

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO FACULDADE
DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica

OS MECANISMOS NEUROIMUNES DOS FÁRMACOS
ANTIPSIÓTICOS: UMA ABORDAGEM DE MEDICINA DE REDES
PARA O REPOSICIONAMENTO DE MEDICAMENTOS NO
TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA.

Zaira Maria de Sousa Pinheiro

Trabalho de Conclusão do Curso de
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de
Ciências Farmacêuticas da
Universidade de São Paulo.

Orientador(a): 
Prof. Dr Helder Takashi Imoto Nakaya

Co-orientador:
Dr. Thomaz Lüscher Dias

São Paulo
2023

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	1
RESUMO.....	2
1. INTRODUÇÃO.....	3
1.1. Definição, Epidemiologia e Tratamento da Esquizofrenia.....	3
1.2. Envolvimento dos processos imunológicos-inflamatórios no desenvolvimento da Esquizofrenia.....	6
1.3. Abordagens baseadas em rede: Definição e aplicações na descoberta de novos fármacos.....	7
1.4. Reposicionamento de fármacos e aplicação das abordagens baseadas em rede.....	10
2. OBJETIVOS.....	12
2.1. Objetivos específicos.....	12
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1. Obtenção do Conjunto de Dados.....	12
3.2. Genes relacionados aos principais medicamentos antipsicóticos.....	12
3.3. Genes associados à esquizofrenia a partir do Open Targets.....	13
3.4. Enriquecimento funcional dos alvos de cada fármaco e dos genes associados à esquizofrenia.....	14
3.5. Construção da rede de fármacos antipsicóticos.....	15
3.6. Cálculo das distâncias entre os genes da Esquizofrenia e os alvos dos antipsicóticos...	16
3.7. Visualização da rede de interação entre genes da esquizofrenia e com os alvos dos antipsicóticos.....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4.1. Obtenção do Conjunto de Dados.....	19
4.1.1. Seleção do banco de dados de genes relacionados aos principais medicamentos antipsicóticos.....	19
4.1.2. Seleção da quantidade de genes associados à esquizofrenia a partir de dados do Open Targets.....	22
4.2. Enriquecimento funcional dos alvos de cada fármaco e dos genes associados à esquizofrenia.....	24
4.3. Construção da rede de fármacos antipsicóticos.....	34
4.4. Cálculo das distâncias entre os genes da Esquizofrenia e os alvos dos antipsicóticos...	38
4.5. Construção da rede de alvos da esquizofrenia e interação com os alvos dos antipsicóticos.....	39
5. CONCLUSÕES.....	42
6. REFERÊNCIAS.....	44
7. ANEXOS.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AEA	Anandamida
APCs	Antipsicóticos
CTD	The Comparative Toxicogenomics Database
DGidb	The Drug Gene Interaction
ETC	Cadeia de transporte de elétrons mitocondrial
FDA	Food and Drug Administration
GABA	Ácido gama-aminobutírico
IL-4	Interleucina 4
IL-10	Interleucina 10
IFN- γ	Interferon gamma
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NMDA	N-methyl-D-aspartate
OMS	Organização Mundial da Saúde
SCZ	Esquizofrenia
TH1 e 2	Linfócitos <i>T helper</i> 1 e 2
THC	Tetra-hidrocarbinol
TNF	Fator de necrose tumoral
TRP	Transient Receptor Potential
OT	<i>Open Targets</i>
2-AG	2-araquidonoilglicerol
5-HT	5-hidroxitriptamina (Serotonina)

RESUMO

PINHEIRO, Z. M. S.. **Os mecanismos neuroimunes dos fármacos antipsicóticos: uma abordagem de medicina de redes para o reposicionamento de medicamentos no tratamento da esquizofrenia.** 2023. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Palavras-chave: Reposicionamento, Medicina de redes, Antipsicóticos, Esquizofrenia.

INTRODUÇÃO: A esquizofrenia envolve comprometimento cognitivo e processos imunológicos e inflamatórios. Anti-inflamatórios e certos antipsicóticos mostram benefícios no tratamento. Abordagens de rede podem acelerar a descoberta de novos fármacos. O estudo dos mecanismos neuroimunes é crucial para avançar no tratamento da esquizofrenia. **OBJETIVO:** Instigar os mecanismos neuroimunes dos medicamentos antipsicóticos utilizando uma abordagem de medicina de redes computacionais, bem como, uma busca por medicamentos ainda não utilizados para tratar a esquizofrenia que possam ter mecanismos neuroimunes similares àqueles encontrados para os antipsicóticos com melhor eficiência. **MATERIAL E MÉTODOS:** Para o desenvolvimento do projeto buscamos os genes relacionados à esquizofrenia e aos principais medicamentos antipsicóticos em bancos de dados públicos. Com a obtenção de uma rede de interação proteína-proteína foi possível analisar a relação entre genes alvos de antipsicóticos e genes associados à esquizofrenia a partir da construção de suas redes. **RESULTADOS:** A análise de Enriquecimento Genético Funcional revelou que a via de sinalização endocanabinóide retrógrada, envolvida na regulação da neurotransmissão e no controle da plasticidade sináptica, foi enriquecida com genes associados à esquizofrenia. Além disso, a via de sinalização dopaminérgica e as vias serotoninérgica e glutamatérgica também apresentaram associações com a esquizofrenia. A via de sinalização do fator de necrose tumoral (TNF) e a via de regulação do mediador inflamatório dos canais TRP foram destacadas, assim como a via de secreção salivar, que está relacionada aos efeitos adversos dos antipsicóticos. A análise da rede de fármacos antipsicóticos revelou informações que evidenciam a importância dessas metodologias na busca de combinações de terapias eficazes no tratamento de distúrbios psicóticos. Já a construção da rede de fármacos antipsicóticos mostrou alvos próximos à esquizofrenia. A construção da rede de alvos da esquizofrenia revelou uma região com genes relacionados à função mitocondrial e à cadeia de transporte de elétrons, indicando sua relevância na doença. O Elamipretide, um peptídeo com propriedades mitoprotetoras e antioxidantes, pode ser explorado como uma possível terapia para melhorar a função mitocondrial e reduzir o estresse oxidativo na esquizofrenia, embora mais pesquisas sejam necessárias para confirmar seu potencial terapêutico. **CONCLUSÃO:** Os resultados aqui apresentados indicam a importância das vias de sinalização endocanabinóide, dopaminérgica, serotoninérgica e glutamatérgica no desenvolvimento da esquizofrenia. A análise de redes de fármacos é uma ferramenta que pode ser útil na busca de combinações de terapias eficazes no tratamento de distúrbios psicóticos.. A função mitocondrial e o uso do Elamipretide mostram potencial terapêutico, mas mais pesquisas são necessárias.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Definição, Epidemiologia e Tratamento da Esquizofrenia

Segundo dados da OMS, a esquizofrenia afeta aproximadamente 24 milhões de pessoas ou 1 em cada 300 pessoas (0,32%) em todo o mundo. A principal preocupação desses pacientes é que a doença possa atrapalhar uma vida independente, seu convívio social e produtividade nos ambientes educacionais e de trabalho. Foi observado que indivíduos que alcançaram um bons níveis de manejo clínico dos sintomas apresentam vidas plenas e produtivas, esclarecendo a importância do tratamento desses pacientes.

A esquizofrenia é um transtorno mental que se caracteriza pelo comprometimento cognitivo progressivo de áreas envolvidas em atenção, memória de trabalho e funcionamento executivo. A doença se apresenta por múltiplos sintomas cognitivos, caracterizados clinicamente por sintomas positivos e negativos, desordens de humor, desorganização mental, além das deficiências cognitivas. Os sintomas positivos da esquizofrenia incluem a presença de ideias, percepções ou ações exageradas, alucinações e distúrbios do pensamento, que são o núcleo da doença (STĘPNICKI; KONDEJ; KACZOR, 2018). Pacientes com esquizofrenia podem apresentar episódios psicóticos, quando os pensamentos e percepções do indivíduo são perturbados levando-o a ter dificuldade em entender o que é real e o que não é. Os sintomas da psicose incluem delírios (crenças falsas) e alucinações (ver ou ouvir coisas que os outros não veem ou ouvem)(NATIONAL INSTITUTE OF MENTAL HEALTH, [s.d.]). Já os sintomas negativos estão relacionados a problemas cognitivos como a falta de funcionamento mental normal, falta de afeto e retraimento social, distúrbios de aprendizagem e atenção, (MCCUTCHEON; REIS MARQUES; HOWES; KAPUR, 2009). A presença de sintomas negativos também foi associada ao desenvolvimento de depressão em pacientes com esquizofrenia. (KRYNICKI *et al.*, 2018).

A esquizofrenia não tem etiologia clara, entretanto, sabe-se que existem muitos fatores envolvidos no desenvolvimento da doença, incluindo alterações de neurotransmissores, diminuição da plasticidade sináptica e diminuição do volume do hipocampo. A doença tem um componente genético bem estabelecido e é considerada de alta herdabilidade, o que aponta para um papel importante das variantes genéticas herdadas na etiologia da esquizofrenia (SULLIVAN;

KENDLER; NEALE, 2003). Atualmente os genes descobertos associados ao desenvolvimento da esquizofrenia estão envolvidos com a síntese de dopamina, regulação dos canais de cálcio, imunidade e neuro receptores de glutamato (SCHIZOPHRENIA WORKING GROUP OF THE PSYCHIATRIC GENOMICS CONSORTIUM, 2014). Estudos mostraram que existem outros componentes associados ao desenvolvimento da doença, como as interações gene-ambiente (VAN OS; RUTTEN; POULTON, 2008) e mecanismos epigenéticos, o que reflete o efeito de fatores ambientais. Dentre esses fatores, incluem-se complicações na gravidez e nascimento, traumas e adversidades sociais, classe social, isolamento, urbanicidade, uso de substâncias como psicoestimulantes e deficiências cognitivas e anormalidades estruturais do cérebro (STILO; MURRAY, 2019).

A hipótese mais estudada sobre a etiologia da doença é de que exista uma desordem na neurotransmissão de dopamina, mais precisamente a desregulação pré-sináptica da dopamina no sistema mesolímbico, causando os efeitos positivos, e na via mesocortical, responsável pelos sintomas negativos, (LARUELLE, 2014). A principal hipótese é de que os sintomas positivos estão associados à super ativação do receptor D2 de dopamina (DAVIS *et al.*, 1991). Os neurônios dopaminérgicos se projetam por diversas regiões do cérebro e o sistema dopaminérgico mesocorticolímbico desempenha um papel importante na regulação da função emocional e cognitiva (CSERNANSKY *et al.*, 1991). Os receptores de dopamina D2 são inibitórios e desempenham um papel fundamental na regulação da atividade dos neurônios dopaminérgicos e controlam a síntese, liberação e captação de dopamina. A ativação desses receptores diminui tanto a excitabilidade dos neurônios dopaminérgicos quanto a liberação de dopamina (JACKSON; WESTLIND-DANIELSSON, 1994). A hipótese mais aceita atualmente é de que os sintomas negativos e cognitivos resultam da hipoestimulação do receptor D1 de dopamina do córtex pré-frontal devido à diminuição das projeções mesocorticais de dopamina (LAU *et al.*, 2013).

O sistema dopaminérgico é dividido em três sistemas, a partir de suas projeções, os sistemas mesocorticolímbico, estriatonigral e tuberoinfundibular. Esses sistemas desempenham papéis críticos em ações neuronais que vão desde a cognição, locomoção e processamento de recompensa até a função neuroendócrina (BEAULIEU; GAINETDINOV, 2011). Essa hipótese é corroborada pela ação de estimulantes no sistema nervoso central. Drogas como a

anfetamina, um agonista do receptor de dopamina D2, podem aumentar a liberação de dopamina o que causa sintomas psicóticos (HOWES; KAPUR, 2009). Um estudo utilizando o método de tomografia computadorizada de emissão de fótons mediu a liberação de dopamina induzida por anfetamina no estriado de quinze pacientes com esquizofrenia e quinze controles saudáveis e foi encontrado aumento da atividade de dopamina no estriado e efeito elevado da anfetamina sobre os receptores de dopamina do tipo D2 (LARUELLE *et al.*, 1996).

Outro ponto que sustenta a hipótese dopaminérgica como principal etiologia da esquizofrenia é que o tratamento farmacológico da doença consiste principalmente no uso de fármacos antipsicóticos (APCs), desde meados da década de 1950, chamados de antipsicóticos típicos ou de primeira geração (por exemplo, clorpromazina e haloperidol). Na década de 1990, novos medicamentos antipsicóticos, chamados de antipsicóticos de segunda geração ou “atípicos” (SGAs), foram desenvolvidos, sendo eles a clozapina, risperidona, olanzapina, ziprasidona, quetiapina, amisulprida, sertindol, lurasidona, paliperidona, iloperidona, asenapina, aripiprazol e, mais recentemente, brexpiprazol, cariprazina e zotepina (ROGNONI; BERTOLANI; JOMMI, 2021). A principal ação desses fármacos ocorre sob o receptor de dopamina D2, antagonizando-os. Os efeitos de fármacos depletors da dopamina, como a risperidona, reforçam a hipótese dopaminérgica, por terem ação na redução dos sintomas psicóticos. (LALLY; MACCABE, 2015).

Apesar da grande gama de medicamentos usados para o tratamento da esquizofrenia sua eficácia ainda é baixa para alguns pacientes, principalmente sobre os sintomas negativos da doença. Os agentes mais novos parecem mais eficazes do que a farmacologia convencional na redução desses sintomas, provavelmente por agir nas causas secundárias dos sintomas negativos (MARIC *et al.*, 2016). O bloqueio do receptor de dopamina se mostra necessário, mas nem sempre suficiente para a resposta antipsicótica pois esses fármacos atuam apenas em um aspecto da etiologia da doença. Melhorias foram relatadas com moléculas que atuam em outros receptores (glutamato, glicina, canabinoide, estrogênio), proteínas de sinalização intracelular ou produtos de genes de risco identificados (MARIC *et al.*, 2016). Evidências mais recentes destacam o papel da neurotransmissão glutamatérgica disfuncional no desenvolvimento de sintomas cognitivos e negativos, sendo uma complementação à hipótese dopaminérgica. A

hipótese glutamatérgica considera alterações na conectividade neuronal pré-frontal envolvendo a neurotransmissão glutamatérgica no receptor N-metil-d-Aspartato (NMDA) (LARUELLE, 2014).

1.2. Envolvimento dos processos imunológicos-inflamatórios no desenvolvimento da Esquizofrenia

A partir da década de 2010 houve o desenvolvimento nas pesquisas de psicose fomentado pela descoberta do envolvimento de processos imunológicos e inflamatórios no desenvolvimento da esquizofrenia (KHANDAKER *et al.*, 2015). Foi descoberto que as moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe I estão envolvidas na regulação de componentes importantes do desenvolvimento do cérebro, como a formação das sinapses, processo neuronal e plasticidade homeostática (SCHAFER *et al.*, 2012). Estudos de associação genômica ampla mostraram que a associação mais significativa é com múltiplas variantes altamente correlacionadas no complexo principal de histocompatibilidade (MHC). Este *locus* contém muitos genes que não estão envolvidos na função imune, mas dados preliminares sugerem que variantes associadas com esquizofrenia também são enriquecidos em regiões genômicas fora do MHC que estão potencialmente envolvidas na imunidade adquirida, em *loci* envolvidos no desenvolvimento de células B (SCHIZOPHRENIA WORKING GROUP OF THE PSYCHIATRIC GENOMICS CONSORTIUM, 2014). Outro achado importante é a relação do MHC classe I com o receptor de glutamato NMDA, como um modulador essencial em sua função e no tráfico do receptor de glutamato AMPA (receptor alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazol propiônico) no sistema nervoso central dos mamíferos (FOURGEAUD *et al.*, 2010).

Estudos recentes, mostraram associações claras entre o risco de desenvolver transtornos psicóticos e infecções ou presença de doença autoimune (KÖHLER-FORSBERG *et al.*, 2019, BENROS *et al.*, 2014, CULLEN *et al.*, 2019 e NIMGAONKAR *et al.*, 2020), que apontam para hipótese do envolvimento do sistema imunológico no desenvolvimento da esquizofrenia. De acordo com os resultados de estudos em animais, citocinas pró-inflamatórias elevadas durante a gravidez foram associadas a um risco aumentado de esquizofrenia (ALLSWEDE *et al.*, 2016). Todos esses achados são somados aos benefícios recentemente demonstrados dos tratamentos anti-inflamatório na psicose (PANDURANGI; BUCKLEY, 2020). Um estudo de 2016 mostrou um efeito terapêutico significativo

do celecoxib, um conhecido agente anti-inflamatório que inibe seletivamente a ciclooxigenase (COX)-2, usando o modelo de esquizofrenia induzida por anfetaminas em ratos (EL-SAYED EL-SISI *et al.*, 2016).

Outra relação importante entre a farmacologia da esquizofrenia e os fatores neuroimunes é que alguns APCs também possuem uma ação significativa no sistema imune. Estudos com culturas celulares sugerem que o tratamento com APCs (haloperidol, quetiapina e clonazepam) é capaz de alterar funções imunológicas, aumentando os níveis de citocinas anti-inflamatórias (IL-4 e IL-10) e diminuindo os níveis de citocinas pró-inflamatórias (IFN- γ) (AL-AMIN; NASIR UDDIN; MAHMUD REZA, 2013). Uma estudo clínico, realizado com o objetivo de investigar alterações das citocinas TH1 e TH2 antes e após o tratamento antipsicótico em pacientes com esquizofrenia, mostrou uma redução significativa nos níveis basais de citocinas do braço TH-2 após o tratamento com APCs (PAE *et al.*, 2006). A clozapina, antipsicótico mais efetivo atualmente no tratamento da esquizofrenia, vem sendo descrito como um potente anti-inflamatório e neuroprotetor capaz de regular a ativação da microglia - células imunológicas do cérebro (HU *et al.*, 2012 e CEYLAN *et al.*, 2021). Também foi relatada a capacidade da clozapina de modular a produção de citocinas inflamatórias como IL-6, IL-10 e IFN- γ em células do sangue periférico (SONG *et al.*, 2000 e PATERSON *et al.*, 2006).

Uma explicação para essa relação entre o tratamento da esquizofrenia e o envolvimento do sistema imunológico se dá pelo fato de que algumas doenças compartilham alvos biológicos por vezes comuns e que a expressão de um único gene é capaz de controlar várias características. A existência desse efeito pleiotrópico dos alvos moleculares é a base científica do reposicionamento de fármacos, ou seja, o uso de um medicamento em uma indicação diferente daquela para a qual foi inicialmente comercializado (JOURDAN *et al.*, 2020).

1.3. Abordagens baseadas em rede: Definição e aplicações na descoberta de novos fármacos

As abordagens racionais baseadas em rede surgem como uma alternativa promissora para acelerar o processo de descoberta de novos fármacos e reposicionamento. Estratégias baseadas em rede já foram usadas para identificar possíveis terapias combinadas para o tratamento de hipertensão (CHENG; KOVÁCS; BARABÁSI, 2019) e na identificação de novas associações

fármaco-doença (CHENG *et al.*, 2018). LÜSCHER DIAS *et al.*, 2020, utilizou-se de uma abordagem de medicina de rede para investigar as características moleculares dos transtornos psiquiátricos neurológicos (depressão, transtorno bipolar, esquizofrenia, demência e doença de Alzheimer, ansiedade, doença de Huntington e doença de Parkinson) e para identificar novos candidatos a medicamentos para reposicionamento.

O conceito de redes é baseado na interconectividade entre diferentes componentes e suas interdependências para explicar um resultado, como por exemplo, as redes sociais. (BOEZIO *et al.*, 2017). A ideia é a de modelar um sistema real como um mapa de pontos e linhas interconectados representando o conjunto de elementos e o conjunto de relacionamentos entre eles, respectivamente, sendo muitas vezes representações simplificadas de sistemas complexos. Os elementos de uma rede são chamados de nós (**Figura 1**), são as entidades que constroem todo esse sistema de rede, já as conexões entre eles são as arestas (**Figura 1**) (RECANATINI; CABRELLE, 2020, CSERMELY *et al.*, 2013 e ZLATIC; GHOSHAL; CALDARELLI, 2009).

Quando se trata de redes biológicas, os nós são as entidades críticas no sistema sob investigações e são geralmente alvos moleculares (genes, proteínas), compostos (fármacos) ou doenças, com suas relações inferidas a partir de interações estruturais (por exemplo, interações proteína-proteína), correlação (por exemplo, redes de co-expressão) ou dependências condicionais (por exemplo, redes bayesianas) (TRUONG *et al.*, 2022). As arestas nas redes biológicas denotam as relações entre os nós e dizem respeito a natureza das interações entre essas entidades (interações, associações, semelhança) (DE SILVA; STUMPF, 2005). Outros elementos importantes de uma rede biológica são os módulos (**Figura 1**), que são os grupos de nós intimamente conectados. O número de conexões diretas que um nó tem com outros nódulos é denominado de grau e os nós com mais altos graus dentro de uma rede são os Hubs (**Figura 1**), o que significa que eles têm o maior número de conexões (TRUONG *et al.*, 2022). Um exemplo de uma rede biológica são as redes de interação proteína-proteína (PPI), também definidos como “*interactomas*”. PPIs são redes de proteínas e as interações físicas entre elas, capaz de fornecer informações sobre propriedades topológicas gerais das interações das proteínas e as posições de proteínas específicas dentro dessa rede (CUSICK *et al.*, 2005).

As redes biológicas são definidas a partir das interações existentes dentro dessa rede, podendo ser redes doença-gene, gene-gene ou proteína-proteína e fármaco-gene. As redes doença-gene dizem respeito a interação entre uma doença e os genes associados ao desenvolvimento dessa doença, levando em consideração que uma doença raramente é uma consequência simples de uma anormalidade em um único gene, mas reflete a interação de múltiplos processos moleculares. As proteínas associadas à doença tendem a se agrupar na mesma região do interactoma, formando um módulo de doença, isto é, um subgrupo conectado que contém grande parte dos determinantes moleculares de uma doença, (MENCHE *et al.*, 2015). Essa metodologia assume que todos os componentes celulares que pertencem ao mesmo módulo topológico, funcional ou de doença têm uma alta probabilidade de estarem envolvidos na mesma doença. (BARABÁSI; GULBAHCE; LOSCALZO, 2011). As redes fármaco-gene dizem respeito a interação entre os fármacos e seus alvos, a maioria dos alvos são proteínas codificadas a partir de genes, havendo então uma interação fármaco-gene (ZHU *et al.*, 2018) . Os genes alvos de um fármaco também se agrupam na mesma região do interactoma, formando um aglomerado chamado módulo do fármaco (CHEN; ZHOU, 2021).

Para as redes biológicas, a distância entre cada nó fornece informações significativas, como por exemplo, CHENG *et al.*, 2019 que usou o conceito de proximidade de rede para avaliar a significância da distância de rede entre os alvos de um fármaco e os genes associados a uma determinada doença. Dentro dos módulos, existem diversos nós com distâncias distintas entre eles e essa distância é representada pelo número de arestas entre um determinado nó A e outro nó B, podendo existir múltiplas distâncias com diferentes números de arestas. O conceito de redes baseia-se sempre na menor distância entre um nó e outro, então se, por exemplo, entre um nó A e B existirem as distâncias com quantidade de arestas 3, 4, e 5, sempre que falarmos da distância entre A e B estaremos nos referindo à distância com 3 arestas (TRUONG *et al.*, 2022).

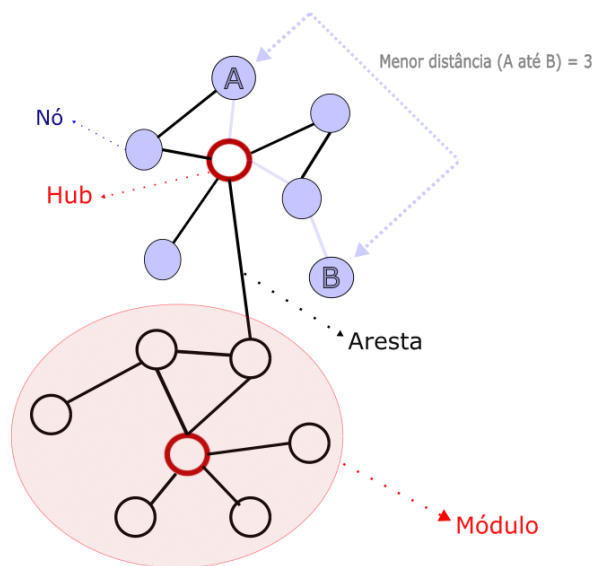


Figura 1. Principais elementos de uma rede. Os nós (círculos) são conectados por meio de arestas (linhas). *Hubs* são os nós com o maior número de conexões. A distância mais curta entre o nó A e B é o caminho com o número mínimo de arestas de A até B. Adaptada de TRUONG *et al.*, 2022.

A detecção da comunidade topológica e abordagens baseadas em proximidade de rede já foram usadas na identificação de novas associações de doenças-fármacos (CHENG *et al.*, 2018 e UDRESCU *et al.*, 2016) e para identificar combinações de medicamentos sinérgicos que aumentam a eficácia terapêutica sem toxicidade aditiva (CHENG; KOVÁCS; BARABÁSI, 2019).

1.4. Reposicionamento de fármacos e aplicação das abordagens baseadas em rede

A medicina de redes é uma abordagem que utiliza a teoria das redes complexas para estudar e compreender os sistemas biológicos e suas interações. A medicina de redes tem sido aplicada em diversas áreas do desenvolvimento de fármacos, incluindo a descoberta de biomarcadores, o estudo de doenças complexas e a identificação de alvos terapêuticos (BARABÁSI, 2007). A abordagem se mostrou positiva na aplicação para reposicionamento de fármacos, a exemplo do estudo Project Repethio, em que os autores relatam a construção de uma rede heterogênea para captar as conexões entre medicamentos e doenças e seu uso para prever novas associações de fármacos/doenças como possibilidade de reposicionamento de medicamentos conhecidos (HIMMELSTEIN *et al.*, 2016). O reposicionamento de fármacos consiste em reaproveitar um insumo farmacêutico ativo que já está no mercado para uma nova indicação

(JOURDAN *et al.*, 2020).

De forma geral, as abordagens baseadas em redes podem contribuir no conhecimento dos mecanismos imunológicos envolvidos na fisiopatologia da esquizofrenia e na forma de ação dos medicamentos utilizados para tratá-la, possibilitando novas abordagens de tratamento que visam uma ação no sistema imunológico (como anti-inflamatórios) e o reposicionamento de fármacos já existentes.

Neste projeto, serão investigados os mecanismos neuroimunes dos medicamentos antipsicóticos utilizando uma abordagem de medicina de redes computacionais. Também serão feitas buscas por medicamentos ainda não utilizados para tratar a esquizofrenia que possam ter mecanismos neuroimunes similares àqueles encontrados para os APCs com melhor eficiência.

2. OBJETIVOS

Esse trabalho tem como objetivo instigar os mecanismos neuroimunes dos medicamentos antipsicóticos utilizando uma abordagem de medicina de redes computacionais, bem como, uma busca por medicamentos ainda não utilizados para tratar a esquizofrenia que possam ter mecanismos neuroimunes similares àqueles encontrados para os antipsicóticos com melhor eficiência.

2.1. Objetivos específicos

- Construir uma rede de alvos dos APCs e da doença Esquizofrenia;
- Determinar a distância entre os módulos de APCs e o módulo de da doença Esquizofrenia;
- Analisar os genes do módulo da doença Esquizofrenia, genes alvos de APCs e outros genes relevantes da rede, a fim de encontrar aqueles relacionados com vias/processos biológicos interessantes
- A partir dos resultados obtidos, ser capaz de prever fármacos com ação neuroimune para o reposicionamento para tratamento da esquizofrenia

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Obtenção do Conjunto de Dados

3.2. Genes relacionados aos principais medicamentos antipsicóticos

Atualmente 21 fármacos antipsicóticos são aprovados pelo FDA para o uso no tratamento da esquizofrenia, com diferentes mecanismos de ação e perfis de efeitos colaterais. Usando como referência uma revisão sistemática e metanálise que comparou a eficácia e tolerabilidade dos APCs aprovados pelo FDA, selecionamos os 15 fármacos com maior eficácia em relação a mudanças nos sintomas (HUHN et al., 2020). Com essa lista realizamos a filtragem dos alvos desses fármacos em bancos de dados de interação droga-gene.

Para obter os genes associados aos medicamentos partimos de 3 bancos de dados de interações droga-gene:

O DrugBank (<https://go.drugbank.com/>) que contém dados de fármacos (com perfis químicos, farmacêuticos e farmacológicos) e alvos de fármacos (sequência e funções de alvo/enzima/transportador/portador) destinados como enciclopédia de medicamentos (Wishart *et al.*, 2006). O DGidb (<https://www.dgidb.org/>) uma base com dados de genes com interações medicamentosas conhecidas (COTTO *et al.*, 2017). Por fim, coletamos os dados da base de dados CTDbase (ctdbase.org) que relaciona informações toxicológicas de produtos químicos, genes, fenótipos, doenças e exposições, integrando interações baseadas na literatura com atualizações bienais (DAVIS *et al.*, 2022). Para manipulação dos bancos de dados foi desenvolvido o script em R '*manipulate_banks.R*'. Este script limpa e organiza o conjunto de dados provenientes dos 3 bancos, contendo todos os genes associados aos APCs selecionados.

3.3. Genes associados à esquizofrenia a partir do Open Targets

Em seguida, buscamos por genes associados à esquizofrenia utilizando o banco de dados Open Targets, que agrega evidências de diferentes categorias, como associação genética, expressão gênica e modelos animais para associar genes a doenças (REF OPEN TARGETS). O Open Targets atribui um escore de confiança para cada associação gene-doença, de acordo com a robustez das evidências científicas que dão suporte a cada relação. Todos os genes associados à esquizofrenia foram obtidos juntamente com o escore de confiança de cada associação. Os genes com escore de confiança maior que 0.5 foram inicialmente rotulados como os principais genes associados à doença. A manipulação do banco de dados do Open targets foi realizada usando o script em R: *manipulate_open_target.R*.

3.4. Priorização do banco de dados de interação droga-gene

Os 3 bancos de dados de associação droga-gene (DrugBank, DGidb e CTD) foram comparados quanto à quantidade de genes alvos dos 15 APCs selecionados em relação aos genes associados à esquizofrenia com escore de confiança maior que 0.5. Foi utilizado o teste exato de Fisher para determinar a significância estatística da sobreposição entre genes alvos de cada fármaco obtidos em cada banco e os genes da esquizofrenia (escore >

0.5) obtidos no Open Targets usando os scripts em R '*compare_datasets.R*' e *enrichment_analysis.R*. Os resultados do valor de p (escala entre 0 e 1) do teste exato de Fisher foram convertidos para $-\log$ do valor de p (escala de 0 a infinito) para melhor visualização. Os valores de $-\log$ de p são uma medida da significância estatística da sobre-representação dos genes nos conjuntos de dados. Quanto menor o valor de p, maior é a probabilidade de que a associação entre o conjunto de genes alvos dos fármacos e os genes da esquizofrenia seja real. O melhor banco de dados de alvos de fármacos foi aquele em que o enriquecimento dos alvos dos APCs em relação aos principais genes de esquizofrenia foi máximo (menor valor de p).

3.5 Seleção dos principais genes de esquizofrenia associados a antipsicóticos

Para avaliar o conjunto de genes associados à esquizofrenia com maior enriquecimento para alvos de APCs, foi realizado um teste exato de Fisher usando todos os 5.093 genes da doença obtidos no Open Targets em relação a um pool contendo todos os genes associados aos 15 APCs advindos do Drugbank. A lista de genes da esquizofrenia foi ordenada com base no escore de confiança do Open Targets, sendo agrupada em lotes incrementais de 10 genes cada (ou seja, os primeiros 10, 20, 30 genes e assim sucessivamente). Para cada lote, calculamos o valor p do teste de Fisher em relação ao conjunto de genes-alvo dos APCs. O lote de genes que apresentasse o menor valor de p indicaria o grupo de genes associados à doença que está mais enriquecido em relação aos alvos de fármacos. A análise de enriquecimento funcional com o pool de genes também foi realizada para os bancos de dados do CTD e DGIdb.

3.4. Enriquecimento funcional dos alvos de cada fármaco e dos genes associados à esquizofrenia.

Após a seleção do banco de dados de informações sobre os fármacos e dos principais genes associados à esquizofrenia, realizamos o enriquecimento funcional destes genes visando identificar vias biológicas estatisticamente associadas a eles. Todos os genes codificadores de proteína do genoma humano (~20.000 genes) foram utilizados como universo para a análise de

enriquecimento. A análise de enriquecimento genético funcional foi realizada usando o script em R: `path_enrichment_analysis.R`. A análise usou identificadores dos genes de interesse, nesse caso o arquivo com os genes alvos da doença obtido pelo Open Targets e o arquivo dos genes relacionados aos APCs obtidos pelo DrugBank, e um conjunto de genes de referência utilizando a ontologia KEGG pathways (<https://www.genome.jp/kegg/>). A função `fora` do pacote `fgsea` (<https://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/fgsea.html>) foi usada no enriquecimento.

3.5. Construção da rede de fármacos antipsicóticos

Para a construção da rede de distâncias entre os APCs usamos o script `network_proximity.py` do repositório do GitHub do AFnetproximity <https://github.com/ChengF-Lab/AFnetproximity/tree/main/proximity>. Essa ferramenta calcula a proximidade entre diferentes conjuntos de genes com base na topologia da rede de interação proteína-proteína humana (LAL *et al.*, 2022). O algoritmo utiliza como entrada pares de listas de genes alvos (podendo ser os genes da doença ou dos fármacos) e uma rede de interação de proteínas. Aqui, foi utilizada a rede de interação proteína-proteína publicada por Gysi *et al.*, 2021. Em seguida, o script calcula as distâncias entre os genes de cada lista, utilizando a medida de caminho mínimo (*shortest path*) na rede de interação de proteínas. Essa medida representa o número mínimo de interações que são necessárias para conectar dois genes na rede. O script então calcula a distância média entre os genes alvos em cada conjunto e compara esse valor à distância média obtida a partir de 1000 listas aleatórias de genes com propriedades de rede similares àquelas dos genes alvo (mesma distribuição de grau). Com isso, um z-score é calculado, que representa o quão distantes (valores positivos) ou próximos (valores negativos) os genes das listas de entrada estão entre si comparados à média das distâncias de milhares de conjuntos aleatórios de genes. Caso o z-score seja próximo de 0, isso significa que os conjuntos de genes testados não estão nem mais nem menos próximos entre si do que o esperado ao acaso para a rede utilizada. Em termos biológicos, isso significa que provavelmente não há uma relação funcional relevante entre esses conjuntos de genes.

O script foi baixado e rodado no terminal após a instalação da biblioteca *numpy pandas scipy*. Foi criado um arquivo .txt para cada um dos 15 fármacos contendo seus genes alvos. Para que o script fosse capaz de comparar a proximidade de rede entre pares de arquivos relacionados a fármacos, foi criado um novo script em Python: *proximity_drug_drug.py*, que busca todos os arquivos .txt de diretório especificado e armazena-os. Esse script utiliza uma estrutura de repetição em um bloco while para iterar sobre a lista de arquivos de genes para cada antipsicótico e continua até que todos os arquivos tenham sido comparados pelo script *network_proximity.py*.

O script retorna uma matriz de proximidade de rede entre os alvos dos pares de APCs que foi usada para visualizar as relações entre eles. Essa matriz foi importada em uma ferramenta de visualização de redes, o Gephi 0.10.1 (<https://gephi.org/>), para gerar uma visualização gráfica das distâncias de rede entre os alvos dos diferentes pares de APCs.

3.6. Cálculo das distâncias entre os genes da Esquizofrenia e os alvos dos antipsicóticos

Usamos o script em python *network_proximity.py* para calcular as distâncias entre os 15 APCs considerando os genes alvos e os genes relacionados com a esquizofrenia obtidos no Open Targets. Foram usados como entrada, além dos 15 arquivos .txt com os genes associados aos fármacos, um arquivo .txt com os 220 genes associados à esquizofrenia que apresentam maior enriquecimento para alvos de APCs. Para que o script fosse capaz de comparar a proximidade de rede entre os genes dos fármacos e os genes da doença, foi criado um novo script em Python: *proximity_drug_disease.py*, que busca todos os arquivos .txt de diretório especificado e armazena-os. Esse script utiliza uma estrutura de repetição em um bloco while para iterar sobre a lista de arquivos de genes para cada antipsicótico e continua até que todos os arquivos tenham sido comparados com o arquivo de genes da esquizofrenia pelo script *network_proximity.py*. Em resumo, o script automatiza a comparação de genes de fármacos e doenças usando o script "network_proximity_edit.py", executando-o para cada arquivo de fármacos encontrado no diretório especificado. O resultado é registrado em um arquivo de saída, uma matriz de distância contendo o nome do fármaco, a distância de rede D em relação aos genes da esquizofrenia, e o escore de Z normalizado para cada

fármaco, que leva em consideração a distribuição das distâncias entre conjuntos aleatórios de genes, como descrito anteriormente. Também é atribuído um valor de p associado a cada fármaco, que indica a significância estatística da proximidade do fármaco com a esquizofrenia. Após obter os valores de distância no arquivo, foi usado um script em R para criar um gráfico de barras comparando os valores de Z-score absoluto.

3.7. Visualização da rede de interação entre genes da esquizofrenia e com os alvos dos antipsicóticos

Para a construção da rede de interação foi necessário definir os nós e as arestas dessa rede. Os nós, representações dos genes presentes nos conjuntos de dados, foi definido a partir de um script em R. O script '*network.analysis.R*', carrega os dados de genes relacionados à doença (*disease_genes*), informações sobre alvos de fármacos (*drug_targets*), informações sobre vocabulário de fármacos (*drug_vocabulary*) e informações sobre interações proteína-proteína (PPI). Foi criado então um pool com os genes alvos dos fármacos e outro com os alvos da doença. O script também cria uma tabela de arestas, que são representações das interações proteína-proteína (PPI) entre os genes, a tabela *PPI_subset*, que contém informações sobre as arestas, especificamente as conexões entre os nós. A intenção desses dois arquivos é espelhar os genes da doença e alvos dos fármacos na rede PPI buscando identificar a relação entre eles (**Figura 2**). Esses arquivos foram inseridos no Gephi para visualização da conexão com os nós interagindo entre si, permitindo uma análise visual das conexões e padrões na rede de genes relacionados à esquizofrenia e ao pool de genes alvos dos antipsicóticos (**Figura 9**).

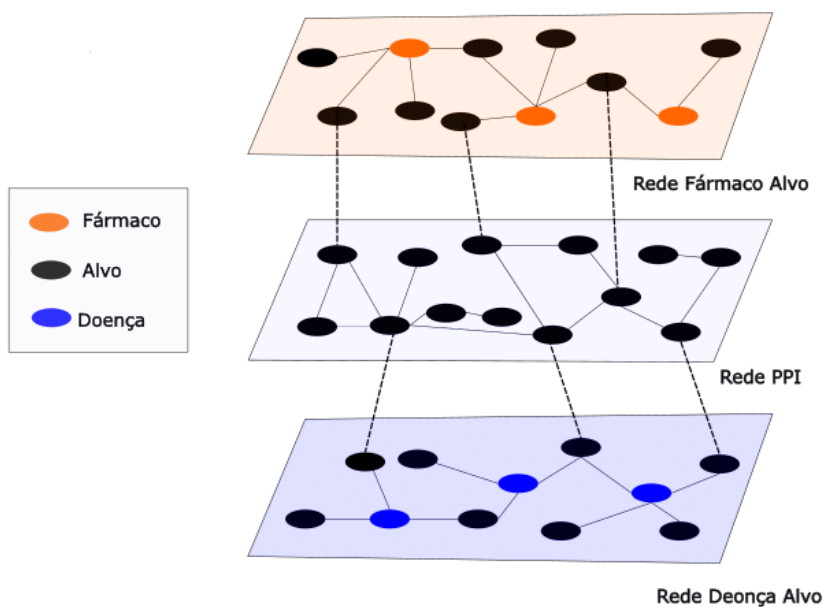


Figura 02. Conceito de integração entre a rede de interações proteína-proteína, os genes relacionados à doença e os alvos dos fármacos. Rede PPI: Representa a rede de interações proteína-proteína (PPI), mostrando as conexões entre os genes. As arestas (linhas) representam as interações entre os genes, e os nós (círculos) representam os genes. Essa rede é central na figura e serve como base para as outras duas redes. Rede de Doenças: Representa a rede de genes relacionados à doença - esquizofrenia. Os nós (círculos) nessa rede representam os genes associados à doença, e as conexões com a rede PPI mostram quais desses genes estão presentes na rede de interações proteína-proteína. Rede de Alvos dos Fármacos: Representa a rede de genes alvo dos fármacos. Os nós (círculos) nessa rede representam os genes que são alvos dos fármacos utilizados no tratamento da doença. As conexões com a rede PPI mostram quais desses genes estão presentes na rede de interações proteína-proteína.

Adaptada de TRUONG *et al.*, 2022.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Obtenção do Conjunto de Dados

4.1.1. Seleção do banco de dados de genes relacionados aos principais medicamentos antipsicóticos

Os 3 bancos de dados analisados, DrugBank, CTD e DGldb, apresentam uma variedade significativa na quantidade de genes alvos de APCs disponíveis (**Figura 3A**). O Drugbank e o DGldb apresentam genes alvos para todos os fármacos (Fig. 3A). Tanto o DrugBank quanto a DGldb usam dados experimentais e validados para compilar suas informações sobre fármacos e interações gene-fármacos, variando apenas pelas fontes de dados das informações e periodicidade de atualização dos dados. Já o CTD apresenta uma grande quantidade de genes alvos para fármacos, entretanto apenas para 7 dos 15 APCs (**Figura 3A**). A base de dados CTD coleta dados de literatura científica, revisões sistemáticas e banco de dados públicos para integrar informações sobre interações entre genes, baseada em um processo de triagem sistemática de artigos científicos. A explicação para haver muitos genes alvos para alguns fármacos é que as informações do CTD se concentram em interações entre genes e produtos químicos que podem ter efeitos tóxicos no organismo, além de interações terapêuticas. Portanto, o CTD pode incluir informações sobre genes-alvo que não são considerados diretamente relevantes para o tratamento de uma doença, mas que têm uma relação com a toxicidade de um determinado produto químico.

Em seguida, genes associados à esquizofrenia foram obtidos do banco de dados OpenTargets. Um total de 5093 genes foram obtidos, sendo que 200 desses genes apresentavam um escore de confiança maior que 0.5. Com o objetivo de comparar os três bancos de dados de alvos de fármacos, realizamos uma análise de enriquecimento dos genes alvos de APCs de cada banco em relação aos 200 genes associados à esquizofrenia obtidos no Open Targets que possuíam escore de confiança maior que 0.5. O menor enriquecimento médio dos alvos de APCs em relação aos genes de esquizofrenia foi encontrado para os alvos do banco de dados CTD (**Figura 4B**), indicando que para esse banco de dados os alvos dos APCs não estão significativamente sobre-representados em relação aos genes da doença. O resultado mais significativo (menor p-valor

médio) foi observado para os genes alvos obtidos pelo banco de dados Drugbank, o que indica que os genes alvos de APCs disponíveis neste banco estão mais fortemente associado aos genes da esquizofrenia. A partir dessa análise concluímos que o banco de dados genético utilizado seria o Drugbank, pois os dados estavam mais enriquecidos para os genes da esquizofrenia.

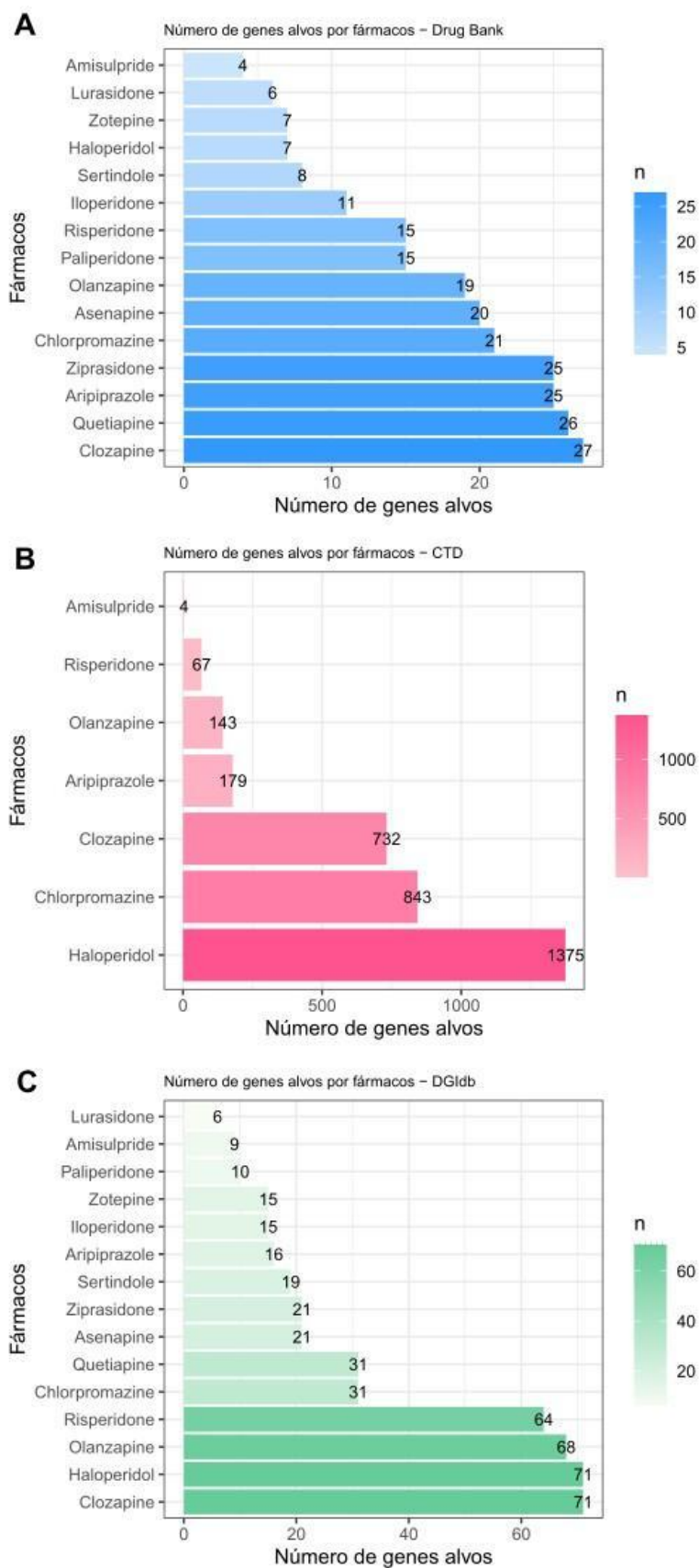


Figura 3. Número de genes alvos para os 15 antipsicóticos selecionados. Ampla

variação de genes alvos nos 3 bancos de dados, com o **A.** Drugbank e **C.** DGldb apresentando genes alvos para todos os fármacos e sem diferenças significativas entre eles. O **B.** CTD apresenta uma grande quantidade de genes alvos, mas apenas para 7 dos 15 antipsicóticos.

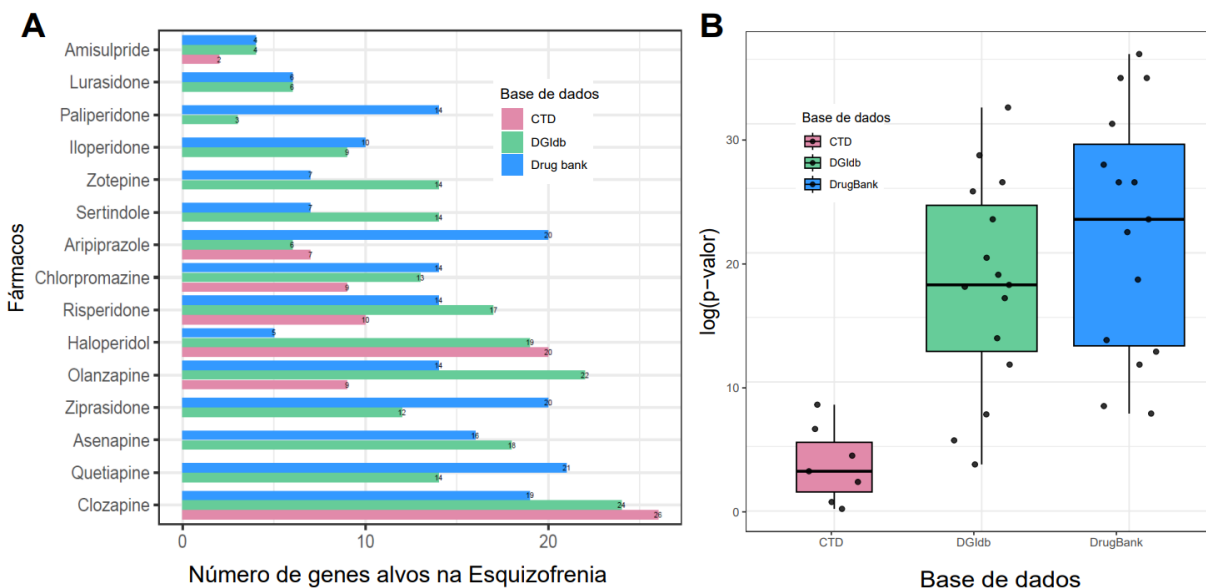


Figura 4. Comparação dos bancos de interação droga-gene em relação aos genes de esquizofrenia. A. Quantidade de genes alvos de 15 antipsicóticos e que também são associados com a esquizofrenia. O gráfico de barras mostra que o Drugbank e DGldb possuem quantidades semelhantes de genes associados à esquizofrenia que são alvos desses 15 fármacos. O CTD apresenta alta variabilidade, com uma grande quantidade de genes associados à esquizofrenia como alvo de alguns fármacos (por exemplo, Clozapina e Haloperidol) e uma quantidade muito baixa comparada aos outros bancos de dados (por exemplo, Clorpromazina e Risperidona). **B. Análises de enriquecimento dos alvos de antipsicóticos de cada banco de dados em relação aos genes de esquizofrenia para genes associados à esquizofrenia.** O menor enriquecimento foi encontrado para os genes do banco de dados CTD, enquanto o resultado mais significativo foi observado para os genes do banco de dados Drugbank, indicando maior associação desses genes à esquizofrenia.

4.1.2. Seleção da quantidade de genes associados à esquizofrenia a partir de dados do Open Targets

Após a decisão de utilizar o DrugBank como referência, foram utilizados os genes alvos desse banco para determinar o número ideal de genes associados à esquizofrenia obtidos do Open Targets para prosseguir com a análises. Uma vez que o corte de escore de confiança maior que 0.5 foi decidido de forma arbitrária para comparar os bancos de alvos de drogas, essa análise teve como objetivo verificar se de fato os 200 primeiros genes da doença ofereciam o maior enriquecimento para genes alvo de APCs. Os resultados da análise de

enriquecimento estão apresentados no gráfico (**Figura 5A**).

O ponto máximo de enriquecimento foi encontrado para um número de genes igual a 220. Esses dados são satisfatórios pois indicam que com uma quantidade pequena de genes, comparada a quantidade inicial de mais de 5 mil genes, conseguimos um enriquecimento máximo. Essa análise também corrobora que o corte de escore de confiança de 0.5, apesar de arbitrário, correspondeu a um conjunto de genes relevantes para o propósito das nossas análises. A partir desses dados definimos que o projeto seria conduzido com os 220 genes de esquizofrenia que ofereciam o maior enriquecimento para alvos de APCs do DrugBank.. Para o CTD observamos que o enriquecimento não atinge um valor superior àquele obtido para o Drugbank, já para o DGldb esse ponto máximo só ocorre para uma corte de genes superior à 3500 genes. Esses resultados reforçam que nesse caso o melhor banco de dados é o Drugbank (**Figura 6A e 6B**).

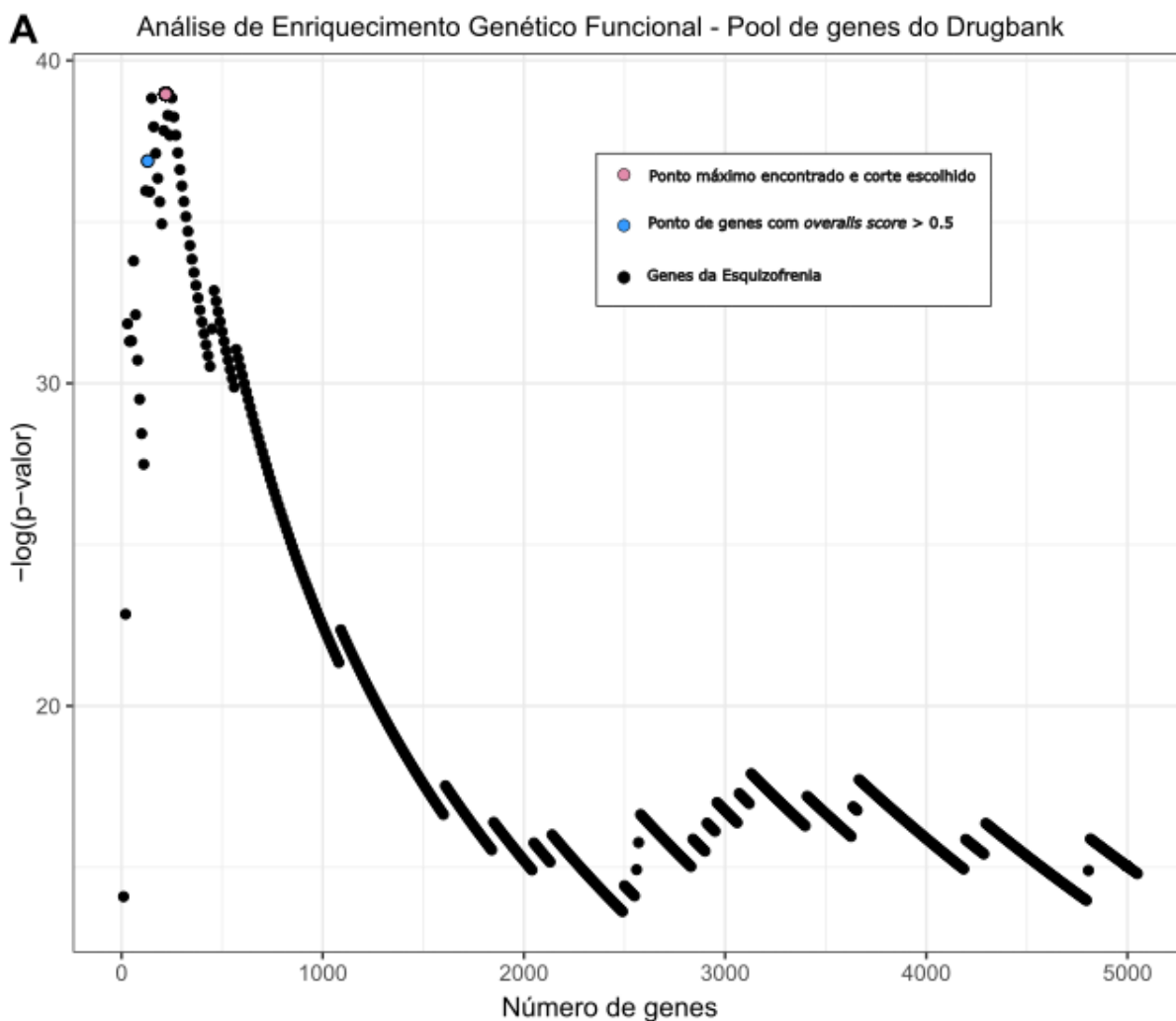


Figura 5. Análise de enriquecimento para o pool de genes associados aos 15 fármacos antipsicóticos obtidos do Drugbank, com diferentes cortes de genes associados à esquizofrenia. Os primeiros 220 genes de esquizofrenia do Open Targets possuem maior enriquecimento para genes alvo de antipsicóticos. O ponto em rosa representa o ponto máximo de enriquecimento (ponto de corte escolhido). Em azul o enriquecimento para o corte de genes com *score de confiança* do Open Targets > 0.5 (200 genes). Em preto temos todos os genes associados à Esquizofrenia obtidos do Open Targets.

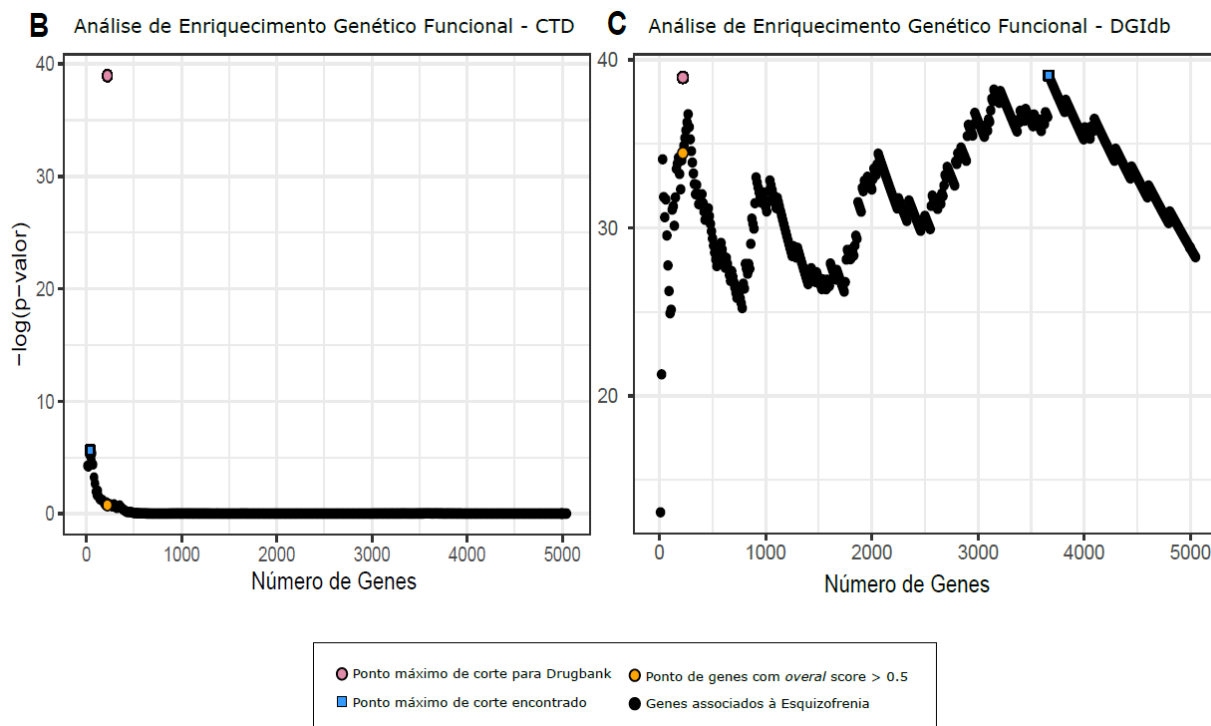


Figura 6. Análise de enriquecimento para o pool de genes associados aos 15 fármacos antipsicóticos obtidos do DGIdb e C. do CTD. O quadrado em azul representa o ponto máximo de corte encontrado para o enriquecimento para alvos da esquizofrenia. O ponto em rosa representa o ponto máximo de enriquecimento obtido usando os dados do CTD. Em amarelo o enriquecimento para o corte de genes com *overall score* do Open Targets > 0.5 (os 200 genes). Em preto temos todos os genes associados à Esquizofrenia obtidos do Open Targets.

4.2. Enriquecimento funcional dos alvos de cada fármaco e dos genes associados à esquizofrenia.

Uma vez que foram obtidos os alvos de APCs e genes associados à esquizofrenia ideais, foi feita a análise de enriquecimento funcional desses genes. Essa análise foi útil para entender as vias biológicas e os processos celulares em que os genes de interesse estão envolvidos (**Figura 7A e 7B**).

Primeiro foi realizada a análise para os genes associados à esquizofrenia. A

via com maior enriquecimento foi a de sinalização endocanabinóide retrógrada (**Figura 8**). Este é um mecanismo de sinalização celular em que o neurotransmissor endocanabinóide, anandamida, ou seu análogo exógeno, o delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), age como um mensageiro que se move na direção oposta ao fluxo normal de informação neuronal (ALGER, 2002). Essa via atua como um mecanismo de feedback negativo, regulando a liberação de neurotransmissores, e foi sugerido que anormalidades nessa via podem contribuir para os sintomas cognitivos e comportamentais da esquizofrenia (LUPICA; RIEGEL, 2005). Até agora, o papel fisiológico mais proeminente e mais bem estudado para essa classe de moléculas é como mensageiro sináptico retrógrado. Os neurotransmissores canabinoides são liberados dos neurônios pós-sinápticos após a despolarização, ativam os receptores CB1 localizados nos terminais axônicos pré-sinápticos e, assim, inibem a liberação do neurotransmissor. Essa ação endocanabinóide explora, portanto, a distribuição onipresente de receptores CB1 nos terminais axônicos em todo o cérebro, permitindo que os neurônios pós-sinápticos regulam suas próprias entradas sinápticas em função de seu nível relativo de atividade (ALGER, 2002, WILSON, 2002). A via de sinalização endocanabinóide retrógrada pode modular a neurotransmissão GABAérgica regulando a liberação de GABA dos terminais pré-sinápticos. Além disso, interneurônios GABAérgicos no cérebro expressam receptores CB1, e a ativação desses receptores pode modular a neurotransmissão GABAérgica (**Figura 8A**). (LEWIS; MOGHADDAM, 2006, GONZALEZ-BURGOS; LEWIS, 2012, TAMMINGA; HOLCOMB, 2005). Estudos têm demonstrado alterações na função GABAérgica em pacientes com esquizofrenia, incluindo redução da atividade de enzimas envolvidas na síntese e na degradação do GABA, bem como alterações nos receptores de GABA. Essas disfunções na modulação GABAérgica têm sido associadas a sintomas como déficits cognitivos, alterações na percepção sensorial e perturbações na integração neuronal (LEWIS; HASHIMOTO, 2007), sugerindo que anormalidades na via endocanabinóide retrógrada podem contribuir para os sintomas cognitivos e comportamentais da esquizofrenia.

Outros genes associados a via de sinalização endocanabinóide retrógrada encontrados no enriquecimento para a esquizofrenia foram os genes da família NDUF que codificam subunidades do complexo NADH desidrogenase (ubiquinona), também conhecido como complexo I, que é um componente chave

da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial (ETC) (**Figura 8A**) (CARDOL, 2011). O complexo 1 está envolvido na sinalização endocanabinóide retrógrada através da fosforilação oxidativa nas mitocôndrias no terminal inibitório da via (Kanehisa and Goto, 2000). As mitocôndrias do terminal inibitório possuem receptores CB1 acoplados à proteína G, que são ativados pela anandamida (AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG), e ativam indiretamente o complexo 1. Estudos demonstraram que anormalidades na função mitocondrial e na biogênese, que está intimamente ligada à ETC, podem contribuir para o desenvolvimento da esquizofrenia. A disfunção mitocondrial pode levar à diminuição da produção de energia e estresse oxidativo, que por sua vez pode levar a danos neuronais e morte. Além disso, o ETC está envolvido na regulação dos níveis de cálcio intracelular, que desempenham um papel crucial na sinalização neuronal e na plasticidade sináptica (Morris *et al.*, 2018. Prabakaran *et al.*, 2004). Mitocôndrias disfuncionais têm sido associadas a uma variedade de distúrbios neurológicos e psiquiátricos, incluindo esquizofrenia (REFS).

O gene CACNA1C está envolvido na via de sinalização endocanabinóide retrógrada e possui associação genética com o desenvolvimento da esquizofrenia (“Open Targets Platform”, [s.d.]). Esse gene está envolvido na codificação da subunidade alfa-1C do canal de cálcio dependente de voltagem tipo L, que é importante na sinalização de cálcio nos neurônios, o influxo de cálcio através desses canais é acoplado a vias de sinalização que estimulam a expressão de genes essenciais para a sobrevivência e plasticidade neuronal (HARRISON *et al.*, 2022, DOLMETSCH, 2001)(**Figura 8A**). Estudos sugeriram que variações genéticas no gene CACNA1C podem contribuir para o desenvolvimento da esquizofrenia, alterando a sinalização de cálcio e a liberação de neurotransmissores (BILLINGSLEY *et al.*, 2018). O gene CACNA1C é um componente crucial da sinalização do sistema endocanabinoide, através da regulação da expressão gênica de canais de cálcio dependentes de voltagem (LTCC), que por sua vez afeta a excitabilidade neuronal e a plasticidade sináptica (LAZARY *et al.*, 2021). A expressão diferencial de CACNA1C foi associada ao risco de desenvolver esquizofrenia (BIGOS *et al.*, 2010). Essa associação sugere que o distúrbio pode ser parcialmente uma canalopatia iônica, com possíveis envolvimento dos canais de cálcio. Alguns medicamentos antiepilépticos usados para controlar os sintomas da esquizofrenia afetam os canais de sódio ou cálcio

dependentes de voltagem (JOHANNESSEN LANDMARK, 2008).

O enriquecimento também enfatizou a relação de alguns sistemas de neurotransmissão com a esquizofrenia (Figura 7A). Além das vias de sinalização GABAérgica e Dopaminérgica já citadas, foram encontradas associações genéticas entre as vias serotoninérgica e glutamatérgica (**Figura 8B**). O principal grupo de genes foram os de tipo HTR que codifica uma proteína receptora de serotonina. As evidências ainda não são muito claras, mas diversos estudos sugerem que os receptores de serotonina (5-HT) estão alterados na esquizofrenia (**Figura 8B**) (STAHL, 2018). Uma metanálise investigou 46 artigos científicos de associação entre variações genéticas no gene transportador de serotonina (SLC6A4) e o risco de desenvolver esquizofrenia. O estudo descobriu que uma variação específica no gene SLC6A4 estava associada a um risco aumentado de desenvolver esquizofrenia, e que essa variação também estava associada a alterações na função cerebral em regiões envolvidas na neurotransmissão serotoninérgica (XU; WANG; YAO, 2018). Essa meta-análise também mostrou que uma variação no gene HTR2A está associada a um risco aumentado de desenvolver esquizofrenia em populações europeias, mas não em populações do Leste Asiático ou Africano. Outro estudo publicado em 2008 encontrou uma associação entre uma variação no gene HTR3A e o risco de esquizofrenia em uma população chinesa (GU *et al.*, 2008).

Anormalidades na neurotransmissão glutamatérgica também têm sido implicadas na patogênese da esquizofrenia. Especificamente, foi proposto que a disfunção do subtipo de receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) dos receptores de glutamato desempenha um papel fundamental nos sintomas cognitivos e psicóticos da esquizofrenia (**Figura 8B**) (STAHL, 2018). Alguns estudos investigaram a associação entre variações genéticas em genes relacionados ao sistema glutamatérgico e o risco de esquizofrenia. Um estudo publicado em 2021 mostrou que uma variação no gene que codifica a subunidade GRIN2A do receptor NMDA estava associada com o início precoce da esquizofrenia. (POLTAVSKAYA *et al.*, 2021). Outros achados mostraram associações entre variações em outros genes relacionados ao sistema glutamatérgico, como genes que codificam o transportador de glutamato EAAT2 e a subunidade do receptor de cainato GRIK4, e o risco de esquizofrenia (PARKIN *et al.*, 2018, LI *et al.*, 2008).

Tentando entender os mecanismos neuro imunes envolvidos na com a esquizofrenia verificamos o enriquecimento dos genes da doença para a via de sinalização do fator de necrose tumoral (TNF) (Figura 7A), que é uma rede de interações moleculares que regulam vários processos celulares, incluindo apoptose, inflamação e respostas imunes. A via envolve a ligação do TNF aos seus receptores, o que desencadeia uma série de eventos de sinalização intracelular mediados por múltiplas proteínas quinases, fatores de transcrição e outras moléculas de sinalização (CHEN, 2002). Um dos alvos da via de sinalização do TNF é o gene AKT3, que codifica uma serina/treonina quinase chamada AKT (também conhecida como proteína quinase B ou PKB). A ativação da via de sinalização do TNF pode estimular a atividade do AKT3 induzindo sua fosforilação e translocação para a membrana plasmática, onde interage com outras moléculas de sinalização e regula os efetores a jusante. O AKT3 também pode modular a via de sinalização do TNF regulando a atividade de vários fatores de transcrição e outras moléculas de sinalização envolvidas na via (**Figura 8C**) (MANNING; TOKER, 2017). A sinalização AKT-GSK3 beta é um alvo do lítio e, como tal, tem sido implicada na patogênese dos transtornos de humor. Estudos mostram evidências de que essa via de sinalização também desempenha um papel na esquizofrenia (REF). Estudos genéticos psiquiátricos identificaram *loci* significativos em todo o genoma para a esquizofrenia. O locus AKT3/1q44 é a principal região de risco e as análises de rede genética identificam os polimorfismos AKT3 como constituintes de várias vias neurobiológicas relevantes para o risco psiquiátrico entretanto os mecanismos neurobiológicos permanecem desconhecidos (HOWELL; FLOYD; LAW, 2017).

Em seguida, analisamos também as principais vias relacionadas aos APCs a partir do enriquecimento dos genes alvos desses fármacos (**Figura 7B**). O principal sistema de neurotransmissão encontrado foi a via de sinalização dopaminérgica. Os principais genes alvos encontrados relacionados com essa via foram aqueles que codificam o receptor de dopamina (**Figura 8D**) (MISSALE *et al.*, 1998). Esse achado já é esperado, pois a principal hipótese para a etiologia da doença é de que os sintomas positivos estão associados à super ativação do receptor D2 de dopamina e os sintomas negativos e cognitivos resultam da hipoestimulação do receptor D1 de dopamina (DAVIS *et al.*, 1991, LAU *et al.*, 2013). Os APCs têm como principal alvo os receptores dopaminérgicos,

principalmente os subtipos D2. Eles bloqueiam a ação da dopamina nesses receptores se ligando a eles de forma antagonista, reduzindo a neurotransmissão dopaminérgica e, portanto, diminuindo a hiperatividade dopaminérgica (SEEMAN, 2002).

A via de regulação do mediador inflamatório dos canais TRP também foi encontrada na análise do enriquecimento funcional (**Figura 8E**). Os principais genes associados a essa via que são alvos dos APCs são os que codificam os receptores de serotonina. A serotonina é sintetizada tanto pelos neurônios quanto pelos mastócitos (NAUTIYAL *et al.*, 2012), sendo os mastócitos a relação direta com a via de regulação do mediador inflamatório dos canais TRP (do inglês *Transient Receptor Potential*). Estas proteínas estão envolvidas em diversas funções fisiológicas, incluindo a regulação de mediadores inflamatórios, como o TNF- α , a Interleucina-1 beta (IL-1 β) e as Prostaglandinas (BAUTISTA *et al.*, 2006). A serotonina liberada pelos mastócitos após lesão tecidual ativa os receptores de serotonina que agem indiretamente sobre os canais TRP, modulando a resposta inflamatória (**Figura 8E**). Evidências funcionais enfatizaram os papéis principais dos receptores metabotrópicos 5-HT₂ e 5-HT₇ na sinalização de dor e coceira no sistema nervoso periférico. A ativação de ambos os receptores leva à potencialização da função TRPV1, o que provavelmente contribui para a hiperalgesia inflamatória em ratos (OHTA *et al.*, 2006). Uma revisão publicada em 2017 mostrou o papel imunomodulador da serotonina periférica (HERR; BODE; DUERSCHMIED, 2017). Um estudo com medições baseadas em eletroforese capilar com detecção de fluorescência nativa indicou uma contribuição significativa de serotonina para o meio hipocampal associada à ativação de mastócitos em camundongos (NAUTIYAL *et al.*, 2012). Essa relação pode ser uma hipótese para explicar o uso na prática clínica dos APCs atípicos risperidona, olanzapina, quetiapina, ziprasidona e aripiprazol no tratamento de várias condições de dor crônica (RICO-VILLADEMOROS; CALANDRE; SLIM, 2014). O gene HRH1 também está associado com a via de regulação do mediador inflamatório dos canais TRP e é alvo da maioria dos APCs selecionados. Esse gene codifica o receptor de histamina H1. A ativação do receptor histamínico H1 pode levar à liberação de mediadores inflamatórios, como a prostaglandina E2 (PGE₂), que pode ativar a cascata de sinalização intracelular envolvida na modulação dos canais TRP. Por outro lado, a ativação

dos canais TRP pode levar à liberação de neurotransmissores e mediadores inflamatórios, incluindo a histamina, que pode retroalimentar e modular a resposta inflamatória (PARENTI *et al.*, 2016). Os fármacos APCs têm ação antagonista nesse alvo, e em sua maioria a ação farmacológica é pouco conhecida (FELL *et al.*, 2012). Uma possível ação da antagonização do receptor histamínico H1 sob essa via seria a diminuição da atividade dos canais TRP que, por sua vez, poderia levar a uma redução na liberação de mediadores inflamatórios, como a PGE2, se relacionando com estudos utilizando APCs no tratamento da dor e da inflamação. (PANDURANGI; BUCKLEY, 2019, JIMENEZ; SUNDARARAJAN; COVINGTON, 2018). No entanto, é importante ressaltar que o receptor histamínico H1 está envolvido em muitos outros processos fisiológicos além da regulação dos canais TRP e sua inibição pode ter efeitos colaterais indesejados, como por exemplo o efeito da Olanzapina e Quetiapina nos receptores H1 do cérebro humano bloqueando o sistema histaminérgico central em humanos, o que reduz a ativação de neurônios responsáveis pela promoção da vigília e aumenta a ativação de neurônios que promovem o sono, resultando em sonolência e fadiga (SATO *et al.*, 2015).

Em relação aos eventos adversos dos APCs, nossa análise encontrou enriquecimento de alvos para a via de secreção salivar (**Figura 8F**), sendo principalmente genes associados à resposta de noradrenalina no nervo simpático que possui um papel importante na secreção de eletrólitos, água e proteínas pelas células salivares. É sabido que existe alteração na taxa de fluxo salivar em pacientes que fazem uso de medicamentos APCs, levando a efeitos adversos como boca seca ou salivação excessiva (SCULLY CBE, 2003, MAHER *et al.*, 2016). Uma revisão publicada em 2019 buscou entender a mediação genética por trás da alteração do fluxo salivar em pacientes com esquizofrenia que fazem uso de APCs (MOHANDOSS; THAVARAJAH, 2019). O principal achado está relacionado com a ação desses fármacos no sistema nervoso simpático na via de secreção salivar (**Figura 8F**).

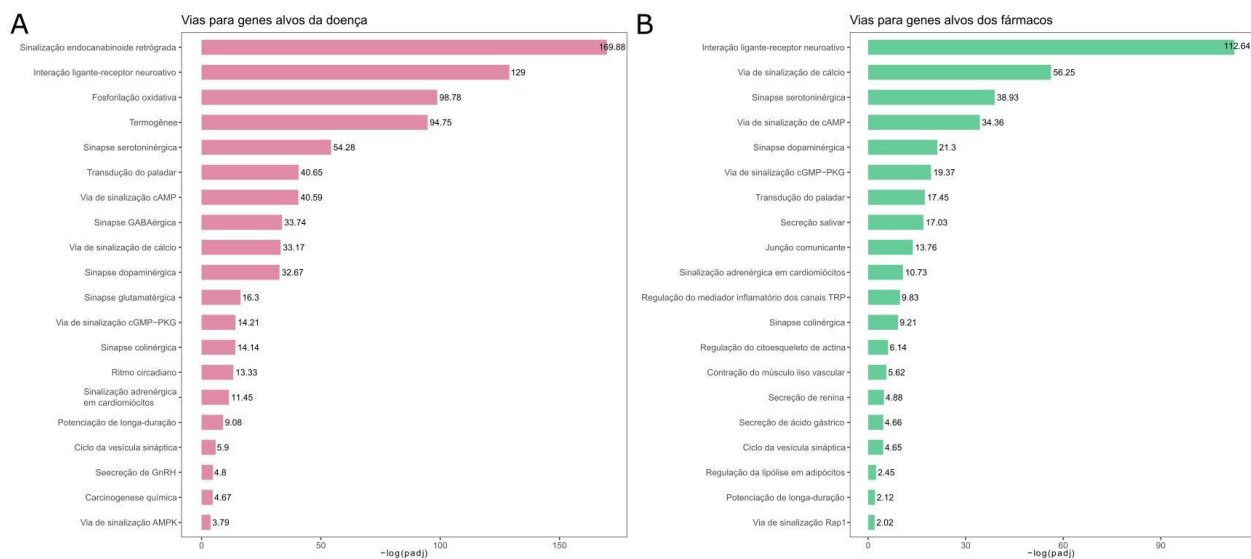


Figura 07A. Gráfico de barras com o resultado da análise de enriquecimento genético funcional com 220 genes associados à esquizofrenia contendo as 20 vias mais enriquecidas, representadas pelos valores de p. Três vias foram selecionadas para aprofundamento: a via de sinalização endocanabinóide retrógrada, a via serotoninérgica e glutamatérgica e a sinalização do TNF, **B.** Resultado da análise de enriquecimento genético funcional com 44 genes associados aos 15 antipsicóticos, com 20 vias mais enriquecidas, representadas por um gráfico de barras com valores de p. Três vias foram selecionadas para aprofundamento: via de sinalização dopaminérgica, via de regulação do mediador inflamatório dos canais TRP e via de secreção salivar.

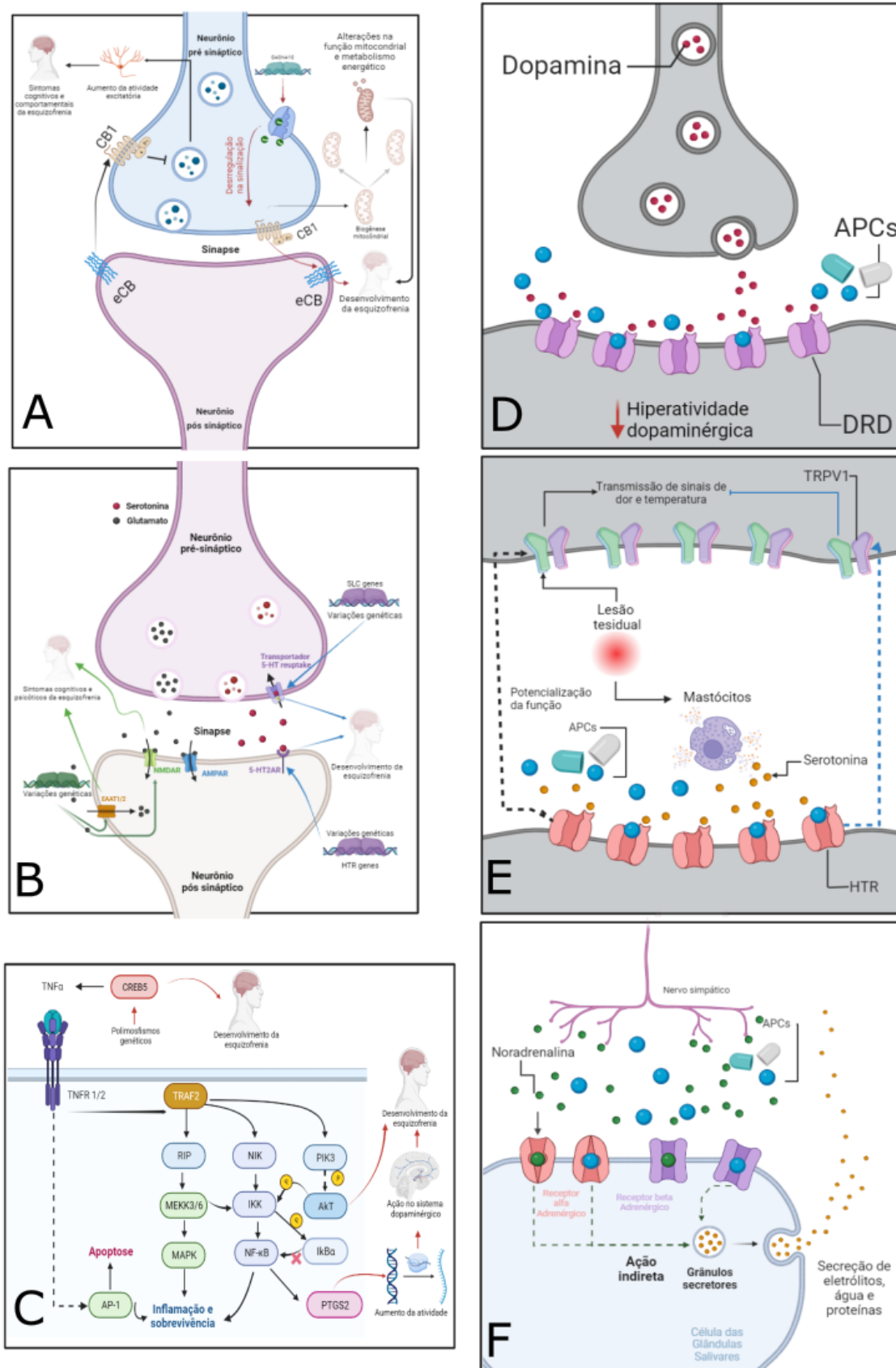


Figura 8. Esquemas que mostram a relação genética com as vias e a esquizofrenia (A, B e C) e com os alvos de antipsicóticos (D, E e F). A. A principal via é a de sinalização relacionada aos genes da doença é a

endocanabinóide retrógrada, a qual regula a liberação de neurotransmissores e pode contribuir para sintomas cognitivos e comportamentais da esquizofrenia. O gene CACNA1C, associado ao desenvolvimento da esquizofrenia, está envolvido nessa via. Além disso, outros genes associados ao complexo NADH desidrogenase (ubiquinona) também estão envolvidos na sinalização endocanabinóide retrógrada, que é mediada pela fosforilação oxidativa nas mitocôndrias no terminal inibitório da via. **B.** A via serotoninérgica está associada aos genes HTR que codificam proteínas receptoras de serotonina, enquanto a via glutamatérgica está relacionada à disfunção do subtipo NMDA dos receptores de glutamato. **C.** A via de sinalização do TNF envolve a regulação de processos celulares, incluindo apoptose, inflamação e respostas imunes, sendo um dos alvos dessa via o gene AKT3. **D.** Foi identificada a via dopaminérgica como o principal sistema de neurotransmissão afetado pelos antipsicóticos, agindo principalmente nos receptores dopaminérgicos D2. **E.** Além disso, foi encontrada uma relação entre a regulação inflamatória dos canais TRP e os receptores de serotonina, e entre os receptores histamínicos H1 e a modulação dos canais TRP. Essas relações podem ajudar a explicar a ação dos antipsicóticos em condições de dor e inflamação. **F.** Os antipsicóticos afetam principalmente genes associados à resposta de noradrenalina no nervo simpático, que tem um papel importante na secreção de eletrólitos, água e proteínas pelas células salivares.

4.3. Construção da rede de fármacos antipsicóticos

Após a análise funcional dos genes alvo de medicamentos APCs, analisamos a distância entre os alvos de cada uma das drogas na rede de interação de proteínas humana. Com essa análise, é possível identificar potenciais semelhanças nos mecanismos dos diferentes fármacos para além da comparação direta entre os seus alvos. Fármacos que atingem genes próximos na rede de proteínas, mesmo que não compartilhem alvos, possivelmente apresentam mecanismos de ação similares. Em contrapartida, fármacos que atingem alvos distantes entre si, provavelmente possuem mecanismos distintos.

Os fármacos que apresentaram menor distância entre si foram a Paliperidona e a Risperidona ($D = 0,026$, Figura 9). A risperidona é um derivado do benzisoxazol e a paliperidona ou 9-hidroxi-risperidona é o principal metabólito ativo da risperidona. As duas moléculas se diferem apenas pela presença de um grupo hidroxila ($-OH$) na posição 9 na risperidona, o que confere diferentes propriedades químicas e físicas ao fármaco. Ambas têm os mesmo alvos genéticos diferindo apenas pela força de interação entre eles (CORENA-MCLEOD, 2015). É sabido que a associação de paliperidona com risperidona pode aumentar os eventos adversos desses medicamentos, como sonolência, sedação, ganho de peso, disfunção metabólica, alterações hormonais, como aumento dos níveis de prolactina e efeitos extrapiramidais (ORTIZ-ORENDAIN et al., 2017). O segundo fármaco mais próximo da risperidona é a lloperidona ($D = 0,389$, Figura 9), um derivado de piperidinil-benzisoxazol estruturalmente relacionado à risperidona (CACCIA; PASINA; NOBILI, 2010). Essa molécula se difere das outras pela incorporação de um ligante de três carbonos entre a piperidina e a porção aromática trissubstituída e a introdução de um flúor na posição 6 do anel benzisoxazol, diminuindo a afinidade a receptores muscarínicos e histamínicos (MACDONALD; BARTOLOMÉ, 2010).

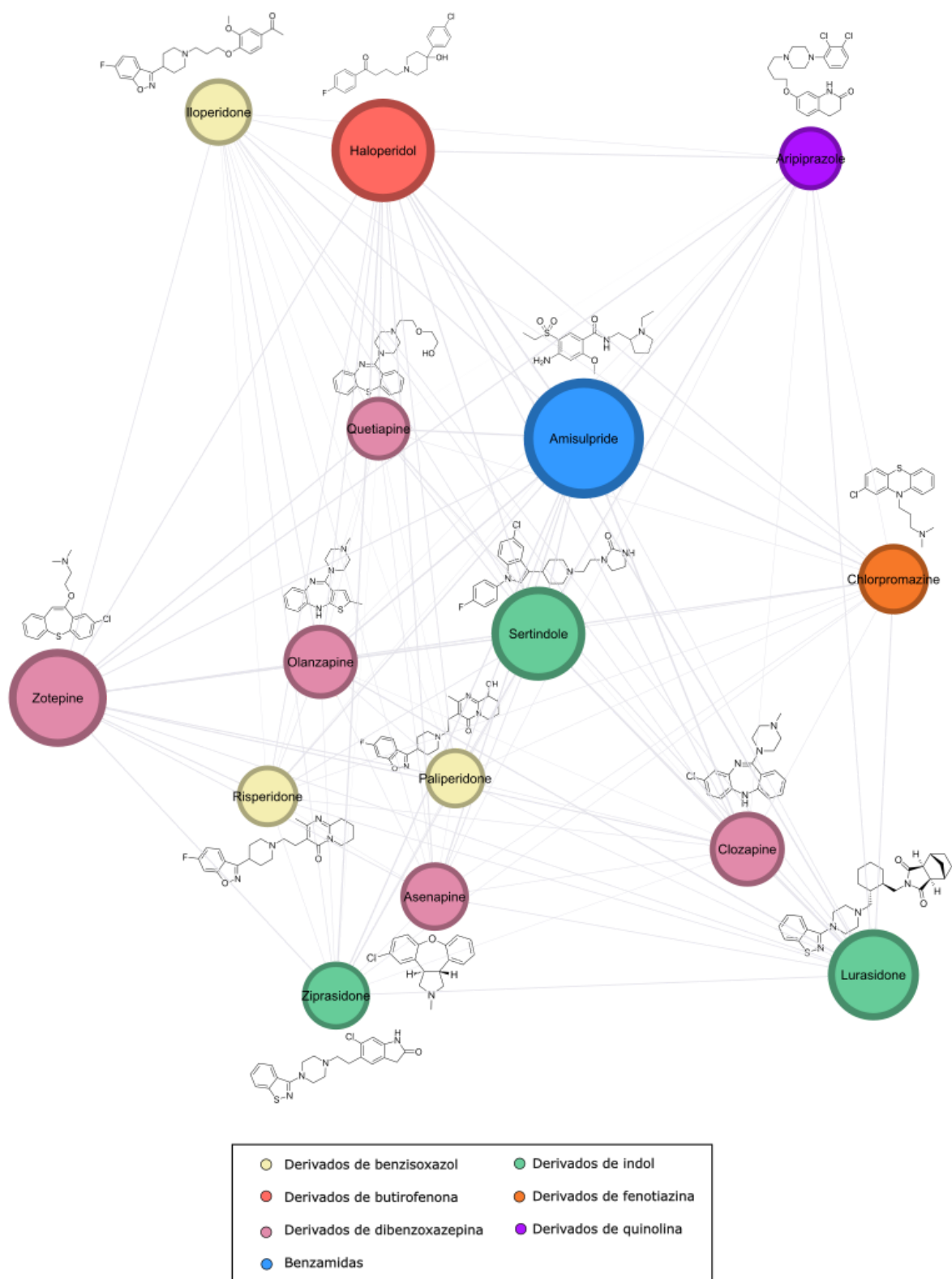
Os fármacos que apresentaram maior distâncias entre si foram a Amisulprida e a Clozapina ($D = 1,932$, Figura 9). A Clozapina possui 27 alvos genéticos conhecidos (DRUGBANK, 2005), comparado a 4 da Amisulprida (DRUGBANK, 2005), sendo esses 27 de grande variedade como receptores de dopamina, receptores de serotonina, receptores alfa-adrenérgicos, receptores de histamina, receptores muscarínicos, entre outros. Relatos de casos mostraram bons resultados na combinação de amissulprida com clozapina em casos de psicoses esquizofrênicas

graves, devido a capacidade da Clozapina de interagir com uma variedade de receptores de neurotransmissores, e a alta afinidade de ligação da Amisulprida com receptores D3/D2-dopamina (“Combination of Clozapine and Amisulpride in Treatment-Resistant Schizophrenia - Case Reports and Review of the Literature”, 2004). Esses dados indicam a importância da análise de redes como uma ferramenta de auxílio pela busca de combinações de terapias utilizando medicamentos que atuam em aspectos distintos da etiologia da doença.

Ainda em relação à combinação de terapias, a segunda menor distância entre fármacos é entre o Aripiprazol e a Quetiapina ($D = 0,097$, Figura 9). O Aripiprazol é um fármaco antipsicótico atípico que pertence aos derivados do benzisoxazol, uma molécula composta por um anel benzênico e um oxiazol. A Quetiapina é uma dibenzotiazepina, ou seja, molécula composta por dois anéis benzênicos com um anel central contendo uma molécula de enxofre. As moléculas, apesar de serem de classes diferentes, são estruturalmente parecidas pois não possuem sistema tricíclico. Essas moléculas compartilham alvos em comum e alta afinidade aos receptores serotoninérgicos. A terapia combinada desses dois fármacos pode aumentar os efeitos colaterais, como sonolência, boca seca, cólicas abdominais, devido a alta seletividade desses dois fármacos aos receptores serotoninérgicos (KANE et al., 2009). Estudos comparando a eficácia desses dois fármacos não mostraram nenhuma diferença significativa entre o aripiprazol e a quetiapina em relação à melhora dos sintomas positivos e negativos da esquizofrenia (SHAFTI; KAVIANI, [s.d.]).

Os fármacos com as maiores distâncias em relação a outros APCs são a Amisulprida e o Haloperidol (Amisulprida/Haloperidol $D = 1.909$, Amisulprida/Olanzapina $D = 1.882$, Amisulprida/Quetiapina $D = 1.750$, Haloperidol/Lurasidona $D = 1.680$, Figura 9). A primeira possível explicação para isso são as diferenças químicas e estruturais entre essas duas moléculas e as demais. O Haloperidol é uma butirofenona, um medicamento derivado da butirofenona (CHILAKAPATI; MEHENDELE, 2014). Sua estrutura é muito semelhante a da Dopamina, um anel fenil substituído, uma cadeia carbônica de alongamento e uma amina, adicionado a ele um grupo cetona funcional. O haloperidol é um antipsicótico típico que atua como um potente antagonista dos receptores de dopamina, com alta afinidade pelos receptores D2 - dopaminérgicos (DAVIS, 2007). Inicialmente foi muito usado no tratamento da esquizofrenia, mas vem sendo substituído pelo uso de APCs

atípicos. Seus alvos genéticos são principalmente os receptores dopaminérgicos, o que pode explicar também a distância entre os outros APCs aqui analisados, também não é usualmente aplicado na clínica como tratamento concomitante com APCs atípicos (DRUGBANK, 2005). Embora a Amisulprida seja um antipsicótico atípico, sua estrutura química é muito próxima da dopamina, pois é um derivado da benzamida e foi desenvolvida para se ligar aos receptores de dopamina D2 e D3 do cérebro (GRATTAN *et al.*, 2019), sendo portanto, uma estrutura composta por um anel fenil substituído, uma cadeia carbônica de alongamento e uma amina. Os alvos genéticos da Amisulprida são principalmente os receptores dopaminérgicos e receptores de serotonina 5-HT7 (DRUGBANK, 2005), sendo a sua ligação potente aos receptores de serotonina 5-HT7 a principal característica desse fármaco devido a ação significativa no tratamento dos quadros de depressão em pacientes com esquizofrenia (ABBAS *et al.*, 2009). Essa ação significativa no receptor serotoninérgico e a distância significativa entre a Olanzapina ($D = 1.882$, Figura 9) explica o porquê do uso concomitante desses dois fármacos é muito explorado clinicamente com bons resultados (ZINK; HENN; THOME, 2004, SCHMIDT-KRAEPELIN *et al.*, 2022). De acordo com a análise de distância de rede entre o Haloperidol e a Lurasidona, que resultou em uma distância de $D = 1.680$, podemos inferir que esses fármacos têm interações com alvos genéticos distintos. Considerando as informações apresentadas, em que APCs com distância de redes têm sido utilizadas em combinação na prática clínica, podemos sugerir uma potencial combinação desses antipsicóticos. O Haloperidol é conhecido por ser um antagonista potente dos receptores de dopamina, enquanto a Lurasidona é um antagonista com afinidade moderada aos receptores de dopamina e serotonina, e também possui afinidade por outros subtipos de receptores de serotonina, como os receptores 5-HT7 e 5-HT1A (MCDONAGH *et al.*, 2017). Considerando a distância desses fármacos na rede, pode-se sugerir que combinação deles poderia potencialmente levar a uma ação mais ampla em termos de modulação dos sistemas de neurotransmissão dopaminérgica e serotoninérgica. É importante ressaltar que fármacos com distância menor na análise de rede tendem a ter maior afinidade eletiva aos mesmos receptores, o que pode resultar em efeitos colaterais mais pronunciados quando usados em combinação. No entanto, a distância de rede entre o Haloperidol e a Lurasidona sugere que sua combinação pode potencializar a ação farmacológica, com menos ocorrência de eventos adversos.



*

Figura 9. Rede representando as distâncias dos fármacos antipsicóticos e suas estruturas químicas. Os fármacos da rede foram coloridos de acordo

com a classe química. Em azul: benzamidas, em roxo: derivados da quinolina, em rosa: derivados de dibenzoxazepina, em laranja: derivados da fenotiazina, em vermelho: derivados da butirofenona, em verde: derivados do indol e em amarelo: derivados do Benzisoxazol (PRYOR; STORER, 2013).

4.4. Cálculo das distâncias entre os genes da Esquizofrenia e os alvos dos antipsicóticos

O próximo passo consistiu em analisar a distância na rede de interação de proteínas humana entre os alvos dos fármacos APCs e os genes associados à esquizofrenia. A maioria dos fármacos apresentou alvos próximos a genes relacionados à esquizofrenia (z-score < 0), reforçando a relevância terapêutica. Dentre eles, o aripiprazol se destacou com o maior valor absoluto de Z escore (ou seja, distância menor que aquela esperada ao acaso). Estudos sugerem sua eficácia no alívio de sintomas positivos e negativos da doença (Kane *et al.*, 2009; Leucht *et al.*, 2014). Além disso, o aripiprazol apresenta um perfil de tolerabilidade favorável em comparação com outros APCs, reduzindo os efeitos colaterais como ganho de peso e disfunção metabólica (Komossa *et al.*, 2010). Por outro lado, o amisulpride, um dos fármacos analisados, mostrou um valor de Z escore negativo e baixo em relação aos outros APCs. Essa observação pode ser atribuída a um possível viés na análise, uma vez que o amisulpride tem poucos alvos conhecidos em comparação com outros APCs amplamente estudados, e estes poucos alvos estão distantes dos genes de esquizofrenia na rede. O mecanismo de ação do amisulpride envolve uma alta afinidade pelos receptores dopaminérgicos D2/D3. Isso resulta em um perfil mais seletivo de ação, principalmente em relação aos sintomas positivos da esquizofrenia (Leucht *et al.*, 2017).

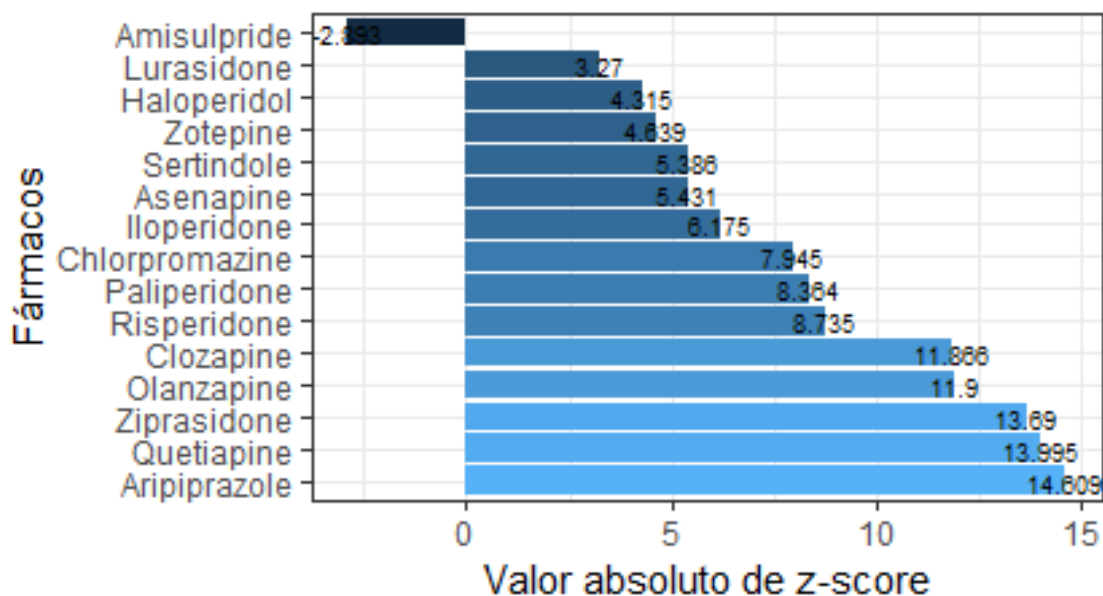


Figura 10. Comparação dos Escores de Proximidade de Fármacos. O gráfico de barras ilustra a comparação dos escores de proximidade de fármacos para o conjunto estudado. Os valores absolutos de Z score são mostrados no eixo x, representando o grau de proximidade entre os fármacos e a doença-alvo. Os nomes dos fármacos estão listados no eixo y. A Amisulprida (Z score < 0): Fármaco que apresenta um Z score negativo, indicando uma relação distinta com a doença-alvo. Outros Fármacos (Z score > 0): Fármacos com Z scores altos, indicando uma forte associação com a doença-alvo.

4.5. Construção da rede de alvos da esquizofrenia e interação com os alvos dos antipsicóticos

Por fim, construímos uma sub-rede a partir da rede de interação de proteínas humana contendo nós que representam genes associados à esquizofrenia, genes alvo dos APCs e outros genes que fazem parte das conexões entre os dois primeiros grupos. Com a construção dessa sub-rede podemos identificar um grande componente conectado na periferia da rede, composto principalmente pelos genes da família NDUFA, NDUFAB1, NDUDV e NDUFB (Figura 11), que pode indicar a presença de genes relevantes e interessantes para pesquisas e desenvolvimento de terapias relacionadas à esquizofrenia. Percebe-se também que os fármacos APCs analisados não têm como alvos genes dessa família, nem atingem alvos que estão localizados na vizinhança desses genes. Como discutido anteriormente, os alvos dos APCs ou são genes chave de sistemas de neurotransmissão, como os receptores de dopamina e serotonina, ou estão localizados na proximidade de genes desses sistemas. A rede da Figura 11 permite concluir que existem aspectos potencialmente relevantes da fisiopatologia da

esquizofrenia que não são diretamente afetados pelos fármacos mais utilizados no tratamento da doença, como é o caso dos genes da família NUDF.

Como já citado anteriormente, os genes da família NDUFA, NDUFAB1, NDUDV e NDUFB estão associados à função mitocondrial e à cadeia de transporte de elétrons. Estudos sugerem que disfunções na atividade mitocondrial e na cadeia respiratória podem desempenhar um papel na fisiopatologia da esquizofrenia (MÜLLER; SCHWARZ, 2010; Prabakaran *et al.*, 2004). Essas disfunções podem estar relacionadas a alterações no metabolismo energético, estresse oxidativo e neurotransmissão. Déficit mitocondrial, equilíbrio redox alterado e inflamação crônica de baixo grau são evidentes na esquizofrenia. Supõe-se que as respostas de estresse oxidativo/nitrosativo devido a disfunções mitocondriais possam ativar vias imunoinflamatórias e subsequentemente levar a alterações neuroprogressivas na esquizofrenia (RAJASEKARAN *et al.*, 2015, MÜLLER; SCHWARZ, 2010).

Explorando moléculas que podem atuar nessa região destaca-se o Elamipretide, um peptídeo sintético que possui propriedades antioxidantes e mitoprotetoras. Ele atua principalmente no nível das mitocôndrias (NHU *et al.*, 2022). Estudos mostram a capacidade dessa molécula em atenuar o estresse oxidativo neural (peróxido de hidrogênio, peroxidação lipídica e ROS), neuroinflamação (TNF, IL-6, COX-2, iNOS, NLRP3, caspase-1 clivada, IL-1 β e IL -18) e acúmulo de proteína tóxica (A β) (GROSLAMBERT; PY, 2018). Embora a Elamipretide tenha sido objeto de estudos e ensaios clínicos em diversas áreas terapêuticas, não foram encontradas evidências específicas sobre a eficácia do medicamento no tratamento de doenças neuropsiquiátricas, bem como os alvos específicos dessa molécula, entretanto sua ação na melhoria da função mitocondrial e na redução do estresse oxidativo sugere que essa molécula pode ter um potencial terapêutico na esquizofrenia, agindo no nível mitocondrial para melhorar a função mitocondrial, reduzir o estresse oxidativo e modular a neuroinflamação. Portanto, mais pesquisas e estudos são necessários para investigar seu potencial terapêutico nesse contexto.

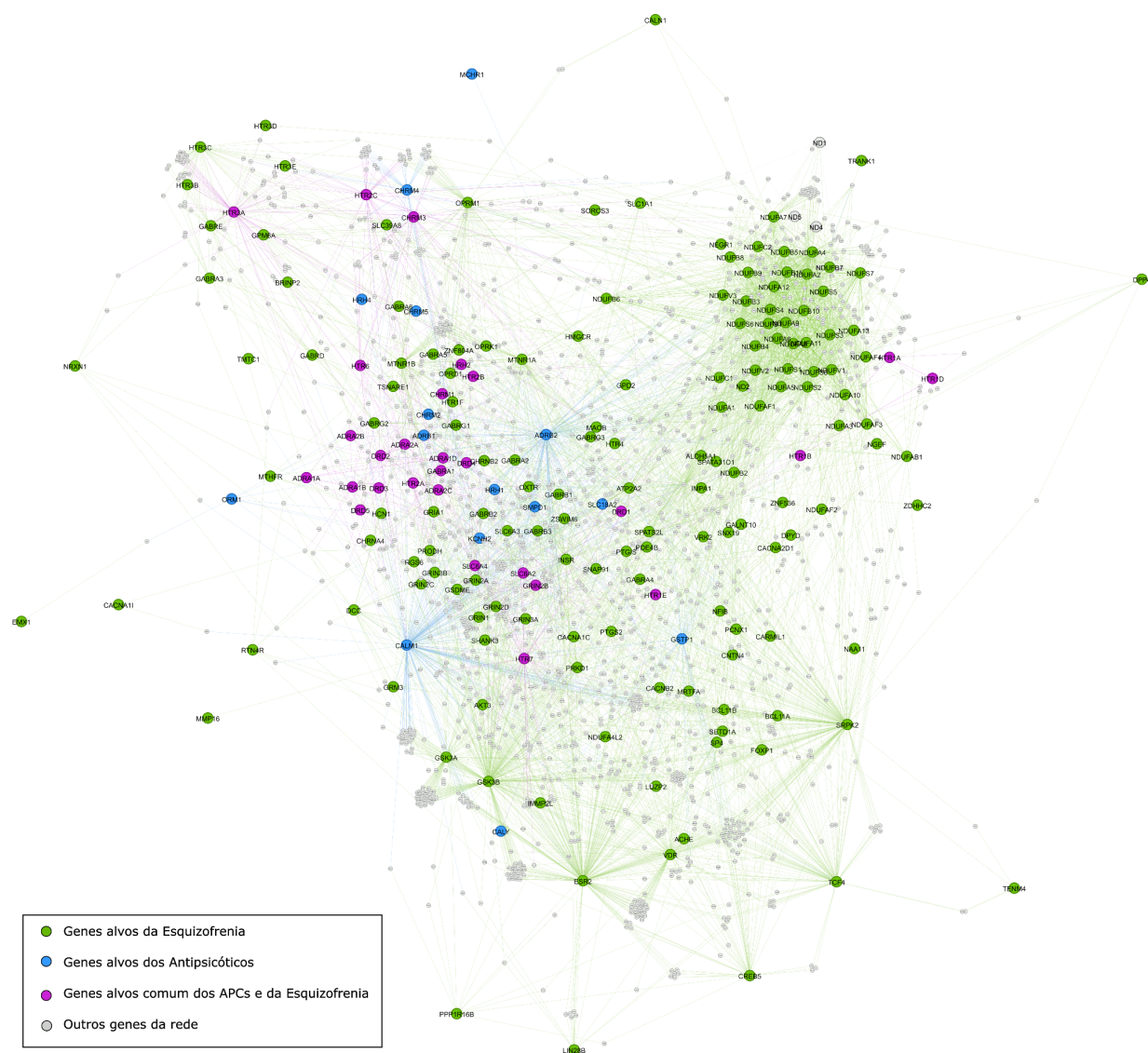


Figura 11. Rede de alvos da esquizofrenia e interação com os alvos dos antipsicóticos. Genes Alvos da Esquizofrenia: Os nós (círculos) representados em verde representam todos os genes alvos da esquizofrenia identificados. Genes Alvos da Esquizofrenia (Alvos de Fármacos): Os nós (círculos) representados em roxo representam os genes alvos da esquizofrenia que também são alvos dos fármacos antipsicóticos selecionados. Genes Alvos de Fármacos (Não Alvos da Esquizofrenia): Os nós (círculos) representados em azul representam os genes que são alvos dos antipsicóticos, mas não estão diretamente associados à esquizofrenia. No entanto, esses genes estão claramente dentro do Maior Componente Conectado (MCC) da doença, o que sugere uma possível relevância na compreensão e tratamento da esquizofrenia. Genes Conectados (Não Associados à Esquizofrenia e Antipsicóticos): Os nós (círculos) representados em cinza representam os genes que estão conectados aos genes alvos da esquizofrenia e aos genes alvos de fármacos, mas não estão diretamente associados à esquizofrenia nem aos antipsicóticos. Esses genes podem ter uma relação indireta com a doença ou podem representar pontos de conexão na rede. Periferia com

Grande Componente Conectado: Na periferia da rede, há um grande componente conectado que não está diretamente associado aos genes alvos dos antipsicóticos. Essa região pode conter genes interessantes e relevantes que podem ser alvos promissores para futuras pesquisas e desenvolvimento de terapias.

5. CONCLUSÕES

Esse estudo trouxe uma revisão ampla sobre os genes associados à esquizofrenia e aos principais APCs usados no tratamento da doença. Em relação aos bancos de dados de genes associados aos fármacos concluímos que o DrugBank apresentou a associação mais forte entre os genes dos APCs e os genes da esquizofrenia, indicando que é o banco de dados mais adequado para essa relação. O banco de dados CTD inclui informações sobre genes-alvo que podem não ser diretamente relevantes para o tratamento da doença, mas relacionados à toxicidade de produtos químicos.

O estudo também trouxe o enriquecimento genético como uma ferramenta para reduzir a quantidade de genes a serem estudados sem perder genes significativos. A análise de enriquecimento funcional revelou a importância da via de sinalização endocanabinóide retrógrada na esquizofrenia, envolvendo neurotransmissores como anandamida e THC. Além disso, foram encontradas associações genéticas nas vias serotoninérgica, dopaminérgica e glutamatérgica. O gene CACNA1C, envolvido nessa via, está associado ao risco de desenvolver esquizofrenia. A disfunção mitocondrial e a sinalização do fator de necrose tumoral (TNF) também foram identificadas como relevantes na doença. Esses achados destacam a importância dos sistemas de neurotransmissão e a necessidade de compreender os mecanismos neuroimunes envolvidos na esquizofrenia.

Já a análise de enriquecimento funcional aplicada para a busca de vias nas quais estão envolvidos os genes alvos dos APCs revelou que esses fármacos estão associados principalmente à via de sinalização dopaminérgica, cujos genes alvo estão relacionados aos receptores de dopamina. Além disso, a via de regulação do mediador inflamatório dos canais TRP também se mostrou relevante, com genes associados aos receptores de serotonina e histamina. Essas vias podem ter influência na resposta inflamatória e na regulação da dor. Foi observado ainda um enriquecimento de alvos relacionados à via de secreção

salivar, que pode estar ligado aos efeitos adversos dos APCs na salivação. Essas descobertas ajudam a compreender os mecanismos de ação e os possíveis efeitos colaterais dos APCs.

A análise de distância entre os fármacos APCs revelou que a estrutura química e as propriedades físicas dos medicamentos podem fornecer insights sobre sua efetividade e segurança quando combinados. A análise de distância revelou semelhanças estruturais entre certos fármacos, mostrando que alguns compartilham alvos genéticos semelhantes, o que pode gerar efeitos colaterais ou interações medicamentosas indesejadas. Por outro lado, fármacos com grandes distâncias entre si podem ter diferentes alvos genéticos e mecanismos de ação, o que é relevante para a efetividade da terapia combinada, pois fármacos com alvos genéticos diferentes podem potencialmente aumentar a resposta terapêutica por atuarem em diferentes alvos, principalmente em doenças multigenéticas como a esquizofrenia. Portanto, a análise de distância entre fármacos se mostrou importante para compreender melhor a farmacologia desses medicamentos e auxiliar na seleção e combinação adequada de tratamentos para garantir a efetividade e segurança da terapia.

A análise de distância entre os fármacos e doenças também é uma abordagem interessante para a compreensão da doença e dos tratamentos. A análise dos valores de Z score de proximidade entre os fármacos APCs e os genes da esquizofrenia revelou a relevância terapêutica desses medicamentos para o tratamento da doença. O amisulpride mostrou um valor de Z score negativo e baixo em relação aos outros APCs. Isso pode ser atribuído à sua menor quantidade de alvos conhecidos em comparação com outros APCs estudados, achados que indicam que, os estudos usando a distância das redes podem conter um viés e devem ser considerados à quantidade de genes alvos, bem como a força de afinidade desses fármacos aos receptores.

Por fim, a construção da rede de alvos da esquizofrenia e sua interação com os alvos dos APCs revelou a presença de um grande componente conectado na periferia da rede, composto pelos genes da família NDUFA, NDUFAB1, NDUDV e NDUFB, e que não está diretamente ou proximalmente afetado pelos fármacos APCs. Esses genes podem ser relevantes e interessantes para pesquisas e desenvolvimento de terapias relacionadas à esquizofrenia, bem como o reposicionamento de medicamentos como o Elamipretide.

6. REFERÊNCIAS

ABBAS, A. I. *et al.* Amisulpride is a potent 5-HT₇ antagonist: relevance for antidepressant actions in vivo. **Psychopharmacology**, v. 205, n. 1, p. 119, 1 jul. 2009.

AL-AMIN, M. M.; NASIR UDDIN, M. M.; MAHMUD REZA, H. Effects of antipsychotics on the inflammatory response system of patients with schizophrenia in peripheral blood mononuclear cell cultures. **Clinical psychopharmacology and neuroscience : the official scientific journal of the Korean College of Neuropsychopharmacology**, v. 11, n. 3, p. 144–151, 24 Dec. 2013.

ALGER, B. E. Retrograde signaling in the regulation of synaptic transmission: focus on endocannabinoids. **Progress in neurobiology**, v. 68, n. 4, p. 247–86, 2002.

ALLSWEDE, D. M. *et al.* Elevated maternal cytokine levels at birth and risk for psychosis in adult offspring. **Schizophrenia Research**, v. 172, n. 1-3, p. 41–45, abr. 2016.

AMANI, P.; HABIBPOUR, R.; KARAMI, L. Characterizing aripiprazole and its ester derivatives, lauroxil and cavoxil, in interaction with dopamine D₂ receptor: Molecular docking and dynamics simulations with physicochemical appraisals. **Journal of Molecular Liquids**, v. 362, p. 119787, 15 set. 2022.

BARABÁSI, A.-L. Network Medicine — From Obesity to the “Diseasome”. **New England Journal of Medicine**, v. 357, n. 4, p. 404–407, 26 jul. 2007.

BAUTISTA, D. M., *et al.* TRPA1 mediates the inflammatory actions of environmental irritants and proalgesic agents. **Cell**, v. 124, n. 6, p. 1269–1282, 24 mar. 2006.

BEAULIEU, J.-M.; GAINETDINOV, R. R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. **Pharmacological Reviews**, v. 63, n. 1, p. 182–217, Mar. 2011.

BENROS, M. E.; MORTENSEN, P. B. Role of Infection, Autoimmunity, Atopic Disorders, and the Immune System in Schizophrenia: Evidence from Epidemiological

and Genetic Studies. **Current topics in behavioral neurosciences**, v. 44, p. 141–159, 2020.

BENROS, M. E. *et al.* A Nationwide Study on the Risk of Autoimmune Diseases in Individuals With a Personal or a Family History of Schizophrenia and Related Psychosis. **American Journal of Psychiatry**, v. 171, n. 2, p. 218–226, fev. 2014.

BOEZIO, B. *et al.* Network-based Approaches in Pharmacology. **Molecular informatics**, v. 36, n. 10, Oct. 2017.

BIGOS, K. L. *et al.* Genetic Variation in CACNA1C Affects Brain Circuitries Related to Mental Illness. **Archives of General Psychiatry**, v. 67, n. 9, p. 939, 1 set. 2010.

BILLINGSLEY, K. J. *et al.* Regulatory characterisation of the schizophrenia-associated CACNA1C proximal promoter and the potential role for the transcription factor EZH2 in schizophrenia aetiology. **Schizophrenia Research**, v. 199, p. 168–175, set. 2018.

CACCIA, S.; PASINA, L.; NOBILI, A. New atypical antipsychotics for schizophrenia: iloperidone. **Drug design, development and therapy**, v. 4, p. 33–48, 18 fev. 2010.

CARDOL, P. Mitochondrial NADH:ubiquinone oxidoreductase (complex I) in eukaryotes: A highly conserved subunit composition highlighted by mining of protein databases. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 1807, n. 11, p. 1390–1397, nov. 2011.

CEYLAN, U. *et al.* Clozapine Regulates Microglia and Is Effective in Chronic Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 3 maio 2021.

CHEN, G. TNF-R1 Signaling: A Beautiful Pathway. **Science**, v. 296, n. 5573, p. 1634–1635, 31 maio 2002.

CHEN, H.-G.; ZHOU, X.-H. MNBDR: A Module Network Based Method for Drug

Repositioning. **Genes**, v. 12, n. 1, p. 25, 1 jan. 2021.

CHENG, F.; KOVÁCS, I. A.; BARABÁSI, A.-L. Network-based prediction of drug combinations. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 1197, 13 Mar. 2019.

CHENG, F. *et al.* A genome-wide positioning systems network algorithm for in silico drug repurposing. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, 2 ago. 2019.

CHENG, F. *et al.* Network-based approach to prediction and population-based validation of in silico drug repurposing. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 2691, 12 Jul. 2018.

Combination of Clozapine and Amisulpride in Treatment-Resistant Schizophrenia - Case Reports and Review of the Literature. **Pharmacopsychiatry**, v. 37, n. 1, p. 26–31, jan. 2004.

CORENA-MCLEOD, M. Comparative Pharmacology of Risperidone and Paliperidone. **Drugs in R&D**, v. 15, n. 2, p. 163–174, 6 maio 2015.

COTTO, K. C. *et al.* DGIdb 3.0: a redesign and expansion of the drug–gene interaction database. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. D1, p. D1068–D1073, 16 nov. 2017.

CSERMELY, P. *et al.* Structure and dynamics of molecular networks: A novel paradigm of drug discovery. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 138, n. 3, p. 333–408, jun. 2013.

CSERNANSKY, J. G.; MURPHY, G. M.; FAUSTMAN, W. O. Limbic/mesolimbic connections and the pathogenesis of schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 30, n. 4, p. 383–400, 15 Aug. 1991.

CULLEN, A. E. *et al.* Associations Between Non-neurological Autoimmune Disorders and Psychosis: A Meta-analysis. **Biological Psychiatry**, v. 85, n. 1, p. 35–48, 1 jan. 2019.

CUSICK, M. E. *et al.* Interactome: gateway into systems biology. **Human Molecular Genetics**, v. 14, n. suppl_2, p. R171–R181, 15 out. 2005.

DAVIS, K. *et al.* Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. **American Journal of Psychiatry**, v. 148, n. 11, p. 1474–1486, nov. 1991.

DAVIS, A. P. *et al.* Comparative Toxicogenomics Database (CTD): update 2023. **Nucleic Acids Research**, 28 set. 2022.

DAVIS, C. **Haloperidol**. Disponível em:
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780080552323618768>>. Acesso em: 7 maio. 2023.

DOLMETSCH, R. E. Signaling to the Nucleus by an L-type Calcium Channel-Calmodulin Complex Through the MAP Kinase Pathway. **Science**, v. 294, n. 5541, p. 333–339, 12 out. 2001.

Drugs@FDA: FDA Approved Drug Products. Disponível em:<<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/>>.

DE SILVA, E.; STUMPF, M. P. H. Complex networks and simple models in biology. **Journal of The Royal Society Interface**, v. 2, n. 5, p. 419–430, 24 ago. 2005.

EL-SAYED EL-SISI, A. *et al.* Celecoxib and omega-3 fatty acids alone and in combination with risperidone affect the behavior and brain biochemistry in amphetamine-induced model of schizophrenia. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 82, p. 425–431, ago. 2016.

FELL, M. J. *et al.* Typical and Atypical Antipsychotic Drugs Increase Extracellular Histamine Levels in the Rat Medial Prefrontal Cortex: Contribution of Histamine H1 Receptor Blockade. **Frontiers in Psychiatry**, v. 3, 2012.

FOURGEAUD, L. *et al.* MHC class I modulates NMDA receptor function and AMPA receptor trafficking. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 51, p. 22278–22283, 6 dez. 2010.

GONZALEZ-BURGOS, G.; LEWIS, D. A. NMDA Receptor Hypofunction, Parvalbumin-Positive Neurons, and Cortical Gamma Oscillations in Schizophrenia. **Schizophrenia Bulletin**, v. 38, n. 5, p. 950–957, 21 fev. 2012.

GU, B. *et al.* Association between a polymorphism of the HTR3A gene and therapeutic response to risperidone treatment in drug-naive Chinese schizophrenia patients. **Pharmacogenetics and Genomics**, v. 18, n. 8, p. 721–727, ago. 2008.

GRATTAN, V. *et al.* Antipsychotic Benzamides Amisulpride and LB-102 Display Polypharmacy as Racemates, S Enantiomers Engage Receptors D2 and D3, while R Enantiomers Engage 5-HT7. **ACS Omega**, v. 4, n. 9, p. 14151–14154, 15 ago. 2019.

GROSLAMBERT, M.; PY, B. Spotlight on the NLRP3 inflammasome pathway. **Journal of Inflammation Research**, v. Volume 11, p. 359–374, set. 2018.

GYSI, D. M. *et al.* Network medicine framework for identifying drug-repurposing opportunities for COVID-19. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 118, n. 19, 11 maio 2021.

HARRISON, P. J. *et al.* CACNA1C (CaV1.2) and other L-type calcium channels in the pathophysiology and treatment of psychiatric disorders: Advances from functional genomics and pharmacoepidemiology. **Neuropharmacology**, v. 220, p. 109262, 1 dez. 2022.

HOWELL, K. R.; FLOYD, K.; LAW, A. J. PKBy/AKT3 loss-of-function causes learning and memory deficits and deregulation of AKT/mTORC2 signaling: Relevance for schizophrenia. **PLOS ONE**, v. 12, n. 5, p. e0175993, 3 maio 2017.

HOWES, O. D.; KAPUR, S. The Dopamine Hypothesis of Schizophrenia: Version III--The Final Common Pathway. **Schizophrenia Bulletin**, v. 35, n. 3, p. 549–562, 30 mar. 2009.

HIMMELSTEIN, D. *et al.* Rephetio: Repurposing drugs on a hetnet [report]. 13 nov. 2016.

HU, X. *et al.* Clozapine protects dopaminergic neurons from inflammation-induced damage by inhibiting microglial overactivation. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, v. 7, n. 1, p. 187–201, Mar. 2012.

HUHN, M. *et al.* Comparative Efficacy and Tolerability of 32 Oral Antipsychotics for the Acute Treatment of Adults With Multi-Episode Schizophrenia: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. **FOCUS**, v. 18, n. 4, p. 443–455, out. 2020.

JACKSON, D. M.; WESTLIND-DANIELSSON, A. Dopamine receptors: molecular biology, biochemistry and behavioural aspects. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 64, n. 2, p. 291–370, 1994.

JOURDAN, J.-P. *et al.* Drug repositioning: a brief overview. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 72, n. 9, p. 1145–1151, Sep. 2020.

JIMENEZ, X. F.; SUNDARARAJAN, T.; COVINGTON, E. C. A Systematic Review of Atypical Antipsychotics in Chronic Pain Management. **The Clinical Journal of Pain**, v. 34, n. 6, p. 585–591, jun. 2018.

JOHANNESSEN LANDMARK, C. Antiepileptic Drugs in Non-Epilepsy Disorders. **CNS Drugs**, v. 22, n. 1, p. 27–47, 2008.

KANE, J. M. *et al.* A Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, 16-Week Study of Adjunctive Aripiprazole for Schizophrenia or Schizoaffective Disorder Inadequately Treated With Quetiapine or Risperidone Monotherapy. **The**

Journal of Clinical Psychiatry, v. 70, n. 10, p. 1348–1357, 15 out. 2009.

Kanehisa M, Goto S. 2000. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and

KEGG PATHWAY: Inflammatory mediator regulation of TRP channels -

Reference pathway. Disponível em:

<<https://www.kegg.jp/pathway/map04750+K02183>>. Acesso em: 4 maio. 2023.

KEGG PATHWAY: Retrograde endocannabinoid signaling - Reference pathway.

Disponível em: <<https://www.kegg.jp/pathway/map04723+K04277>>. Acesso em: 5 maio. 2023.

KEGG PATHWAY: Salivary secretion - Reference pathway. Disponível em:

<<https://www.kegg.jp/pathway/map=map04970&keyword=salivary>>. Acesso em: 4 maio. 2023.

KHANNA, P. *et al.* Aripiprazole versus other atypical antipsychotics for schizophrenia. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, 2 jan. 2014.

KHANDAKER, G. M. *et al.* Inflammation and immunity in schizophrenia: implications for pathophysiology and treatment. **The Lancet Psychiatry**, v. 2, n. 3, p. 258–270, mar. 2015.

KÖHLER-FORSBERG, O. *et al.* A Nationwide Study in Denmark of the Association Between Treated Infections and the Subsequent Risk of Treated Mental Disorders in Children and Adolescents. **JAMA Psychiatry**, v. 76, n. 3, p. 271, 1 mar. 2019.

KRYNICKI, C. R. *et al.* The relationship between negative symptoms and depression in schizophrenia: a systematic review. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 137, n. 5, p. 380–390, 13 mar. 2018.

LAL, J. C. *et al.* Transcriptomics-based network medicine approach identifies metformin as a repurposable drug for atrial fibrillation. **Cell Reports Medicine**, v. 3, n. 10, 18 out. 2022.

LALLY, J.; MACCABE, J. H. Antipsychotic medication in schizophrenia: a review.

British Medical Bulletin, v. 114, n. 1, p. 169–179, Jun. 2015.

LARUELLE, M. *et al.* Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. 17, p. 9235–9240, 20 Aug. 1996.

LARUELLE, M. Schizophrenia: from dopaminergic to glutamatergic interventions. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 14, p. 97–102, fev. 2014.

LAU, C.-I. *et al.* Does the dopamine hypothesis explain schizophrenia? **Reviews in the neurosciences**, v. 24, n. 4, p. 389–400, 2013.

LAZARY, J. *et al.* Genetic analyses of the endocannabinoid pathway in association with affective phenotypic variants. **Neuroscience Letters**, v. 744, p. 135600, jan. 2021.

LEUCHT, S. *et al.* Comparative efficacy and tolerability of 15 antipsychotic drugs in schizophrenia: a multiple-treatments meta-analysis. **The Lancet**, v. 382, n. 9896, p. 951–962, set. 2013.

LEWIS, D. A.; MOGHADDAM, B. Cognitive Dysfunction in Schizophrenia. **Archives of Neurology**, v. 63, n. 10, p. 1372, 1 out. 2006.

LEWIS, D.; HASHIMOTO, T. Deciphering the disease process of schizophrenia: the contribution of cortical GABA neurons. **International review of neurobiology**, 2007.

LI, Z. *et al.* No genetic association between polymorphisms in the kainate-type glutamate receptor gene, GRIK4, and schizophrenia in the Chinese population. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 32, n. 3, p. 876–880, 1 abr. 2008.

LUPICA, C. R.; RIEGEL, A. C. Endocannabinoid release from midbrain dopamine neurons: a potential substrate for cannabinoid receptor antagonist treatment of

addiction. **Neuropharmacology**, v. 48, n. 8, p. 1105–1116, jun. 2005.

MARIC, N. P. *et al.* Improving current treatments for schizophrenia. **Drug development research**, v. 77, n. 7, p. 357–367, Nov. 2016.

MCCUTCHEON, R. A.; REIS MARQUES, T.; HOWES, O. D. Schizophrenia—An Overview. **JAMA Psychiatry**, v. 77, n. 2, p. 1, 30 out. 2019.

MAHER, S. *et al.* Clozapine-induced hypersalivation: an estimate of prevalence, severity and impact on quality of life. **Therapeutic Advances in Psychopharmacology**, v. 6, n. 3, p. 178–184, 30 mar. 2016.

MACDONALD, G. J.; BARTOLOMÉ, J. M. 2 - A Decade of Progress in the Discovery and Development of “Atypical” Antipsychotics. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079646810490025#bib0610>. Acesso em: 6 março. 2023.

MANNING, B. D.; TOKER, A. AKT/PKB Signaling: Navigating the Network. **Cell**, v. 169, n. 3, p. 381–405, abr. 2017.

MCDONAGH, M. S. *et al.* **Treatments for Schizophrenia in Adults: A Systematic Review**. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US), 2017.

MENCHE, J. *et al.* Uncovering disease-disease relationships through the incomplete interactome. **Science**, v. 347, n. 6224, 20 fev. 2015.

MISSALE, C. *et al.* Dopamine Receptors: from Structure to Function. **Physiological Reviews**, v. 78, n. 1, p. 189–225, 1 jan. 1998.

MÜLLER, N.; SCHWARZ, M. J. Immune System and Schizophrenia. **Current immunology reviews**, v. 6, n. 3, p. 213–220, 2010.

MOHANDOSS, A. A.; THAVARAJAH, R. Salivary Flow Alteration in Patients Undergoing Treatment for Schizophrenia: Disease-Drug-Target Gene/Protein

Association Study for Side-effects. **Journal of Oral Biology and Craniofacial Research**, v. 9, n. 3, p. 286–293, 2019.

NAUTIYAL, K. M. *et al.* Serotonin of mast cell origin contributes to hippocampal function. **European Journal of Neuroscience**, v. 36, n. 3, p. 2347–2359, 27 maio 2012.

NATIONAL INSTITUTE OF MENTAL HEALTH. NIMH» What is Psychosis? Disponível em: <<https://www.nimh.nih.gov/health/topics/schizophrenia/raise/what-is-psychosis>>.

NIMGAONKAR, V. L. *et al.* Herpes Simplex Virus Type-1 Infection: Associations with Inflammation and Cognitive Aging in Relation to Schizophrenia. **Current topics in behavioral neurosciences**, v. 44, p. 125–139, 2020.

NHU, N. T. *et al.* Neuroprotective Effects of a Small Mitochondrially-Targeted Tetrapeptide Elamipretide in Neurodegeneration. **Frontiers in Integrative Neuroscience**, v. 15, 17 jan. 2022.

Organização Mundial da Saúde. (2022, 10 de janeiro). Schizophrenia. Retirado de: [Schizophrenia \(who.int\)](https://www.who.int/mental-health/schizophrenia)

ORTIZ-ORENDAIN, J. *et al.* Antipsychotic combinations for schizophrenia. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, 28 jun. 2017.

PANDURANGI, A. K.; BUCKLEY, P. F. Inflammation, Antipsychotic Drugs, and Evidence for Effectiveness of Anti-inflammatory Agents in Schizophrenia. **Neuroinflammation and Schizophrenia**, p. 227–244, 2019.

PAE, C.-U. *et al.* Antipsychotic treatment may alter T-helper (TH) 2 arm cytokines. **International Immunopharmacology**, v. 6, n. 4, p. 666–671, Apr. 2006.

PANDURANGI, A. K.; BUCKLEY, P. F. Inflammation, Antipsychotic Drugs, and Evidence for Effectiveness of Anti-inflammatory Agents in Schizophrenia. **Current topics in behavioral neurosciences**, v. 44, p. 227–244, 2020.

PATERSON, G. J. *et al.* Selective increases in the cytokine, TNF α , in the prefrontal cortex of PCP-treated rats and human schizophrenic subjects: influence of antipsychotic drugs. **Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)**, v. 20, n. 5, p. 636–642, 1 set. 2006.

PARENTI, A. *et al.* What is the evidence for the role of TRP channels in inflammatory and immune cells? **British Journal of Pharmacology**, v. 173, n. 6, p. 953–969, 18 fev. 2016.

POLTAVSKAYA, E. G. *et al.* Study of Early Onset Schizophrenia: Associations of GRIN2A and GRIN2B Polymorphisms. **Life (Basel, Switzerland)**, v. 11, n. 10, p. 997, 22 set. 2021.

PRABAKARAN, S. *et al.* Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. **Molecular Psychiatry**, v. 9, n. 7, p. 684–697, 20 abr. 2004.

PRYOR, K. O.; STORER, K. P. **Chapter 11 - Drugs for Neuropsychiatric Disorders.**

Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781437716795000119>>.

RAJASEKARAN, A. *et al.* Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: Pathways, mechanisms and implications. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 48, p. 10–21, jan. 2015.

RECANATINI, M.; CABRELLE, C. Drug research meets network science: where are we? **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 63, n. 16, p. 8653–8666, 27 Aug. 2020.

RICO-VILLADEMOROS, F.; CALANDRE, E.; SLIM, M. Current status of atypical antipsychotics for fibromyalgia. **Drugs of Today**, v. 50, n. 6, p. 435, 2014.

ROGNONI, C.; BERTOLANI, A.; JOMMI, C. Second-Generation Antipsychotic Drugs for Patients with Schizophrenia: Systematic Literature Review and Meta-analysis of

Metabolic and Cardiovascular Side Effects. **Clinical Drug Investigation**, v. 41, n. 4, p. 303–319, Apr. 2021.

SCHAFFER, DOROTHY P. *et al.* Microglia Sculpt Postnatal Neural Circuits in an Activity and Complement-Dependent Manner. **Neuron**, v. 74, n. 4, p. 691–705, maio 2012.

SCULLY CBE, C. Drug effects on salivary glands: dry mouth. **Oral Diseases**, v. 9, n. 4, p. 165–176, jul. 2003.

SCHIZOPHRENIA WORKING GROUP OF THE PSYCHIATRIC GENOMICS CONSORTIUM. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. **Nature**, v. 511, n. 7510, p. 421–427, jul. 2014.

SEEMAN, P. Atypical antipsychotics: mechanism of action. **Canadian Journal of Psychiatry**. *Revue Canadienne De Psychiatrie*, v. 47, n. 1, p. 27–38, 1 fev. 2002.

SCHMIDT-KRAEPELIN, C. *et al.* Amisulpride and olanzapine combination treatment versus each monotherapy in acutely ill patients with schizophrenia in Germany (COMBINE): a double-blind randomised controlled trial. **The Lancet Psychiatry**, v. 9, n. 4, p. 291–306, abr. 2022.

SHAFTI, S. S.; KAVIANI, H. A Comparison Between Quetiapine and Aripiprazole for Treatment of Schizophrenia: A Double Blind Contrast. **Current Psychopharmacology**, v. 5, n. 1, p. 13–19, [s.d.].

STAHL, S. M. Beyond the dopamine hypothesis of schizophrenia to three neural networks of psychosis: dopamine, serotonin, and glutamate. **CNS Spectrums**, v. 23, n. 3, p. 187–191, jun. 2018.

STĘPNICKI, P.; KONDEJ, M.; KACZOR, A. A. Current Concepts and Treatments of Schizophrenia. **Molecules**, v. 23, n. 8, p. 2087, 20 ago. 2018.

STILO, S. A.; MURRAY, R. M. Non-Genetic Factors in Schizophrenia. **Current Psychiatry Reports**, v. 21, n. 10, 14 set. 2019.

SONG, C. *et al.* Immunosuppressive effects of clozapine and haloperidol: enhanced production of the interleukin-1 receptor antagonist. **Schizophrenia Research**, v. 42, n. 2, p. 157–164, abr. 2000.

SULLIVAN, P. F.; KENDLER, K. S.; NEALE, M. C. Schizophrenia as a Complex Trait. **Archives of General Psychiatry**, v. 60, n. 12, p. 1187, 1 dez. 2003.

SWAINSTON HARRISON, T.; PERRY, C. M. Aripiprazole. **Drugs**, v. 64, n. 15, p. 1715–1736, 2004.

TAMMINGA, C. A.; HOLCOMB, H. H. Phenotype of schizophrenia: a review and formulation. **Molecular Psychiatry**, v. 10, n. 1, p. 27–39, 1 jan. 2005.
v. Volume 15, p. 143–155, dez. 2018.

TRUONG, T. T. T. *et al.* Repurposing Drugs via Network Analysis: Opportunities for Psychiatric Disorders. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 7, p. 1464, 1 jul. 2022.

TOLLEFSON, G. D.; SANGER, T. M. Negative symptoms: a path analytic approach to a double-blind, placebo- and haloperidol-controlled clinical trial with olanzapine. **The American Journal of Psychiatry**, v. 154, n. 4, p. 466–474, Apr. 1997.

UDRESCU, L. *et al.* Clustering drug-drug interaction networks with energy model layouts: community analysis and drug repurposing. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, 7 set. 2016.

VARDANYAN, R.; HRUBY, V. **Chapter 6 - Antipsychotics**. Disponível em:
<<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/B9780124114920000067?token=79EA7D700DE630D78D080FE690ED3640D4CAE5C3485DCC315B232E21EB9B0686E7BBB89F84754B197B5CF0B74A2D877D&originRegion=us-east-1&originCreation=20230505212325>>. Acesso em: 5 maio. 2023.

VAN OS, J.; RUTTEN, B. P.; POULTON, R. Gene-Environment Interactions in Schizophrenia: Review of Epidemiological Findings and Future Directions. **Schizophrenia Bulletin**, v. 34, n. 6, p. 1066–1082, 20 ago. 2008.

WIJESOORIYA, K. *et al.* Urgent need for consistent standards in functional enrichment analysis. **PLOS Computational Biology**, v. 18, n. 3, p. e1009935, 9 mar. 2022.

WILSON, R. I. Endocannabinoid Signaling in the Brain. **Science**, v. 296, n. 5568, p. 678–682, 26 abr. 2002.

WISHART, D. S. *et al.* Drugbank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration. *Nucleic Acids Res.*, v. 34, ed. Database issue, p. D668-72, 2006.

XU, F.; WANG, B.; YAO, J. Association between the SLC6A4 gene and schizophrenia: an updated meta-analysis. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**.

ZHOU, Y.; LAUSCHKE, V. M. Pharmacogenomic network analysis of the gene-drug interaction landscape underlying drug disposition. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 18, p. 52–58, 2020.

ZHU, S. *et al.* Prediction of Drug–Gene Interaction by Using Metapath2vec. **Frontiers in Genetics**, v. 9, 31 jul. 2018.

ZINK, M.; HENN, F. A.; THOME, J. Combination of amisulpride and olanzapine in treatment-resistant schizophrenic psychoses. **European Psychiatry**, v. 19, n. 1, p. 56–58, jan. 2004.

ZLATIĆ, V.; GHOSHAL, G.; CALDARELLI, G. Hypergraph topological quantities for tagged social networks. **Physical Review E**, v. 80, n. 3, 25 set. 2009.

7. ANEXOS

Zaira Maria de Sousa Pinheiro

23/05/2023

Data e assinatura do aluno(a)

Helga Nakaya

23/05/2023

Data e assinatura do orientador(a)