modulador de la inflamación, también pueden tener un efecto negativo al provocar un daño oxidativo molecular en lípidos, proteínas y en el ADN cuando sobrepasan la capacidad de los mecanismos antioxidantes (Kohen and Nyska, 2002). Esta situación puede llevar a la disfunción celular o muerte celular y, finalmente, provocar la alteración de funciones sistémicas en el organismo (Figura 1). La peroxidación lipídica es un buen ejemplo del efecto de estas ERO que resulta del daño sobre la membrana de las células así como de organelas intracelulares (Rathore et al., 1998). Además, las ERO pueden contribuir a la mutagénesis del ADN al provocar alteraciones en su estructura produciendo cambios epigenéticos (Konat, 2003), así como inactivar proteínas y enzimas críticos para la viabilidad celular, induciendo la muerte celular a través de la activación de cascadas de quinasas y caspasas (Evans et al., 2004).

Figura 1: Inflamación y estrés oxidativo en esquizofrenia

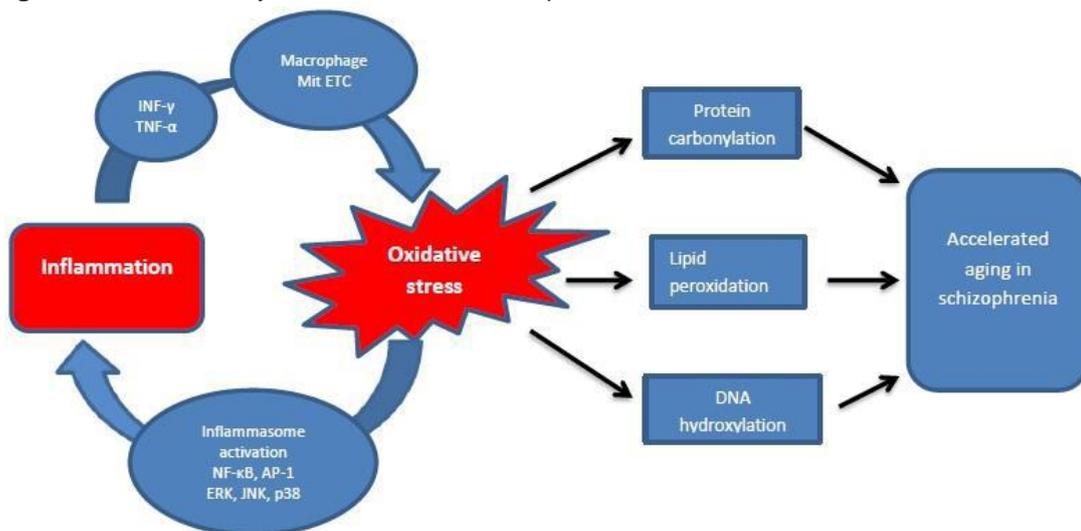


Figura de Okusaga, 2014.

Particularmente, el cerebro es muy vulnerable al daño oxidativo (Rougemont et al., 2002) debido al bajo contenido de defensas antioxidantes y su alto contenido en metales que pueden catalizar la formación de ERO, y también debido a su alta demanda energética a través del metabolismo oxidativo de la glucosa junto con la presencia de una alta concentración de ácidos grasos poliinsaturados (Dringen, 2000). Los mecanismos antioxidantes que protegen frente al estrés oxidativo consisten en la eliminación o la inhibición de la formación de las ERO mediante enzimas antioxidantes intracelulares, como por ejemplo, la glutatión peroxidasa, glutatión reductasa, glutatión catalasa o superóxido dismutasa, entre otros (Dringen, 2005). Por otro lado, el Óxido Nítrico (ON), molécula mensajera implicada en múltiples procesos fisiológicos y patológicos, puede actuar como antioxidante, protegiendo frente al daño oxidativo mediante reacciones en membranas, o como prooxidante, estimulando la oxidación lipídica (Radi et al., 1991).

El daño oxidativo es un mecanismo que se ha encontrado en diversas patologías como el cáncer, estados inflamatorios y enfermedades neurodegenerativas (Kapczinski et al., 2011), y recientemente, se ha identificado como un posible elemento implicado en la neuropatología de la esquizofrenia (Riegel et al., 2010; Pedrini et al., 2012). No obstante, los resultados de los diversos estudios realizados hasta la fecha

no han podido esclarecer los mecanismos exactos de su implicación. Mientras unos estudios encuentran niveles reducidos de enzimas antioxidantes, otros no encuentran variaciones y otros los encuentran aumentados (Bitanhirwe y Woo, 2011). El meta-análisis de Zhang et al (2010) describió la existencia de niveles elevados de productos de peroxidación lipídica y ON, una disminución de la actividad de la dismutasa superóxido, y no detectó cambios en las actividades de la peroxidasa glutatión y catalasa glutatión. También se han estudiado y descrito variaciones en marcadores de estrés oxidativo en primeros episodios psicóticos. En esta línea, García-Bueno et al (2014) han encontrado niveles elevados de marcadores óxido/nitrosativos en estos pacientes respecto a controles sanos apareados por edad y sexo, identificando a la homocisteína plasmática como factor de riesgo potencial más fiable, junto con la ciclooxigenasa y la óxido nítrico sintetasa.

Elevados niveles de estrés oxidativo han sido descritos en múltiples condiciones, no exclusivamente en enfermedades psiquiátricas o neurodegenerativas. Así, De Gonzalo-Calvo et al (2012), describieron el daño oxidativo mediante distintos parámetros en población geriátrica, y descubrieron una asociación de estos parámetros con una mayor dependencia funcional en los pacientes ancianos. Estudios previos ya habían detectado elevados niveles de estrés oxidativo en pacientes geriátricos con condiciones debilitantes como la anorexia, caquexia, anemia o depresión.

### **1.2.2 Inflamación e inmunidad como mecanismos implicados**

Estrechamente relacionados con los mecanismos de estrés oxidativo, los procesos inflamatorios inmunológicos también se han postulado como mecanismos cruciales relacionados con la patogenia de diversos trastornos psiquiátricos (Dean, 2011), entre ellos la esquizofrenia.

Las citocinas son proteínas solubles reguladoras de la inflamación, que coordinan tanto el sistema inmune innato como adaptativo, y que comunican el sistema nervioso central con el sistema inmune, con la consecuente implicación en la clínica psiquiátrica (Kapczinsky et al., 2011). Aunque en la literatura se sugiere que estas citoquinas podrían tener escaso impacto en el cerebro debido a la presencia de la barrera hematoencefálica (BHE) confiriéndole un estado “inmunoprivilegiado” a este órgano, existen una gran variedad de mecanismos de señalización inmunológica que atraviesan la BHE, así como evidencias de que ciertas enfermedades la hacen más porosa (Banks y Erickson, 2010)

Existen citoquinas proinflamatorias (IL-1, IL-2, IL-8, IL-6, TNF-alfa) y citoquinas con acciones antiinflamatorias (IL-10, y en determinadas circunstancias, IL-6), que juegan un papel en la citotoxicidad celular, y a su vez, ejercen una influencia en las vías dopaminérgicas y glutamatérgicas así como en los procesos cognitivos implicados en la patofisiología de la esquizofrenia (Girgis et al, 2014). Las citoquinas también pueden desencadenar otros procesos biológicos, como la activación del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (Turnbull et al., 1999), y además, se asocian a un incremento del estrés oxidativo (Chen et al., 1998) (Figura 1).

Las primeras citoquinas de la cascada inflamatoria, el TNF-alfa y la IL-1beta (inmunidad innata), se producen a nivel local y se consideran proinflamatorias. Estas dos citoquinas son responsables de estimular la producción de IL-6 (inmunidad adaptativa) por parte de monocitos activados y linfocitos Th2, citocina que posee propiedades tanto proinflamatorias como antiinflamatorias. La IL-6 inhibe la producción de TNF-alfa e IL-1beta y estimula la producción de Receptores solubles de TNF-alfa (sTNF-R) (Schindler et al., 1990). Además, parece que es una de las principales inductoras de proteínas de fase aguda hepáticas, muchas de las cuales tienen propiedades antiinflamatorias (Tilg et al., 1997) como, por ejemplo, la proteína C

reactiva (PCR); pero también promueve la diferenciación de linfocitos B en células plasmáticas productoras de anticuerpos.

La inflamación sistémica de bajo grado consiste en el aumento (doble o triple sobre los parámetros normales) de la concentración de citoquinas y proteínas de fase aguda plasmáticas, y está presente en numerosos procesos crónicos relacionados con la edad, como la aterosclerosis, el síndrome metabólico, la diabetes tipo 2, la enfermedad de Alzheimer y la demencia vascular; siendo un nivel de TNF-alfa elevado un marcador de edad avanzada y mortalidad en estos pacientes (De Gonzalo-Calvo, 2010).

El papel de la inflamación en la esquizofrenia ha recibido una gran atención en las últimas décadas y se han formulado numerosas hipótesis sobre el papel de los mecanismos inflamatorios mediados por citoquinas en la patogénesis de la enfermedad (Kirkpatrick and Miller 2013; Miller et al., 2011, 2013), sin embargo, los avances científicos no han permitido el desarrollo de la psicoimmunología hasta hace unos años. Se han descrito varias hipótesis en esta línea. La hipótesis del macrófago-linfocitoT postula que una activación crónica de macrófagos produce citoquinas, como IL-1, IL-2, TNF-alfa, IFN-alfa, e IFN-gamma (Smith, 1995). La hipótesis del linfocito Thelper postula una disminución de la inmunidad citotóxica celular hacia un predominio de la reactividad inmune humoral (Schwarz et al., 2001). La hipótesis de la microglía argumenta que las citoquinas proinflamatorias y los radicales libres son los responsables de activar la microglía en el sistema nervioso central provocando una alteración en la neurogénesis, una degradación neuronal y anormalidades en la sustancia blanca interviniendo en la patogénesis de la esquizofrenia (Busse et al., 2012). Además, se ha descrito una posible relación entre los cambios neuroinflamatorios y los receptores de dopamina y glutamato, y se han realizado diversos ensayos con terapias biológicas con el objetivo de reducir la inflamación (Sommer et al., 2014; Keller et al., 2013).

Aunque la investigación al respecto es todavía limitada, se han obtenido resultados en distintas áreas que avalan la implicación del sistema inmune. Así, estudios en animales han demostrado que más que un virus u otro agente infeccioso determinado, es la respuesta inmune materna la que confiere el riesgo para la esquizofrenia (Winter et al., 2009). En humanos se ha demostrado que el incremento de los niveles maternos de IL-8 en el segundo trimestre, independientemente de cuál hubiese sido la causa de ese incremento, se asocia con un riesgo aumentado de esquizofrenia en la descendencia (Brown et al., 2004; 2010). Además, se ha observado que la exposición fetal a IL-8 materna se asocia a alteraciones neuroanatómicas estructurales en el cerebro, frecuentemente halladas en los pacientes con esquizofrenia (Ellman et al., 2010). Aunque el mecanismo exacto se desconoce, se ha hipotetizado que las infecciones durante la etapa del neurodesarrollo pueden causar un desequilibrio de citoquinas en el SNC del feto y provocar la alteración de la BHE impidiendo el correcto desarrollo del tejido cerebral, y predisponer a la enfermedad (Müller y Ackenheil, 1998), así como alterar la expresión de HLA-G encargada de mantener la homeostasis inmunológica y de proteger al feto durante el embarazo frente a las infecciones maternas (Debnath y Chaudhuri, 2006). Hayes et al. (2014) encuentra en sujetos con esquizofrenia y Estados Mentales de Alto Riesgo (EMAR) niveles reducidos de IL-6R y TGFalfa que correlacionan positivamente con anticuerpos de *Toxoplasma gondii* en LCR lo que sugiere su posible implicación en la patogénesis de la enfermedad. Desde el punto de vista genético, algunos genes que confieren susceptibilidad para la esquizofrenia se encuentran en regiones que incluyen genes relacionados con la función inmune (Kawasaki y Iwamuro, 2008), y algunos estudios han encontrado asociación entre la región promotora del TNF-alfa y la esquizofrenia (Zhong et al., 2011). Finalmente, el sistema glutamatérgico implicado en la disfunción dopaminérgica característica de la esquizofrenia, está íntimamente relacionado con el sistema inmune (Müller y Schwarz, 2007). Estudios recientes han encontrado que aproximadamente el 5-10% de los casos de esquizofrenia están asociados a la presencia en suero y líquido

cefaloraquídeo de anticuerpos dirigidos contra el Receptor de NMDA (Steiner et al., 2013)

Existe considerable volumen de literatura sobre determinaciones de citoquinas en distintos momentos evolutivos de la enfermedad (primeros episodios, recaídas agudas, esquizofrenia resistente) y con distintos tratamiento farmacológicos (naive, tratamiento tras reagudización, clozapina, risperidona, antipsicóticos típicos). Si bien los resultados son inconsistentes, apoyan la hipótesis de la activación del sistema inmune en la esquizofrenia de tal manera que la respuesta inmune mediada por células T presentaría un desequilibrio entre la respuesta tipo 1 y tipo 2, con un cambio hacia la respuesta Th2 (Borovcanin et al., 2013; Müller y Schwarz, 2010; Potvin et al., 2008). Se han descrito niveles alterados de varias citoquinas y sus receptores solubles como IL-6, sIL-6R, IL-8, IL-10, IL-4, TNF-alfa (Dunjic-Kostic et al., 2013) en distintos estadios evolutivos de la esquizofrenia. Un meta-análisis sobre las alteraciones de las citoquinas en la esquizofrenia (Miller et al., 2011) describió un aumento de IL-1beta, IL-6, y TGF-beta en las recaídas agudas de la esquizofrenia y en los primeros episodios, y su normalización tras el tratamiento antipsicótico por que los autores sugieren su papel como marcadores de estado. Por el contrario, la IL-12, IFN-gamma, TNF-alfa, y el sIL-2R se encuentran elevadas tanto en exacerbaciones agudas como tras el tratamiento antipsicótico por lo que sugieren su papel como marcadores de rasgo. Otros autores también han descrito niveles aumentados de IL-12 tanto antes como después del tratamiento antipsicótico en pacientes con primeros episodios psicóticos (Crespo-Facorro et al, 2008). Borovcanin et al. (2012) reportaron disminución de los niveles de IL-17, aumento de los niveles de IL-4 y de TGF-beta en los pacientes con primer episodio y con recaídas. En esta misma línea, en un estudio reciente (Stojanovic et al., 2014) los autores han detectado niveles elevados de IL-6 no sólo en pacientes psicóticos sino en aquellos con estados mentales de alto riesgo de transición a psicosis, encontrándose además, niveles aun más elevados en aquellos

que finalmente desarrollaban una psicosis. Aunque son escasos los estudios realizados en paciente en remisión, los resultados apuntan también hacia alteraciones del sistema inflamatorio con un incremento de los niveles séricos de IL-6 y un descenso de los TNF-alfa (Dunjic-Kostic et al., 2013).

Estudios más ambiciosos han intentado hallar alteraciones de citoquinas y sus receptores solubles específicos de distintos parámetros clínicos de la esquizofrenia. No obstante, existen menos evidencias de que la gravedad de la esquizofrenia se correlacione con los niveles de citoquinas proinflamatorias. En esta línea, se ha demostrado una correlación inversa entre los niveles séricos de IL-2 y la puntuación en la subescala positiva de la PANSS (Zhang et al., 2002). Respecto a la IL-6 se ha hallado correlación positiva con sintomatología negativa (Dunjic-Kostic et al., 2013; Stojanovic et al., 2014), la duración de la enfermedad (Kim et al., 2000), resistencia al tratamiento y curso desfavorable de la enfermedad (Dunjic-Kostic et al., 2013; Müller et al., 2000). No obstante, Dimitrov et al. (2013) encuentran una correlación entre IL-1beta, IL-6, IL-9, TNF-beta con la PANSS total y subescala positiva pero no con la negativa. En este sentido, también se han estudiado citocinas antiinflamatorias como la IL-10 en primeros episodios naive encontrándose una correlación negativa entre ésta y la subescala PANSS negativa así como en los parámetros que evalúan cognición en la PANSS (Xiu et al., 2014). Noto et al. (2011) han descrito correlaciones positivas entre el nivel de IL-1beta en la puntuación total en la PANSS, así como entre el nivel sérico de BDNF y la puntuación en la escala de Calgary de Depresión en los pacientes con esquizofrenia. Sin embargo, Hope et al. (2011) no encontraron correlación alguna entre las citoquinas estudiadas y los síntomas afectivos en pacientes con esquizofrenia pero sí en pacientes con trastorno bipolar. También se ha estudiado la implicación de la PCR, marcador inflamatorio inespecífico, en la patogénesis de la esquizofrenia (Singh y Chaudhuri, 2014), encontrándose una correlación positiva entre sus niveles y una mayor gravedad psicopatológica reflejada

en una mayor puntuación de la PANSS (Fan et al., 2007; Fawzi et al., 2011). Algunos estudios han detectado una asociación entre niveles elevados de PCR, junto con la exposición al VHS-1, y el déficit cognitivo en la esquizofrenia (Dickerson et al., 2012). Además, parece existir una correlación de niveles elevados de PCR con un aumento del riesgo de síndrome metabólico en pacientes con esquizofrenia (Vuksan-Cusa et al., 2010), lo que nos lleva a tener muy cuenta la implicación de estos parámetros como posibles factores de confusión.

Con respecto al efecto de los fármacos antipsicóticos sobre la inflamación, estudios in-vitro demostraron una normalización de la producción de IL-2 e IFN-gamma tras el tratamiento con antipsicóticos (Wilke et al., 1996; Müller et al., 1997) y un descenso funcional del sistema IL-6 (Müller et al., 2000). Algunos antipsicóticos han recibido más atención desde el punto de vista de su posible actividad inmunomoduladora, si bien los resultados son inconsistentes. En este sentido la clozapina se ha asociado a un descenso de los niveles séricos de IL-2 e IL-4 (Lü et al., 2004), con resultados inconsistentes respecto a los niveles de IL-6, así como con un aumento de los niveles de TNF-alfa (Pollmächer et al., 1996). Por su parte la risperidona se ha asociado en algunos estudios a descensos de los niveles de IL-2, IL-6 e IFN-gamma mientras que otros estudios no han encontrado variaciones, así como un aumento de IL-10, IL-12 y sIL-2R (Drzyzga et al., 2006). La olanzapina no ha demostrado cambios en los niveles de IL-6, sIL-2R ni TNF-alfa (Schuld et al., 2000).

Las alteraciones de los niveles séricos de las citoquinas han sido estudiadas también en otras patologías y condiciones. Así, nos interesa destacar el estudio De Gonzalo-Calvo et al. (2012) que encuentran correlación positiva entre los niveles séricos de IL-6 y sTNF-R1 y dependencia funcional en ancianos. Tan sólo existe un estudio reciente que relaciona el nivel de funcionalidad de los pacientes con esquizofrenia y biomarcadores de inflamación, encontrando una correlación negativa entre los niveles de sTNF-R1 e IL-1Ra y el nivel de funcionamiento (Hope et al., 2013).

Sin embargo, la escala de evaluación utilizada para medir el nivel de funcionamiento (GAF) minimiza considerablemente el valor de estos resultados.

Los hallazgos descritos hasta la fecha proporcionan evidencias de la existencia de una activación inmune crónica y un síndrome inflamatorio en la esquizofrenia, no obstante, muchos de los datos aportados son inconsistentes e incluso controvertidos. Por un lado, sabemos que los biomarcadores de inflamación de bajo-grado no son específicos de ninguna patología concreta, y su gran ubicuidad hacen que puedan ser comunes con comorbilidades frecuentes en los pacientes con esquizofrenia. Así, diversos factores pueden tener también un papel en las alteraciones de las citoquinas en estos pacientes. Entre los factores confusores se han señalado la edad, el sexo, el tabaquismo, el índice de masa corporal (IMC), y la presencia de infecciones (Himmerich et al., 2009), factores que no han sido controlados en todos los estudios. En segundo lugar, un posible factor determinante de toda esta confusión, que no ha sido considerado en la literatura consultada y que consideramos crucial, es la utilización de escalas de evaluación psicométricas que no reflejan con precisión el verdadero estado clínico y funcional de los pacientes. Por ejemplo, el caso de la funcionalidad en la esquizofrenia evaluada mediante la GAF o la evaluación de la sintomatología negativa mediante la PANSS.

Por todo lo anterior, se plantea el presente estudio con el objetivo de identificar y validar biomarcadores precisos y sensibles de las distintas dimensiones de la esquizofrenia, y especialmente de los síntomas negativos, con una metodología apropiada y específicamente diseñada para ello.

## **2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **2.1 Hipótesis**

1. Existe un perfil específico de biomarcadores de inflamación y estrés oxidativo diferencial de la sintomatología negativa de la esquizofrenia
2. Igualmente otras dimensiones de la esquizofrenia tendrían un perfil diferencial de biomarcadores de inflamación y estrés oxidativo
3. El nivel de funcionamiento en los pacientes con esquizofrenia se asocia a un perfil específico de biomarcadores inflamatorios y de estrés oxidativo.

### **2.2 Objetivos**

#### **Principal**

1. Identificar potenciales biomarcadores de inflamación y estrés oxidativo diferenciales de la dimensión negativa en los pacientes con esquizofrenia.

#### **Secundarios**

1. Determinar potenciales biomarcadores diferenciales de las demás dimensiones psicopatológicas de la esquizofrenia
2. Determinar potenciales biomarcadores diferenciales de funcionamiento en los pacientes con esquizofrenia.

### **3. MATERIAL Y MÉTODO**

#### **3.1 Diseño del estudio**

Estudio naturalístico, multicéntrico, transversal, caso-control de pacientes con esquizofrenia de menos de 11 años de evolución, en tratamiento ambulatorio y sus controles apareados.

#### **3.2 Sujetos del estudio**

La muestra se compone de 30 sujetos. Se han incluido en el estudio 15 pacientes con diagnóstico de esquizofrenia que se encuentran en tratamiento ambulatorio en los centros participantes (CSM I y II del Área Sanitaria de Oviedo) y sus 15 controles sanos apareados por edad (+/-10%) y sexo.

##### **3.2.1 Criterios de inclusión CASOS**

1. Diagnóstico de esquizofrenia (criterios DSM-IV-TR), confirmado mediante la entrevista clínica SCID-I, en tratamiento ambulatorio de mantenimiento con, a juicio del clínico, estabilidad clínica en al menos los 3 meses previos (sin hospitalizaciones, reagudizaciones sintomatológicas significativas o cambios en el tipo/dosis de tratamiento antipsicótico).
2. Tiempo de evolución de la enfermedad inferior a 11 años.
3. Edad entre 18 y 45 años.
4. Consentimiento informado firmado.

##### **3.2.2 Criterios de inclusión CONTROLES SANOS**

1. Apareamiento por edad y sexo
2. Pertenecer a la misma zona geográfica

3. No historia actual o pasada de enfermedad mental (criterios DSM-IV-TR)
4. Consentimiento informado firmado.

### **3.2.3 Criterios de exclusión CASOS Y CONTROLES SANOS**

1. Comorbilidad somática aguda: infección aguda, fiebre, alergias
2. Comorbilidad somática crónica: cáncer, enfermedades autoinmunes, enfermedades infecciosas crónicas
3. Tratamiento con fármacos inmunosupresores o vacunas en los 6 meses previos a la inclusión en el estudio, o tratamiento con antiinflamatorios en los 2 días previos a la extracción de sangre.

### **3.3 Evaluación**

Las evaluaciones se realizarán en la visita basal de inclusión en el estudio.

#### **Variables e instrumentos de evaluación**

1. Protocolo ad hoc de características demográficas y clínicas (pacientes y controles si aplicable). Se recogen, entre otros datos, información sobre edad de inicio de la enfermedad, número de ingresos, intentos de suicidio, comorbilidad somática, antecedentes familiares psiquiátricos y consumo de tóxicos legales e ilegales.
2. Evaluación psicométrica (pacientes): se utilizarán las siguientes versiones en español de los siguientes instrumentos de evaluación:

- Psicopatología:

- Escala del Síndrome Positivo y Negativo de la Esquizofrenia (PANSS).  
Es una escala validada que evalúa el síndrome positivo y negativo de la esquizofrenia, y la psicopatología general desde un punto de vista

dimensional (gravedad del cuadro) y categorial (esquizofrenia positiva, negativa o mixta). Es una escala heteroaplicada mediante una entrevista semiestructurada que consta de 30 ítems (Peralta y Cuesta, 1994).

- Escala de Síntomas Negativos Breve (BNSS). Es una escala, recientemente validada en su versión española (Mané et al., 2014), que consta de 13 ítems organizada en 6 subescalas incluyendo los 5 dominios negativos descritos en el Consenso NIMH-MATRICES sobre Síntomas Negativos, anhedonia, abulia, evitación de la interacción social, alogia, embotamiento afectivo, junto con el ítem de malestar. Todos los ítems se puntúan sobre una escala de 0 a 6, con puntuaciones totales que pueden varían entre 0 y 78. Es un instrumento heteroaplicado.
- Escala de Depresión de Calgary (CDS). Es una escala validada para medir el nivel de depresión en los pacientes esquizofrénicos, tanto en la fase aguda como en los estados deficitarios. Consta de 9 ítems y es una escala heteroaplicada mediante una entrevista estructurada (Sarró et al., 2004).
- Escala de Impresión Clínica Global para Esquizofrenia, en su versión de Gravedad (CGI-SCH-SI). Es un instrumento breve que consta de 5 ítems que evalúan la gravedad de las 5 dimensiones sintomatológicas: síntomas positivos, síntomas negativos, síntomas depresivos, síntomas cognitivos, y global (Haro et al., 2003).

- Funcionalidad:

- Escala del Funcionamiento Personal y Social (PSP). Es una escala heteroaplicada que evalúa el nivel de funcionamiento personal y social, en las siguientes áreas: autocuidado, actividades sociales habituales

incluyendo trabajo y estudio, relaciones personales y sociales, y comportamientos perturbadores y agresivos. Su resultado se expresa en un valor porcentual que va de 1 a 100 (Apiquian et al., 2009).

3. Evaluación biológica (pacientes y controles):

- Parámetros antropométricos y constantes vitales: IMC, perímetro abdominal, Frecuencia cardiaca, Tensión Arterial sistólica y diastólica.
- Hemograma: hematíes, hemoglobina, leucocitos, plaquetas.
- Bioquímica: perfil lipídico (Colesterol total, LDL y HDL, triglicéridos), perfil glucémico (glucemia, insulina, glicohemoglobina AC1), prolactina, Proteína C reactiva (PCR), homocisteína.
- Biomarcadores de inflamación: Interleucina 6 (IL-6) y Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF-alfa) en suero.

Estos biomarcadores se evaluaron por duplicado mediante kits comerciales de enzimoimmunoensayo (ELISA) a partir de las muestras de suero congeladas. La media de las dos medidas fue utilizada en el análisis. Los niveles sanguíneos de IL-6 (Gen-Probe Diaclone SAS, Besancon Cedex, Francia) y el Factor de necrosis tumoral (TNF-alfa) (Invitrogen Corp, CA, EEUU) se evaluaron en muestras de suero, y se expresaron en pg/ml.

- Biomarcadores de estrés oxidativo: productos plasmáticos de la Lipoperoxidación (LPO) y fragilidad eritrocitaria mediante el Test de Hemólisis (TH).

Los marcadores oxidativos se midieron en función de la cantidad de proteínas de la muestra por lo que inicialmente se realizó la determinación de la concentración total de proteínas plasmáticas mediante el método de Bradford (Bradford, 1976).

Para determinar el daño oxidativo de lípidos plasmáticos se estudió la concentración de malondialdehído (MDA) y 4-hidroxinonenal (4-HNE), productos finales derivados de la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados y ésteres relacionados. La medición

de dichos aldehídos en ambos extractos (eritrocitos y plasma) se realizó con un kit comercial de lipoperoxidación (Calbiochem, EMD Biosciences Inc, San Diego, CA, USA). Los resultados se expresaron en micromol (MDA+4-HNE)/g proteína plasmática. Para estudiar el daño oxidativo sobre los eritrocitos se utilizó el test de hemólisis eritrocitario (TH) siguiendo el protocolo desarrollado por Farrel y colaboradores (Farrel y cols., 1977). Este test mide la resistencia de la membrana eritrocitaria a la hemólisis utilizando peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). En este procedimiento, 300 microL de alícuotas de eritrocitos lavados fueron pipeteados en tres tubos de plástico para realizar el TH. Después, al primer tubo se añadió 300 microL de  $H_2O_2$  al 4% diluido en tampón fosfato salino a un pH 7,4. Además, se añadieron 300 microL de tampón fosfato salino al segundo tubo para estudiar la hemólisis espontánea y se añadió agua destilada al tercer tubo. Todas las muestras fueron centrifugadas y se midió la absorbancia a 405 nm como indicador del grado de hemólisis. Los resultados se expresaron en porcentaje de hemólisis, que indica la debilidad de la membrana de los eritrocitos mediante la medición de la hemoglobina liberada, eliminando la que se libera por efectos de la técnica y respecto a la hemólisis total.

### **3.4 Análisis estadístico**

En primer lugar, se utilizaron estadísticos descriptivos para caracterizar a la población estudio y los parámetros individuales de inflamación y estrés oxidativo. Se utilizó la frecuencia en valor absoluto y porcentaje para las variables cualitativas, y la media y desviación típica para las variables continuas. La diferencia entre los pacientes y los controles en cuanto a los biomarcadores se determinó mediante el MANCOVA controlando por tabaquismo e IMC. La asociación entre los biomarcadores y las variables clínicas de la esquizofrenia se realizó mediante la t de Student o el ANCOVA con el test de Duncan como post-hoc, y correlaciones parciales controlando por IMC y tabaquismo, según se consideró adecuado. Se considerarán diferencias estadísticamente significativas cuando el valor de p sea  $<0.05$ .

### **3.5 Aspectos éticos**

Los investigadores se comprometen a respetar todos los aspectos establecidos en la legislación vigente en materia de investigación clínica establecidos en la Declaración de Helsinki, en el Convenio del Consejo de Europa relativo a los derechos humanos y la biomedicina, en la Declaración Universal de la UNESCO sobre los derechos humanos, así como cumplir los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética, con la Ley 14/2007, de julio, de Investigación biomédica y los demás requisitos establecidos por la legislación española al respecto.

El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética e Investigación Clínica del Hospital Central de Asturias. Se obtuvo el consentimiento informado (CI) para la participación en el estudio de todos los participantes y/o de sus representantes legales antes de la inclusión en el estudio.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Análisis descriptivo

#### 4.1.1 Datos demográficos

La muestra se compone de 30 sujetos, 15 pacientes con diagnóstico de Esquizofrenia Paranoide y sus 15 controles apareados por edad y sexo, de los cuales el 53,3% son varones frente al 46,7% restante que son mujeres. La edad media de los pacientes que participaron en el estudio fue de 30,13 años (DT: 5,89). La tabla 1 recoge las características demográficas de los pacientes a estudio.

**Tabla 1.** Características demográficas del grupo de pacientes.

	N	%
<b>Estado civil</b>		
Soltero	13	86,7
Casado/Pareja de hecho	2	13,3
<b>Convivencia</b>		
Sólo	1	6,7
Familia de origen	12	80
Familia propia	2	13,3
<b>Hijos</b>		
No	13	86,7
Sí (1 hijo)	2	13,3
<b>Situación laboral</b>		
Estudiante	3	20
Desempleo	6	40
Incapacidad Temporal	2	13,3
Incapacidad Permanente	4	26,6
<b>Problemas legales</b>		
No	13	86,7
Sí (Detenciones y condenas)	2	13,3

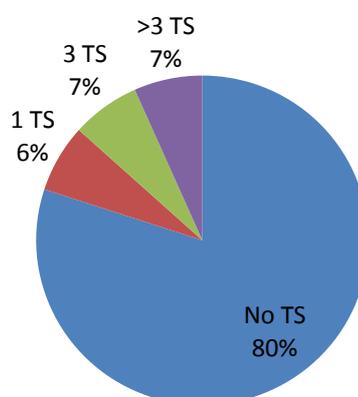
En el grupo de pacientes, la mayoría son solteros (86,7%), viven con la familia de origen (80%) y sin hijos (86,7%). Ningún paciente de la muestra se encuentra

realizando actividad laboral en la actualidad, aunque 14 pacientes (93,3%) tiene historia laboral previa. Sólo 1 de los pacientes se encuentra incapacitado legalmente, y 2 han tenido problemas legales (detenciones y condenas), de los cuales ninguno ha tenido que cumplir condena en la cárcel.

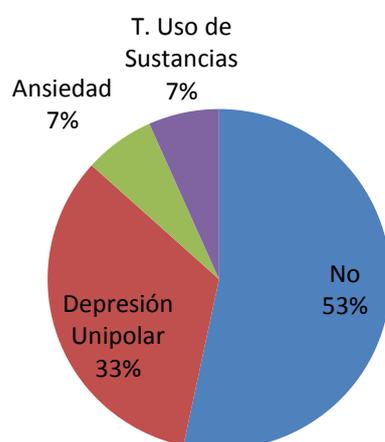
#### **4.1.2 Datos clínicos**

Todos los pacientes tienen un diagnóstico de esquizofrenia paranoide de menos de 11 años de evolución. La media de años de evolución de la enfermedad es de 4,67 años (DT: 3,60) y la edad media al diagnóstico es de 25,53 años (DT: 4,01). De los pacientes estudiados, 7 han ingresado en la Unidad de Psiquiatría en al menos una ocasión, frente a los 8 pacientes que no tienen historia de ingresos. En los siguientes gráficos se muestran otros datos clínicos de interés.

**Gráfico 1.** Antecedentes de Tentativas Suicidas (TS)



**Gráfico 2.** Antecedentes Familiares Psiquiátricos



#### 4.1.2.1 Consumo de tóxicos

En la Tabla 2 se recogen datos referentes al consumo de café, alcohol y tabaco entre los pacientes a estudio. La edad media de inicio en el consumo de alcohol fue de 15,17 años (DT: 1,34) y la edad media de inicio en el consumo de tabaco fue de 16 años (DT: 3,16).

**Tabla 2.** Consumo actual de café, alcohol y tabaco.

		N (%)	Media	DT
<b>Café</b>	Sí	<b>9 (60%)</b>	2,11 cafés/día	1,17
	No	6 (40%)		
<b>Alcohol</b>	Sí	<b>3 (20%)</b>	8 UBE/semana	10,44
	No	12 (80%)		
<b>Tabaco</b>	Sí	<b>9 (60%)</b>	16,67 cigarrillos/día	10,75
	No	6 (40%)		

Respecto al consumo activo de otros tóxicos, en el último mes, sólo un paciente ha consumido cannabis y otro único paciente ha referido consumo de cocaína. Ningún paciente tiene un consumo activo de otros tóxicos como estimulantes, alucinógenos, heroína o metadona. En la Tabla 3 se recogen los antecedentes de consumo de tóxicos, especificando la edad de inicio en su consumo y su duración en años. Ningún paciente tiene antecedentes de consumo de heroína, metadona u otros tóxicos no recogidos en la tabla.

#### 4.1.2.2 Patología somática

Los pacientes refirieron tener las siguientes comorbilidades somáticas: hipercolesterolemia (2 pacientes), hipertrigliceridemia (3 pacientes), problemas oftalmológicos (6 pacientes), estreñimiento (1 paciente), bronquitis crónica (1 paciente), escoliosis (1 paciente). Ningún paciente refirió tener hipertensión arterial,

diabetes mellitus, enfermedad cerebrovascular o cardiovascular, migrañas, enfermedad oncológica, hepatitis B o C, VIH, otras enfermedades de transmisión sexual, problemas auditivos o asma.

**Tabla 3.** Antecedentes de consumo de tóxicos.

		<b>N (%)</b>	<b>Edad media de inicio en el consumo (± DT)</b>	<b>Media de años de consumo (± DT)</b>
<b>Cannabis</b>	Sí	<b>9 (60%)</b>	16,22 (± 1,79)	5,67 (± 4,27)
	No	6 (40%)		
<b>Cocaína</b>	Sí	<b>8 (53,3%)</b>	20 (± 2,88)	1,88 (± 3,83)
	No	7 (46,7%)		
<b>Estimulantes</b>	Sí	<b>5 (33,3%)</b>	19,40 (± 2,19)	0,6 (± 0,89)
	No	10 (66,7%)		
<b>Alucinógenos</b>	Sí	<b>4 (26,7%)</b>	21,25 (± 2,22)	0 (± 0)
	No	11 (73,3%)		

#### 4.1.2.2 Psicometría

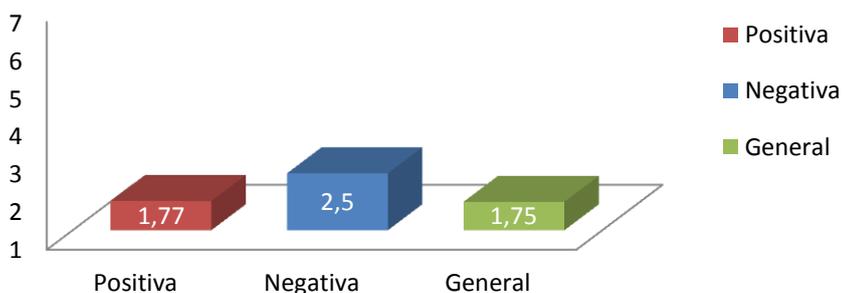
Se ha evaluado el estado psicopatológico actual del paciente con esquizofrenia mediante la Escala PANSS para puntuar sintomatología psicótica positiva, negativa y general, mediante la Escala BNSS para puntuar específicamente la sintomatología psicótica negativa, mediante la Escala de Calgary para puntuar sintomatología depresiva y mediante la Escala CGI para valorar la gravedad global. La funcionalidad del paciente se ha evaluado mediante la escala PSP.

**Tabla 4.** Psicopatología y Funcionalidad.

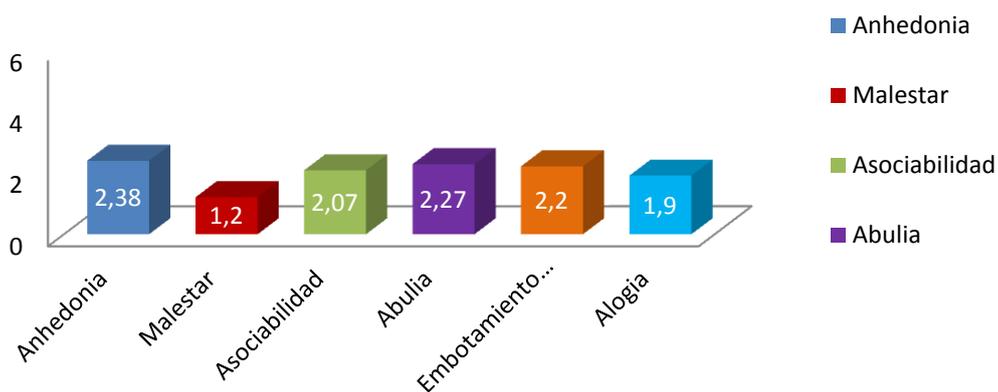
	<b>PANSS Total</b>	<b>BNSS Total</b>	<b>Depresión Calgary</b>	<b>Gravedad CGI Total</b>	<b>Funcionalidad PSP</b>
Puntuación media	57,6	27,47	2,13	3,79	54,33
Desviación Típica	±19,53	±16,09	±4,05	±0,89	±23,29

En los siguientes gráficos se representan las puntuaciones obtenidas en las subescalas mencionadas.

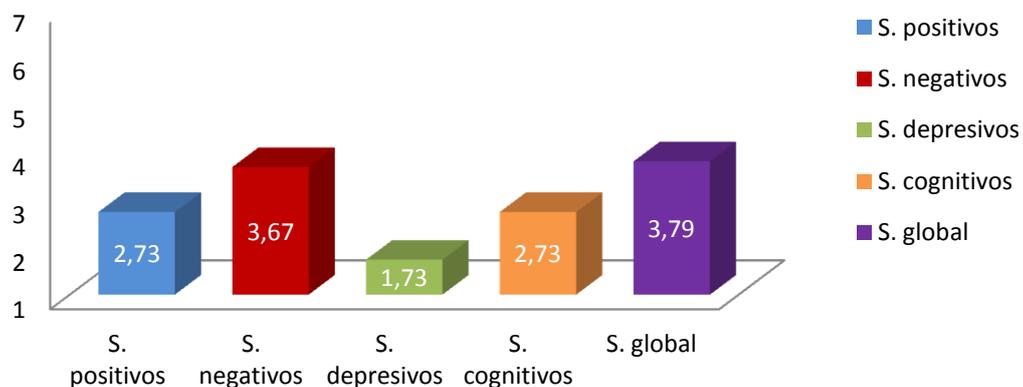
**Gráfico 3. Subescalas PANSS.** Los valores se han normalizado para representar la gravedad en cada subescala.



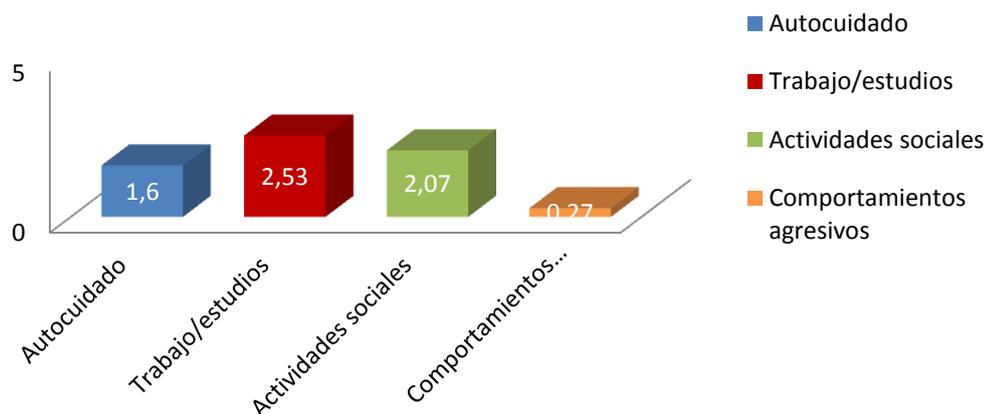
**Gráfico 4. Subescalas BNSS.** Los valores se han normalizado para representar la gravedad en cada subescala.



**Gráfico 5. Subescalas CGI**



**Gráfico 6. Subescalas PSP**



#### 4.1.2.3 Otras variables

En la tabla 5 se describen las variables antropométricas y biológicas recogidas en el grupo de pacientes. Un 66,7% (10 pacientes) tienen un Índice de Masa Corporal superior a la normalidad (IMC mayor de 25), de los cuales 5 (33,3%) tienen sobrepeso (IMC: 26-30) y 5 (33,3%) tienen criterios de obesidad (IMC mayor de 30).

**Tabla 5.** Variables antropométricas y constantes biológicas

	IMC	Perímetro abdominal (cm)		Frecuencia Cardíaca	TA Sistólica	TA Diastólica
	Kg/m <sup>2</sup>	Varón	Mujer	lpm	mmHg	mmHg
Valor medio	29,17	101,75	99,43	77,33	115,93	78,33
Desviación Típica	± 6,26	± 16,50	± 14,64	± 17,11	± 12,49	± 8,13

#### 4.2 Análisis comparativo

Los casos y controles están apareados por sexo (8 varones y 7 mujeres en cada grupo) y edad (30,13 años ± 5,89 en el grupo de casos, 30,20 ± 5,70 en el grupo control) sin diferencias significativas (p=0.975).

#### **4.2.1 Variables antropométricas**

El IMC medio en el grupo de pacientes es de  $29,17 \pm 6,26$ , mientras que en el grupo control es de  $24,82 \pm 3,19$ , siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $t=2,394$ ,  $p=0.024$ ). En el caso del perímetro abdominal, se encuentran diferencias significativas en varones, siendo mayor éste mayor en el grupo de pacientes,  $101,75 \text{ cm} \pm 15,50$  frente  $85,37 \text{ cm} \pm 10,45$  en el grupo control ( $t=2.372$ ,  $p=0.033$ ), pero no se detectan estas diferencias en mujeres.

#### **4.2.2 Datos de laboratorio**

##### **4.2.3.1 Hemograma**

Sólo 1 paciente presenta una ligera leucocitosis (12500 leucocitos/ml). Ningún paciente presenta criterios de anemia. Tampoco presentan alteraciones plaquetarias. En el grupo control ningún paciente presenta alteraciones hematológicas.

##### **4.2.3.2 Bioquímica**

En la siguiente tabla se presentan y se comparan diferentes valores analíticos en el grupo de pacientes y grupo control, segmentando por sexo. Como se aprecia en la tabla, encontramos diferencias estadísticamente significativas entre pacientes y controles para los niveles de prolactina en ambos sexos. Sin embargo, sólo se encuentran diferencias significativas para el Colesterol HDL, Triglicéridos y niveles de Insulina en el grupo de varones. En el resto de parámetros analizados no se han detectado diferencias.

**Tabla 6.** Valores analíticos comparativos

	Varones			Mujeres		
	Pacientes (Media ± DT)	Control (Media ± DT)	t (p valor)	Pacientes (Media ± DT)	Control (Media ± DT)	t (p valor)
<b>Perfil lipídico (mg/dl)</b>						
• <b>Colesterol Tot.</b>	189,87 ± 32,89	180,62 ± 21,83	0,664 (0,518)	205,43 ± 44,23	171,71 ± 17,77	1,871 (0,099)
• <b>Colesterol LDL</b>	103,63 ± 47,86	100,62 ± 15,49	0,169 (0,870)	124,00 ± 35,28	97,57 ± 20,13	0,169 (0,870)
• <b>Colesterol HDL</b>	44,75 ± 15,30	<b>63,12 ±</b> 18,09	-2,113 <b>(0,046)*</b>	52,14 ± 15,00	61,57 ± 12,54	-1,276 (0,226)
• <b>Triglicéridos</b>	<b>145,00 ±</b> 61,91	87,50 ± 37,98	2,247 <b>(0,041)*</b>	146,00 ± 82,46	72,29 ± 23,09	2,277 <b>(0,057)</b>
<b>Perfil glucémico</b>						
• <b>Glucosa (mg/dl)</b>	81,75 ± 5,26	84,87 ± 7,08	-1,002 (0,333)	89,57 ± 11,66	88,29 ± 6,95	0,251 (0,806)
• <b>Insulina (µU/ml)</b>	<b>16,88 ±</b> 11,74	6,36 ± 2,50	2,477 <b>(0,040)*</b>	11,20 ± 3,92	10,04 ± 3,37	0,573 (0,578)
• <b>GlicoHb A1c(%)</b>	5,17 ± 0,29	5,16 ± 0,16	-0,500 (0,626)	5,25 ± 0,27	5,16 ± 0,15	0,774 (0,456)
<b>Prolactina (ng/ml)</b>	<b>47,35 ±</b> 24,11	16,08 ± 8,55	3,456 <b>(0,008)**</b>	<b>68,72 ±</b> 40,72	21,38 ± 14,16	2,905 <b>(0,021)*</b>

#### 4.2.3.3 Biomarcadores de Inflamación y de estrés oxidativo

En el presente estudio se han analizado tres biomarcadores de inflamación (TNF-alfa, IL-6, PCR) y tres biomarcadores de estrés oxidativo (test de hemólisis [TH], lipoperoxidación [LPO], homocisteína) en el grupo de pacientes y en el grupo control. En la siguiente tabla se expone la media de los valores obtenidos y su desviación típica, y la significación estadística de sus diferencias controlando, por IMC y tabaquismo. Sólo se encuentran diferencias estadísticamente significativas para el nivel de homocisteína siendo éste mayor en el grupo de pacientes.

**Tabla 6.** Biomarcadores de inflamación y estrés oxidativo

	Valor medio ( $\pm$ DT) Pacientes	Valor medio ( $\pm$ DT) Control	F	p valor
TNF-alfa (pg/ml)	13,57 ( $\pm$ 6,16)	13,71 ( $\pm$ 7,77)	0,201	0,661
IL-6 (pg/ml)	17,08 ( $\pm$ 17,87)	6,20 ( $\pm$ 4,47)	0,502	0,490
PCR (mg/dl)	0,31 $\pm$ 0,36	0,09 $\pm$ 0,14	0,015	0,904
Homocisteína ( $\mu$ mol/L)	<b>13,26 <math>\pm</math> 3,80</b>	<b>11,07 <math>\pm</math> 4,35</b>	4,838	<b>0,045*</b>
TH (%)	6,96 ( $\pm$ 3,26)	7,99 ( $\pm$ 6,23)	0,006	0,938
LPO ( $\mu$ mol/g)	129,85 ( $\pm$ 48,40)	124,24 ( $\pm$ 30,13)	0,341	0,631

Muestran niveles de PCR superiores a la normalidad (>0,5 mg/dL) 3 pacientes, es decir, un 20% del grupo de pacientes. En el grupo control ningún paciente presenta alteraciones en el valor de la PCR.

#### 4.3 Análisis correlacional

##### 4.3.1 Correlaciones entre biomarcadores

**Tabla 7.** Correlaciones biomarcadores

		TNF-alfa	IL-6	PCR	Homocist.	TH (%)	LPO
TNF-alfa	Corr.	1	<b>0,383</b>	<b>0,459</b>	-0,092	0,068	0,066
	p		<b>0,044*</b>	<b>0,021*</b>	0,692	0,757	0,696
IL-6	Corr.	---	1	0,100	-0,097	-0,151	0,178
	p			0,634	0,675	0,490	0,364
PCR	Corr.	---	---	1	-0,105	-0,361	-0,003
	p				0,659	0,108	0,988
Homocisteína	Corr.	---	---	---	1	-0,103	0,407
	p					0,704	<b>0,067</b>
TH (%)	Corr.	---	---	---	---	1	-0,145
	p						0,510

Sólo alcanza la significación una correlación positiva moderada entre TNF-alfa y PCR, y entre TNF-alfa y IL-6, lo que indica que estos tres biomarcadores podrían representar un estado inflamatorio. No existen correlaciones significativas entre el resto de biomarcadores. No obstante, hay una correlación positiva cercana a la significación estadística entre la homocisteína y la lipoperoxidación, lo que sugiere que podrían representar conjuntamente un estado de estrés oxidativo.

#### **4.3.2 Biomarcadores en función de la edad y el sexo**

No hay diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los biomarcadores estudiados en función del sexo. Respecto a la edad no hay correlaciones significativas, salvo una correlación negativa entre la homocisteína y la edad [ $r = -0,583$  ( $p=0,015$ )].

#### **4.3.3 Biomarcadores y datos clínicos**

##### **4.3.3.1 Años de evolución de la enfermedad y edad al diagnóstico**

No hay correlaciones significativas en función de los años de enfermedad para los biomarcadores señalados salvo una correlación positiva significativa de la duración de la enfermedad con TNF-alfa [ $r = 0,588$  ( $p=0,035$ )]

Respecto a la edad al diagnóstico no se ha detectado ninguna correlación significativa con los biomarcadores.

##### **4.3.3.3 Historia de ingresos y tentativas autolíticas**

Existe una correlación positiva entre el número de ingresos y la TNF-alfa [ $r=0,673$ ,  $p=0,012$ ], y una correlación positiva muy fuerte entre el número de ingresos y la PCR [ $r=0,921$ ; ( $p=0,000$ )]. Por otro lado, no se encuentran diferencias significativas en función de si existe o no historia de tentativas suicidas.

#### **4.3.3.4 Consumo de tóxicos**

##### Consumo de café

Existe una correlación positiva significativa entre el número de cafés consumidos a diario y la PCR [ $r=0,673$  ( $p=0,023$ )]. También se detecta esta correlación entre el número de cafés y el TNF-alfa [ $r=0,553$  ( $p=0,050$ )]. No se encuentra correlación significativa con otros biomarcadores.

##### Consumo de tabaco

Respecto al consumo de tabaco, también se encuentra una correlación significativa entre el número de cigarrillos diarios y la PCR [ $r: 0,668$  ( $p=0,013$ )], sin encontrarse correlación significativa con otros biomarcadores.

##### Consumo de alcohol

No se detectan diferencias significativas en los biomarcadores en función de si el paciente consume o no consume alcohol.

##### Historia de consumo de otros tóxicos

No existen diferencias significativas en los biomarcadores en función de si el paciente tiene o no historia de consumo de cannabis, cocaína, estimulantes o alucinógenos. Sin embargo, sí se ha detectado una correlación positiva muy significativa entre los años de consumo de cocaína y la PCR [ $r=1$  ( $p=0,000$ )]. También existe una correlación positiva muy fuerte entre el número de días de consumo de cannabis en el último mes con la PCR [ $r=0,936$  ( $p=0,000$ )], y más moderada con el TNF-alfa [ $r=0,683$  ( $p=0,010$ )].

#### **4.3.3.5 Comorbilidad somática**

No hay diferencias significativas entre los biomarcadores en función de si sujeto refiere o no algún tipo de comorbilidad somática.

#### 4.3.3.6 Biomarcadores y variables antropométricas

Existe una correlación positiva significativa entre el IMC y la PCR [ $r=0,759$  ( $p=0,004$ )], y cercana a la significación entre el IMC y el TNF-alfa [ $r=0,520$  ( $p=0,057$ )], en el grupo de pacientes. Esta correlación no alcanza la significación estadística en el grupo control.

#### 4.3.4 Biomarcadores y psicopatología

##### 4.3.4.1 Escala PANSS

En la tabla 8 se representan las correlaciones entre los biomarcadores analizados y la gravedad sintomatológica de los pacientes representada por la puntuación total de la PANSS, así como la puntuación de sus subescalas, controlando las covariables tabaquismo e IMC. Sólo se muestran aquellos valores con significación estadística o cercana a la significación. Sólo el TNF-alfa se relaciona positivamente con la dimensión positiva. Con la subescala negativa correlaciona positivamente la homocisteína, que además correlaciona con la puntuación total de la PANSS, de forma que muestra niveles más elevados en aquellos pacientes con mayor gravedad sintomatológica, específicamente en la sintomatología negativa.

**Tabla 8.** Correlaciones con puntuación total de la PANSS y subescalas.

		TNF-alfa	IL-6	PCR	Homocist.	TH (%)	LPO
<b>S. Positiva</b>	Corr.	<b>0,601</b>	---	---	0,619	---	---
	p	<b>0,030*</b>			<b>0,075</b>		
<b>S. Negativa</b>	Corr.	---	---	---	<b>0,745</b>	---	---
	p				<b>0,021*</b>		
<b>S. General</b>	Corr.	---	---	---	0,623	---	---
	p				<b>0,063</b>		
<b>Total</b>	Corr.	---	---	---	<b>0,733</b>	---	---
	p				<b>0,025*</b>		

#### 4.3.4.2 Escala BNSS

Tabla 9. Correlaciones con puntuación total de la BNSS y subescalas

		TNF-alfa	IL-6	PCR	Homocist.	TH (%)	LPO
Anhedonia	Corr.	---	---	---	<b>0,684</b>	---	---
	p				<b>0,042*</b>		
Asociabilidad	Corr.	---	---	---	---	---	---
	p						
Abulia	Corr.	---	---	---	---	---	---
	p						
Embotamiento Afectivo		---	---	---	---	---	---
Alogia	Corr.	<b>-0,624</b>	---	---	---	---	---
	p	<b>0,023*</b>					
Puntuación Total		---	---	---	---	---	---

No se detectan correlaciones significativas entre la puntuación total de la escala BNSS y los distintos biomarcadores analizados. No obstante, se objetiva una correlación negativa significativa entre la subescala de alogia y el nivel de TNF-alfa. También se detecta una correlación positiva entre la subescala de anhedonia, síntoma negativo nuclear de la esquizofrenia, y los niveles de homocisteína, compatible con los resultados observados para la PANSS.

#### 4.3.4.3 Escala Calgary de gravedad de depresión

Tabla 10. Correlaciones puntuación total de la CDS y biomarcadores

		TNF-alfa	IL-6	PCR	Homocist.	TH (%)	LPO
Puntuación Total	Corr.	<b>0,761</b>	---	<b>0,782</b>	---	---	---
	p	<b>0,003**</b>		<b>0,004**</b>			

En la tabla se puede observar una gran significación estadística para una correlación positiva entre la puntuación total de la escala CDS, que evalúa gravedad de depresión, con los niveles de PCR y TNF-alfa, lo que sugiere la posibilidad de que estos biomarcadores puedan ser indicadores de depresión en el paciente con esquizofrenia.

#### 4.3.4.4 Gravedad global

**Tabla 11.** Correlaciones con las puntuaciones escala CGI-S

		TNF-alfa	IL-6	PCR	Homocist.	TH (%)	LPO
<b>S. Positivos</b>	Corr.	---	---	---	---	---	---
	p						
<b>S. Negativos</b>	Corr.	---	---	---	<b>0,701</b>	---	---
	p				<b>0,035*</b>		
<b>S. Depresivos</b>	Corr.	<b>0,578</b>	---	---	---	---	---
	p	<b>0,038*</b>					
<b>S. Cognitivos</b>	Corr.	---	---	---	<b>0,720</b>	---	---
	p				<b>0,021*</b>		
<b>Puntuación CGI global</b>	Corr.	---	---	---	---	---	---
	p						

Las correlaciones observadas en esta tabla son compatibles con los resultados obtenidos en escalas previas. La gravedad de los síntomas negativos correlaciona positivamente con la homocisteína, y la gravedad de los síntomas depresivos con la TNF-alfa. Además, también aparece una relación significativa de la homocisteína con la gravedad de síntomas cognitivos, que no se había estudiado previamente.

### 4.3.5 Biomarcadores y funcionalidad

#### 4.3.5.1 Escala PSP

**Tabla 12.** Correlaciones con las puntuaciones de la escala PSP

		TNF-alfa	IL-6	PCR	Homocist.	TH (%)	LPO
<b>Autocuidado</b>	Corr.	---	---	---	<b>0,767</b>	---	---
	p				<b>0,016*</b>		
<b>Trabajo/ Estudios</b>	Corr.	---	---	---	<b>0,678</b>	<b>-0,701</b>	---
	p				<b>0,045*</b>	<b>0,024*</b>	
<b>Act. Social</b>	Corr.	---	---	---	<b>0,999</b>	---	---
	p				<b>0,000**</b>		
<b>Comportam. agresivos</b>	Corr.	<b>0,737</b>	---	<b>0,871</b>	---	---	---
	p	<b>0,004**</b>		<b>0,000**</b>			
<b>Puntuación PSP total</b>	Corr.	---	---	---	<b>-0,773</b>	---	---
	p				<b>0,015*</b>		

Por último la escala PSP de funcionamiento social y personal, nos aporta gran información. Se observa una relación entre la homocisteína y la puntuación de la PSP, que indica peor funcionalidad a mayores niveles de homocisteína. Específicamente, correlaciona de manera muy significativa con los ítems de autocuidado y actividades sociales, aunque también con actividades de trabajo y estudio. Por otro lado, biomarcadores de inflamación como la PCR y el TNF-alfa correlacionan de forma muy significativa con el ítem de comportamientos agresivos.

## **5. DISCUSIÓN**

Cada vez existe un mayor número de estudios que relacionan la esquizofrenia con condiciones inflamatorias y de estrés oxidativo, al igual que se han relacionado estos factores con otras enfermedades psiquiátricas como la depresión, el trastorno bipolar, y enfermedades neurodegenerativas. Aunque actualmente existe un marcado interés por la implicación de la neuroinflamación, o inflamación a nivel del sistema nervioso central, como mecanismo patogénico en estas enfermedades, una gran parte de los estudios clínicos se han centrado en la búsqueda de marcadores biológicos de inflamación en sangre periférica, basándose en la hipótesis de que la esquizofrenia no es un trastorno exclusivamente cerebral, sino una enfermedad sistémica. Si bien esta relación se ha descrito en numerosos estudios, aun no se conoce exactamente si la alteración en el sistema inmune y las vías inflamatorias son un factor de riesgo o vulnerabilidad y determinan una predisposición a la esquizofrenia, o en realidad son una consecuencia del elevado nivel de estrés al que está sometido un sujeto que padece un trastorno mental o la elevada comorbilidad física que presenta.

Teniendo en cuenta la naturaleza heterogénea de la enfermedad que es objeto de nuestro estudio, en cuanto a sintomatología, curso y pronóstico, y por otro lado a su proximidad con otros trastornos del espectro psicótico, nuestro estudio pretende buscar biomarcadores específicos de determinadas dimensiones psicopatológicas del individuo con esquizofrenia, en especial, la dimensión negativa, que nos ayuden a comprender mejor la compleja naturaleza de la enfermedad. Paralelamente, y en base al gran impacto que provoca el síndrome deficitario sobre el funcionamiento personal y social de los pacientes, analizar si estos biomarcadores también pudieran estar relacionados con la funcionalidad.

## **5.1 Biomarcadores de inflamación**

Los datos que aportan diferentes estudios y metanálisis sobre biomarcadores inflamatorios son controvertidos. Además, conocemos que las citoquinas estudiadas se elevan paralelamente, formando parte de las mismas vías inflamatorias, lo que dificulta encontrar marcadores específicos de determinadas condiciones clínicas. Así lo reflejan nuestros resultados que detectan cierta correlación entre los niveles de PCR, TNF-alfa e IL-6. Es importante a la hora de analizar los resultados considerar la presencia de cofactores que están relacionados con los marcadores inflamatorios, como es el tabaco, pero probablemente también otros tóxicos como la cocaína y el cannabis, e incluso el café, como sugieren los datos que se reflejan en nuestro estudio.

### **5.1.1 Proteína C Reactiva**

La PCR es una proteína que se sintetiza en los hepatocitos bajo la influencia de citocinas inflamatorias como la IL-6 y al TNF-alfa. Es un marcador inespecífico que se eleva sobre todo en estados de inflamación aguda, pero también se considera un factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares, diabetes y otras disfunciones metabólicas.

Recientes metanálisis han descrito mayores niveles de PCR en pacientes con esquizofrenia (Miller et al, 2014; Singh y Chaudhuri, 2014), y se ha relacionado este aumento con una mayor gravedad clínica reflejada en la puntuación total de la PANSS (Fan et al., 2007; Fawzi et al., 2011), aunque estos resultados no han sido detectados en otros estudios realizados. A pesar de que nuestro trabajo no ha encontrado esta relación directa con la puntuación de la PANSS, sí hallamos niveles más elevados en aquellos pacientes con mayor número de ingresos hospitalarios. Por otro lado, aunque se consideró que posiblemente fuese un marcador de estado al objetivar que los niveles de PCR se normalizaban tras remitir la sintomatología psicótica (Ohaeri et al.,

1993) los resultados al respecto son inconsistentes. El origen de estos datos inconsistentes podría ser el hecho de no controlar factores de confusión que ya conocemos que elevan esta proteína, como el IMC o el consumo de tóxicos. Aunque nuestro trabajo ha tenido en cuenta estos factores, nuestros resultados no han permitido establecer una relación entre este marcador y una mayor gravedad de la sintomatología positiva o negativa. Sin embargo, sí hemos hallado una asociación significativa con la depresión en este tipo de pacientes. Estudios previos ya señalaban su relación con la depresión en pacientes no psicóticos (Ford y Erlinger, 2004). Además, en nuestro trabajo también aparece relacionado con los comportamientos agresivos, lo que apoya una asociación entre la agresividad y este biomarcador, como ya se ha visto en otro tipo de trastornos como los trastornos de personalidad (Coccaro et al., 2014).

### **5.1.2 TNF-alfa**

Esta proteína ha sido propuesta por Miller et al. (2011) como un marcador de rasgo de la enfermedad, al hallar que persistía elevada en los pacientes tras el tratamiento y la remisión sintomatológica. Sin embargo, esta hipótesis no ha sido apoyada por otros estudios posteriores que han encontrado resultados diferentes. Así, en el estudio de Dunkic-Kostic et al. (2013) se encuentran niveles más bajos de esta proteína comparando con controles sanos, tanto en pacientes agudos como en remisión, y teniendo en cuenta posibles factores de confusión. En una muestra de pacientes crónicos con esquizofrenia bajo tratamiento y sin descompensación también detectaron niveles más bajos de TNF-alfa comparando con controles, sugiriendo el posible papel neuroprotector de la medicación (Francesconi et al., 2011), mientras que otros no encontraron diferencias (Kunz et al., 2011; Pedrini et al., 2012; Xiong et al., 2014). Por el contrario, Girgis et al. (2014) concluye en su revisión que se encuentran niveles más elevados de TNF-alfa en primeros episodios y reagudizaciones. Nuestro trabajo tampoco detecta diferencias significativas con controles sanos, lo que apoya la

hipótesis de que quizás pacientes estabilizados, como corresponde a nuestra muestra, dejen de presentar niveles elevados de esta proteína. Por otro lado, sí hemos detectado su correlación con la gravedad de la dimensión positiva, apuntando la posibilidad de que el TNF-alfa sea un biomarcador específico de esta dimensión. Estos datos coinciden con estudios previos que ya señalaban su posible asociación con la gravedad de los síntomas positivos (Erbazegi et al., 2001), así como con el número de hospitalizaciones y episodios de descompensación que reflejan una mayor gravedad (Hope et al., 2013).

Además, al igual que la PCR, también podrían verse aumentados sus niveles en aquellos pacientes con comportamientos agresivos y con depresión, indicando una posible relación entre estos factores y un estado inflamatorio no específico que habría de tener en cuenta para futuros estudios por su posible interferencia en los resultados.

### **5.1.3 Interleucina-6**

La IL-6, a diferencia del TNF-alfa, se había propuesto como marcador de estado en la esquizofrenia, al detectarse un aumento de sus niveles en primeros episodios psicóticos y recaídas agudas con posterior normalización tras el tratamiento antipsicótico (Miller et al., 2011). Recientemente, Stojanovic et al.(2014) amplía esta hipótesis al detectar que no sólo pacientes en estadio temprano de psicosis sino aquellos con estado mental de alto riesgo, previo a la transición a psicosis, presentaban niveles más elevados de IL-6, pudiendo ser un posible marcador de esta transición y de estadios tempranos de psicosis. A pesar de que los datos recogidos sobre esta citoquina son más consistentes en lo referente a que los individuos con esquizofrenia presentan niveles más elevados, algunos estudios no encuentran diferencias en estos niveles entre estados de exacerbación de la enfermedad y remisión (Dunjic-Kostic et al., 2013). Otros sí recogen una asociación positiva de sus niveles con la sintomatología positiva evaluada mediante la PANSS (Dimitrov et al.,

2013). Nuestro trabajo no ha detectado niveles mayores de esta citoquina en la muestra de pacientes, lo que puede tener relación con que la muestra estudiada está formada por pacientes no descompensados, aunque tampoco ha detectado ninguna correlación con otros parámetros clínicos analizados.

## **5.2 Biomarcadores de estrés oxidativo**

El estrés oxidativo también se ha identificado como posible mecanismo implicado en la neuropatología de la esquizofrenia (Riegel et al., 2010; Pedrini et al., 2012), y está intensamente relacionado con los procesos inflamatorios. Así, un elevado estrés oxidativo neuronal puede provocar alteraciones en la transducción de señal, en la plasticidad estructural y en la resiliencia celular, principalmente debido a la peroxidación lipídica de membranas y el efecto dañino sobre proteínas y genes (Gamma et al., 2007). Los productos de peroxidación lipídica, como los analizados en nuestro trabajo, se utilizan como indicador de este daño oxidativo (Huang et al., 2010) y existen evidencias de que se encuentran elevados en los pacientes con esquizofrenia (Zhang et al., 2010) junto con un descenso de algunas enzimas antioxidantes que contrarrestan este daño (Kunz et al., 2008). No obstante, también existen datos inconsistentes y contradictorios referentes a los marcadores de este desequilibrio oxidativo ya que unos trabajos encuentran niveles bajos, mientras que otros encuentran niveles normales o elevados de diferentes enzimas antioxidantes (Bitanhirwe and Woo, 2011). En nuestro estudio no hemos encontrado diferencias entre el grupo de pacientes y grupo control, ni asociaciones significativas con parámetros clínicos de los marcadores de daño oxidativo (LPO y fragilidad eritrocitaria) que hemos analizado. Tampoco hemos hallado una asociación de estos marcadores con comorbilidad física o abuso de sustancias.

Por otro lado, la homocisteína también se ha señalado como indicador de estrés oxidativo, al objetivarse en algunos estudios su asociación con otros marcadores de daño oxidativo en pacientes con esquizofrenia (Dietrich-Muszalska et al., 2012). Nosotros también hallamos dicha relación al encontrar a este parámetro correlacionado positivamente con el nivel de LPO. Niveles elevados de homocisteína se han relacionado con diversas enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares, y se han descrito en pacientes con esquizofrenia (Dietrich-Muszalska et al., 2009). Además, diversos autores han sugerido que la asociación de este parámetro con la esquizofrenia podría implicar al sistema glutamatérgico, de forma que la homocisteína puede actuar como agonista o antagonista del Receptor de NMDA en función de los niveles de glicina (Moore et al., 2001). Más recientemente, García-Bueno et al. (2014) han hallado niveles más elevados de homocisteína junto con otros marcadores oxidativos en pacientes con primeros episodios psicóticos respecto a controles sanos, identificando a este parámetro como uno de los factores de riesgo potenciales. En nuestro trabajo hemos encontrado diferencias significativas de este biomarcador, mostrando niveles más elevados los pacientes respecto a los controles apareados por edad y sexo, y después de ajustar los resultados con las covariables tabaquismo e IMC. Además, hemos hallado una correlación positiva entre la homocisteína y la puntuación total de la PANSS, y específicamente, con la subescala negativa, así como con la subescala de anhedonia de la escala BNSS, uno de los síntomas principales de la dimensión negativa de la esquizofrenia, y también con la gravedad de la sintomatología negativa en la escala CGI. Este resultado apoya nuestra hipótesis de la existencia de biomarcadores específicos de la dimensión negativa, representado en este estudio por la homocisteína.

Paralelamente, la enorme influencia que tiene la sintomatología negativa en el funcionamiento personal y social del paciente con esquizofrenia ha sido ratificada por los resultados de nuestro estudio ya que también hemos identificado a la homocisteína

como un potencial biomarcador de peor funcionalidad en estos pacientes, al encontrar una correlación negativa entre este parámetro y la puntuación total de la escala PSP. Estos resultados coinciden con los hallados por De Gonzalo-Calvo et al. (2012) en población geriátrica, que descubrieron una asociación de los marcadores de estrés oxidativo con una mayor dependencia funcional en los pacientes ancianos.

### **5.3 Limitaciones y fortalezas del estudio**

A la hora de tener en cuenta estos resultados es necesario tener presente que el tamaño muestral es muy reducido al tratarse de la fase inicial de un proyecto de investigación de mayor envergadura. Además, otra limitación que tiene este trabajo es que presenta los datos de la parte transversal del proyecto de investigación por lo que actualmente impide sacar conclusiones de la existencia temporal de nuestros resultados, así como establecer relaciones causales.

Por otro lado, si bien la presencia de un grupo control de personas apareadas por edad y sexo es una fortaleza del estudio, es preciso señalar que la falta de un grupo control con otra patología mental grave aportaría mucho más valor e información del estado de la cuestión. La existencia de este segundo grupo control permitiría determinar si las alteraciones aquí encontradas son específicas de la esquizofrenia o si por el contrario son compartidas con otros trastornos mentales graves.

Por último, una clara fortaleza es la evaluación psicométrica válida y fiable, especialmente en el caso de la sintomatología negativa mediante la escala BNSS, que aporta la valoración de la gravedad de los síntomas nucleares de la dimensión negativa de la esquizofrenia (anhedonia y abulia), y en el caso de la funcionalidad mediante la escala PSP.

## **6. CONCLUSIONES**

A tenor de los resultados obtenidos se concluyen los siguientes puntos:

1. Parece que algunos de los biomarcadores se asocian de manera diferencial a la dimensión negativa de la esquizofrenia constituyendo un perfil concreto, representado, en nuestro trabajo, por niveles elevados de homocisteína, que reflejan un estado de estrés oxidativo.
2. Se ha encontrado, también, un perfil de biomarcadores diferencial de la dimensión positiva de la esquizofrenia, representado por niveles elevados de TNF-alfa, que reflejan un estado inflamatorio. Además, se desprende de los resultados obtenidos que la gravedad de la depresión en estos pacientes está relacionada con niveles más elevados de biomarcadores inflamatorios, concretamente TNF-alfa y PCR.
3. Un peor rendimiento funcional se asocia a un mayor nivel de estrés oxidativo en pacientes con esquizofrenia, demostrado por niveles más elevados de homocisteína.
4. Serían necesarios más estudios, con un mayor número de participantes, para poder ampliar estos resultados.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quisiera agradecer a los Profesores Paz García-Portilla y José M<sup>a</sup> Pelayo por su orientación y apoyo, al equipo de la Profesora Ana Coto por su inestimable colaboración, y a todos los miembros del Área de Psiquiatría de la Universidad de Oviedo por su ayuda y sus aportaciones.

## **7. BIBLIOGRAFÍA**

American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders; DSM-e – 5<sup>th</sup> ed. Arlington, VA: American Psychiatric Association, 2013.

Apiquian R, Elena Ulloa R, Herrera-Estrella M, Moreno-Gómez A, Erosa S, Contreras V, Nicolini H. Validity of the Spanish version of the Personal and Social Performance scale in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2009; 112(1-3): 181-6.

Banks WA, Erickson MA. The blood-brain barrier and immune function and dysfunction. *Neurobiol Dis* 2010; 37: 26–32.

Berg D, Youdim MB, Riederer P. Redox imbalance. *Cell Tissue Res.* 2004; 318: 201-13.

Bitanihirwe BK, Woo TU. Oxidative stress in schizophrenia: An integrated approach. *Neurosci Biobehav Rev*, 2011; 35: 878–893.

Borovcanin M, Jovanovic I, Radosavljevic G, Djukic Dejanovic S, Bankovic D, Arsenijevic N, Lukic ML. Elevated serum level of type-2 cytokine and low IL-17 in first episode psychosis and schizophrenia in relapse. *J Psychiatr Res.* 2012; 46(11): 1421-6.

Borovcanin M, Jovanovic I, Radosavljevic G et al. Antipsychotics can modulate the cytokine profile in schizophrenia: attenuation on the type-2 inflammatory response. *Schizophr Res* 2013; 147: 103-9.

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976; 72: 248-54.

Breier A. Developing drugs for cognitive impairment in schizophrenia. *Schizophr Bull.* 2005; 31(4): 816-22.

Brown AS, Hooton J, Schaefer CA, Zhang H, Petkova E, Babulas V, et al. Elevated maternal interleukin-8 levels and risk of schizophrenia in adult offspring. *Am J Psychiatry* 2004; 161: 889-895.

Brown AS, Derkits EJ. Prenatal infection and schizophrenia: a review of epidemiologic and translational studies. *Am J Psychiatry* 2010; 167: 261-280.

Busse S, Busse M, Schiltz K, Bielau H, Gos T, Brisch R, Mawrin C, Schmitt A, Jordan W, Müller UJ, Bernstein HG, Bogerts B, Steiner J. Different distribution patterns of lymphocytes and microglia in the hippocampus of patients with residual versus paranoid schizophrenia: further

evidence for disease course-related immune alterations? *Brain Behav Immun.* 2012; 26(8): 1273-9.

Chen CY, Huang YL, Lin TH. Association between oxidative stress and cytokine production in nickel-treated rats. *Arch Biochem Biophys.* 1998; 356(2): 127-32.

Coccaro EF, Lee R, Coussons-Read M. Cerebrospinal fluid and plasma C-reactive protein and aggression in personality-disordered subjects: a pilot study. *J Neural Transm.* 2014 [En prensa].

Crespo-Facorro B, Carrasco-Marín E, Pérez-Iglesias R, Pelayo-Terán JM, Fernandez-Prieto L, Leyva-Cobián F, Vázquez-Barquero JL. Interleukin-12 plasma levels in drug-naïve patients with a first episode of psychosis: effects of antipsychotic drugs. *Psychiatry Res.* 2008; 158(2): 206-16.

De Gonzalo-Calvo D, de Luxán-Delgado B, Rodríguez-González S, García-Macia M, Suárez FM, Solano JJ, Rodríguez-Colunga MJ, Coto-Montes A. Oxidative protein damage is associated with severe functional dependence among the elderly population: a principal component analysis approach. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2012; 67(6): 663-70.

Dean B. Understanding the role of inflammatory-related pathways in the pathophysiology and treatment of psychiatric disorders: evidence from human peripheral studies and CNS studies. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2011; 14(7): 997-1012.

Debnath M, Chaudhuri TK. The role of HLA-G in cytokine homeostasis during early pregnancy complicated with maternal infections: a novel etiopathological approach to the neurodevelopmental understanding of schizophrenia. *Med Hypotheses.* 2006; 66(2): 286-93.

Dickerson F, Stallings C, Origoni A, Vaughan C, Khushalani S, Yolken R. Additive effects of elevated C-reactive protein and exposure to Herpes Simplex Virus type 1 on cognitive impairment in individuals with schizophrenia. *Schizophr Res.* 2012; 134: 83-8.

Dietrich-Muszalska A, Olas B, Głowacki R, Bald E. Oxidative/nitrative modifications of plasma proteins and thiols from patients with schizophrenia. *Neuropsychobiology.* 2009; 59(1): 1-7.

Dietrich-Muszalska A, Malinowska J, Olas B, Głowacki R, Bald E, Wachowicz B, Rabe-Jabłońska J. The oxidative stress may be induced by the elevated homocysteine in schizophrenic patients. *Neurochem Res.* 2012; 37(5): 1057-62.

Dimitrov DH, Lee S, Yantis J, Valdez C, Paredes RM, Braida N, Velligan D, Walss-Bass C. Differential correlations between inflammatory cytokines and psychopathology in veterans with schizophrenia: potential role for IL-17 pathway. *Schizophr Res.* 2013; 151(1-3): 29-35.

Dringen R. Glutathione metabolism and oxidative stress in neurodegeneration. *Eur J Biochem.* 2000; 267(16): 4903.

Dringen R. Oxidative and antioxidative potential of brain microglial cells. *Antioxid Redox Signal*. 2005; 7(9-10): 1223-33.

Drzyzga L, Obuchowicz E, Marcinowska A, Herman ZS. Cytokines in schizophrenia and the effects of antipsychotic drugs. *Brain Behav Immun*. 2006; 20(6): 532-45.

Dunjic-Kostic B, Jasovic-Gasic M, Ivkovic M, Radonjic NV, Pantovic M, Damjanovic A, Poznanovic ST, Jovanovic A, Nikolic T, Petronijevic ND. Serum levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in exacerbation and remission phase of schizophrenia. *Psychiatr Danub*. 2013; 25(1): 55-61.

Ellman LM, Deicken RF, Vinogradov S, Kremen WS, Poole JH, Kern DM, et al. Structural brain alterations in schizophrenia following fetal exposure to the inflammatory cytokine interleukin-8. *Schizophr Res* 2010; 121: 46-54.

Erbağci AB, Herken H, Köylüoğlu O, Yılmaz N, Tarakçıoğlu M. Serum IL-1beta, sIL-2 R, IL-6, IL-8 and TNF-alpha in schizophrenic patients, relation with symptomatology and responsiveness to risperidone treatment. *Mediators Inflamm* 2001; 10: 109–115.

Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat Res*. 2004; 567(1): 1-61.

Fan X, Pristach C, Liu EY, Freudenreich O, Henderson DC, Goff DC. Elevated serum levels of C-reactive protein are associated with more severe psychopathology in a subgroup of patients with schizophrenia. *Psychiatry Res* 2007; 149: 267–271.

Fawzi MH, Fawzi MM, Fawzi MM, Said NS. C-reactive protein serum level in drug-free male Egyptian patients with schizophrenia. *Psychiatry Res*. 2011 Nov; 190(1): 91-7.

Ford DE, Erlinger TP. Depression and C-reactive protein in US adults: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med*. 2004; 164(9): 1010-4.

Foussias G, Remington G. Negative symptoms in schizophrenia: avolition and Occam's razor. *Schizophr Bull*. 2010; 36: 359–6910.

Francesconi LP, Ceresér KM, Mascarenhas R, Stertz L, Gama CS, Belmonte-de-Abreu P. Increased annexin-V and decreased TNF- $\alpha$  serum levels in chronic-medicated patients with schizophrenia. *Neurosci Lett*. 2011; 502(3): 143-6.

Gamma A, Angst J, Ajdacic V, Eich D, Rössler W. The spectra of neurasthenia and depression: course, stability and transitions. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2007; 257(2): 120-7.

García-Bueno B, Bioque M, Mac-Dowell KS, Barcones MF, Martínez-Cengotitabengoa M, Pina-Camacho L, Rodríguez-Jiménez R, Sáiz PA, Castro C, Lafuente A, Santabárbara J, González-

Pinto A, Parellada M, Rubio G, García-Portilla MP, Micó JA, Bernardo M, Leza JC. Pro-/anti-inflammatory dysregulation in patients with first episode of psychosis: toward an integrative inflammatory hypothesis of schizophrenia. *Schizophr Bull.* 2014; 40(2): 376-87.

García-Portilla MP, Bobes J. The new challenge in identifying the negative syndrome of schizophrenia. *Rev Psiquiatr Salud Ment.* 2013; 6: 141–143.

Gard DE, Kring AM, Germans GM, Horan WP, Green MF. Anhedonia in schizophrenia: distinction between anticipatory and consummatory pleasure. *Schizophr Res.* 2007; 93: 253–260.

Girgis RR, Kumar SS, Brown AS. The cytokine model of schizophrenia: emerging therapeutic strategies. *Biol Psychiatry* 2014; 75: 292-9.

Himmerich H, Berthold-Losleben M, Pollmächer T. [The relevance of the TNF-alpha system in psychiatric disorders]. *Fortschr Neurol Psychiatr.* 2009; 77(6): 334-45.

Haro JM, Kamath SA, Ochoa S, Novick D, Rele K, Fargas A, Rodríguez MJ, Rele R, Orta J, Kharbeng A, Araya S, Gervin M, Alonso J, Mavreas V, Lavrentzou E, Lontos N, Gregor K, Jones PB; SOHO Study Group. The Clinical Global Impression-Schizophrenia scale: a simple instrument to measure the diversity of symptoms present in schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 2003; (416): 16-23.

Hayes LN, Severance EG, Leek JT, Gressitt KL, Rohleder C, Coughlin JM, Leweke FM, Yolken RH, Sawa A. Inflammatory molecular signature associated with infectious agents in psychosis. *Schizophr Bull.* 2014; 40(5): 963-72.

Heckers S, Barch DM, Bustillo J, Gaebel W, Gur R, Malaspina D, et al. Structure of the psychotic disorders classification in DSM-5. *Schizophr Res.* 2013; 150: 11–4.

Hope S, Dieset I, Agartz I, Steen NE, Ueland T, Melle I, Aukrust P, Andreassen OA. Affective symptoms are associated with markers of inflammation and immune activation in bipolar disorders but not in schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 2011; 45(12): 1608-16.

Hope S, Ueland T, Steen NE et al. Interleukin 1 receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor 1 are associated with general severity and psychotic symptoms in schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophr Res.* 2013; 145: 36-42.

Huang VW, Zhao W, Lee CL, Lee CY, Lam KK, Ko JK, Yeung WS, Ho PC, Chiu PC. Cell membrane proteins from oviductal epithelial cell line protect human spermatozoa from oxidative damage. *Fertil Steril.* 2013; 99(5): 1444-1452.

Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Teixeira AL, Magalhaes PV, Kauer-Sant'Anna M, Klamt F, Moreira JC, de Bittencourt Pasquali MA, Fries GR, Quevedo J, Gama CS, Post R. Peripheral biomarkers and illness activity in bipolar disorder. *J Psychiatr Res.* 2011; 45(2): 156-61.

Kawasaki H, Iwamuro S. Potential roles of histones in host defense as antimicrobial agents. *Infect Disord Drug Targets.* 2008; 8(3):195-205.

Keller WR, Kum LM, Wehring HJ et al. A review of anti-inflammatory agents for symptoms of schizophrenia. *J Psychopharmacol.* 2013; 27: 337-42.

Kim YK, Kim L, Lee MS. Relationships between interleukins, neurotransmitters and psychopathology in drug-free male schizophrenics. *Schizophr Res.* 2000; 44(3): 165-75.

Kirkpatrick B, Fenton WS, Carpenter WT, Marder SR. The NIMH-MATRICES consensus statement on negative symptoms. *Schizophr Bull.* 2006; 32: 214–910.

Kirkpatrick B. Schizophrenia as a systemic disease. *Schizophr Bull.* 2009; 35: 381-2.

Kirkpatrick B, Miller BJ. Inflammation and schizophrenia. *Schizophr Bull.* 2013; 39: 1174-1179.

Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol.* 2002; 30(6): 620-50.

Konat GW. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced higher order chromatin degradation: a novel mechanism of oxidative genotoxicity. *J Biosci.* 2003; 28(1): 57-60.

Kunz M, Ceresér KM, Goi PD, Fries GR, Teixeira AL, Fernandes BS et al. Serum levels of IL-6, IL-10 and TNF- $\alpha$  in patients with bipolar disorder and schizophrenia: differences in pro- and anti-inflammatory balance. *Rev Bras Psiquiatr.* 2011; 33: 268–274.

Lewis DA, Levitt P. Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Annu Rev Neurosci.* 2002; 25: 409-32.

Lü LX, Guo SQ, Chen W, Li Q, Cheng J, Guo JH. [Effect of clozapine and risperidone on serum cytokine levels in patients with first-episode paranoid schizophrenia]. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao.* 2004; 24(11): 1251-4.

Mané A, García-Rizo C, Garcia-Portilla MP, Bergé D, Sugranyes G, Garcia-Alvarez L, Bernardo M, Bobes J, Fernandez-Egea E. Spanish adaptation and validation of the Brief Negative Symptoms Scale. *Compr Psychiatry.* 2014; 55(7): 1726-9.

Miller BJ, Buckley P, Seabolt W et al. Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects. *Biol Psychiatry* 2011; 70: 663-71.

Miller BJ, Culpepper N, Rapaport MH et al. Prenatal inflammation and neuro-development in schizophrenia: a review of human studies. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2013; 42: 92-100.

Miller BJ, Culpepper N, Rapaport MH. C-reactive protein levels in schizophrenia: a review and meta-analysis. *Clin Schizophr Relat Psychoses*. 2014; 7(4): 223-30.

Moore P, El-sherbeny A, Roon P, Schoenlein PV, Ganapathy V, Smith SB. Apoptotic cell death in the mouse retinal ganglion cell layer is induced in vivo by the excitatory amino acid homocysteine. *Exp Eye Res*. 2001; 73(1): 45-57.

Müller N, Empl M, Riedel M, Schwarz M, Ackenheil M. Neuroleptic treatment increases soluble IL-2 receptors and decreases soluble IL-6 receptors in schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 1997; 247(6): 308-13.

Müller N, Ackenheil M. Psychoneuroimmunology and the cytokine action in the CNS: implications for psychiatric disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1998; 22(1): 1-33.

Müller N, Riedel M, Gruber R, Ackenheil M, Schwarz MJ. The immune system and schizophrenia. An integrative view. *Ann N Y Acad Sci*. 2000; 917: 456-67.

Müller N, Riedel M, Ackenheil M, Schwarz MJ. Cellular and humoral immune system in schizophrenia: a conceptual re-evaluation. *World J Biol Psychiatry*. 2000; 1(4): 173-9.

Müller N, Schwarz MJ. [Immunology in schizophrenic disorders]. *Nervenarzt*. 2007; 78(3): 253-6, 258-60, 262.

Müller N, Schwarz MJ: Immune system and schizophrenia. *Curr Immunol Rev* 2010; 6: 213–220.

Noto CS, Gadelha A, Belangero SI, Smith MA, de Aguiar BW, Panizzuti B, Mari Jde J, Gama CS, Bressan RA, Brietzke E. Association of biomarkers and depressive symptoms in schizophrenia. *Neurosci Lett*. 2011; 505(3): 282-5.

Ohaeri JU, Hedo CC, Lagundoye OO. The profile of C-reactive proteins in functional psychotic states in a cohort in Nigeria. *Acta Psychiatr Scand*. 1993; 88(4): 252-5.

Okusaga OO. Accelerated aging in schizophrenia patients: the potential role of oxidative stress. *Aging Dis*. 2013; 5(4): 256-62.

Pedrini M, Massuda R, Fries GR, de Bittencourt Pasquali MA, Schnorr CE, Moreira JC, Teixeira AL, Lobato MI, Walz JC, Belmonte-de-Abreu PS, Kauer-Sant'Anna M, Kapczinski F, Gama CS.

Similarities in serum oxidative stress markers and inflammatory cytokines in patients with overt schizophrenia at early and late stages of chronicity. *J Psychiatr Res.* 2012; 46(6): 819-24.

Peralta Martín V, Cuesta Zorita MJ. Validation of positive and negative symptom scale (PANSS) in a sample of Spanish schizophrenic patients. *Actas Luso Esp Neurol Psiquiatr Cienc Afines.* 1994; 22(4): 171-7.

Pollmächer T, Hinze-Selch D, Mullington J. Effects of clozapine on plasma cytokine and soluble cytokine receptor levels. *J Clin Psychopharmacol.* 1996; 16(5): 403-9.

Potvin S, Stip E, Sepehry AA, Gendron A, Bah R, Kouassi E. Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol Psychiatry* 2008; 63: 801-808.

Rabinowitz J, Werbeloff N, Caers I, Mandel FS, Stauffer V, Menard F, Kinon BJ, Kapur S. Negative symptoms in schizophrenia--the remarkable impact of inclusion definitions in clinical trials and their consequences. *Schizophr Res.* 2013; 150(2-3): 334-8.

Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J Biol Chem.* 1991; 266(7): 4244-50.

Rathore N, John S, Kale M, Bhatnagar D. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in induced oxidative stress in rat tissues. *Pharmacol Res.* 1998; 38(4): 297-303.

Riegel RE, Valvassori SS, Moretti M, Ferreira CL, Steckert AV, de Souza B, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Intracerebroventricular ouabain administration induces oxidative stress in the rat brain. *Int J Dev Neurosci.* 2010; 28(3): 233-7.

Rougemont M, Do KQ, Castagné V. New model of glutathione deficit during development: Effect on lipid peroxidation in the rat brain. *J Neurosci Res.* 2002; 70(6): 774-83.

Sarró S, Dueñas RM, Ramírez N, Arranz B, Martínez R, Sánchez JM, González JM, Saló L, Miralles L, San L. Cross-cultural adaptation and validation of the Spanish version of the Calgary Depression Scale for Schizophrenia. *Schizophr Res.* 2004; 68: 349-56.

Schindler R, Mancilla J, Endres S, Ghorbani R, Clark SC, Dinarello CA. Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood.* 1990; 75(1): 40-7.

Schuld A, Kraus T, Haack M, Hinze-Selch D, Kühn M, Pollmächer T. Plasma levels of cytokines and soluble cytokine receptors during treatment with olanzapine. *Schizophr Res.* 2000; 43(2-3): 164-6.

Schwarz MJ, Muller N, Riedel M, et al. The Th2-hypothesis of schizophrenia: a strategy to identify a subgroup of schizophrenia caused by immune mechanisms. *Med Hypotheses*. 2001; 56: 483–486.

Singh B, Chaudhuri TK. Role of C-reactive protein in schizophrenia: an overview. *Psychiatry Res*. 2014; 216(2): 277-85.

Smith RS, Maes M. The macrophage-T-lymphocyte theory of schizophrenia: additional evidence. *Med Hypotheses* 1995; 45: 135-41.

Sommer IE, van Westrhenen R, Begemann MJ et al. Efficacy of anti-inflammatory agents to improve symptoms in patients with schizophrenia: an update. *Schizophr Bull* 2014; 40: 181-91.

Steiner J, Walter M, Glanz W, Sarnyai Z, Bernstein HG, Vielhaber S, Kästner A, Skalej M, Jordan W, Schiltz K, Klingbeil C, Wandinger KP, Bogerts B, Stoecker W. Increased prevalence of diverse N-methyl-D-aspartate glutamate receptor antibodies in patients with an initial diagnosis of schizophrenia: specific relevance of IgG NR1a antibodies for distinction from N-methyl-D-aspartate glutamate receptor encephalitis. *JAMA Psychiatry*. 2013; 70(3): 271-8.

Stojanovic A, Martorell L, Montalvo I, Ortega L, Monseny R, Vilella E, Labad J. Increased serum interleukin-6 levels in early stages of psychosis: associations with at-risk mental states and the severity of psychotic symptoms. *Psychoneuroendocrinology*. 2014; 41: 23-32.

Tilg H, Dinarello CA, Mier JW. IL-6 and APPs: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. *Immunol Today*. 1997; 18(9): 428-32.

Turnbull AV, Rivier CL. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol Rev* 1999; 79: 1–71.

Vuksan-Cusa B, Sagud M, Jakovljević M. C-reactive protein and metabolic syndrome in patients with bipolar disorder compared to patients with schizophrenia. *Psychiatr Danub*. 2010 ; 22(2): 275-7.

Weinberger DR. The biological basis of schizophrenia: new directions. *J Clin Psychiatry*. 1997; 58 Suppl 10: 22-7.

WHO. World Report on Disability 2011. Geneva: World Health Organization, 2011.

Wilke I, Arolt V, Rothermundt M, Weitzsch C, Hornberg M, Kirchner H. Investigations of cytokine production in whole blood cultures of paranoid and residual schizophrenic patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 1996; 246(5): 279-84.

Winter C, Djodari-Irani A, Sohr R, Morgenstern R, Feldon J, Juckel G, Meyer U. Prenatal immune activation leads to multiple changes in basal neurotransmitter levels in the adult brain:

implications for brain disorders of neurodevelopmental origin such as schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2009; 12(4): 513-24.

Wittchen HU, Jacobi F, Rehm J, Gustavsson A, Svensson M, et al. The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010. *Eur Neuropsychopharmacol* 2011; 21: 655–679.

Xiong P, Zeng Y, Wu Q, Han Huang DX, Zainal H, Xu X, Wan J, Xu F, Lu J. Combining serum protein concentrations to diagnose schizophrenia: a preliminary exploration. *J Clin Psychiatry.* 2014; 75(8): 794-801.

Xiu MH, Yang GG, Tan YL, Chen da C, Tan SP, Wang ZR, Yang FD, Okusaga O, Soares JC, Zhang XY. Decreased interleukin-10 serum levels in first-episode drug-naïve schizophrenia: relationship to psychopathology. *Schizophr Res.* 2014; 156: 9-14.

Zhang XY, Zhou DF, Zhang PY, Wu GY, Cao LY, Shen YC. Elevated interleukin-2, interleukin-6 and interleukin-8 serum levels in neuroleptic-free schizophrenia: association with psychopathology. *Schizophr Res* 2002; 57: 247–258.

Zhang M, Zhao Z, He L, Wan C. A meta-analysis of oxidative stress markers in schizophrenia. *Sci China Life Sci* 2010; 53: 112-24.

Zhong HJ, Peng L, Zhu YS, Dang J, Huo ZH. Association of the polymorphisms in the promoter region of tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 genes with schizophrenia. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 2011; 28(4): 427-31.

