

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
BIOQUÍMICA

MARINA MENA BARRETO PERES DE OLIVEIRA

**MicroRNAs E O PROCESSO DE *INFLAMMAGING* NA ESQUIZOFRENIA: de
Mecanismos Moleculares a Perspectivas na Medicina Translacional**

Porto Alegre

2021

MARINA MENA BARRETO PERES DE OLIVEIRA

**MicroRNAs E O PROCESSO DE *INFLAMMAGING* NA ESQUIZOFRENIA: de
Mecanismos Moleculares a Perspectivas na Medicina Translacional**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Bioquímica.

Orientadora: Prof^a Dr^a Carmem Gottfried

Porto Alegre

2021

CIP - Catalogação na Publicação

Mena Barreto Peres de Oliveira, Marina
MICRORNAS E O PROCESSO DE INFLAMMAGING NA
ESQUIZOFRENIA: de Mecanismos Moleculares a
Perspectivas na Medicina Translacional / Marina Mena
Barreto Peres de Oliveira. -- 2021.
111 f.
Orientadora: Carmem Gottfried.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da
Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas: Bioquímica, Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. MiRNAs. 2. Esquizofrenia. 3. Inflammaging. 4.
PD-1. 5. PD-L1. I. Gottfried, Carmem, orient. II.
Titulo.

AGRADECIMENTOS

Os caminhos que se pode seguir em uma carreira científica são muitos. Porém, não há rumo que se tome que valha a pena percorrer sozinho. Portanto, gostaria de realizar meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram para a realização deste trabalho e principalmente, para essa caminhada que apenas se inicia.

Primeiramente, muito obrigada pelas inspirações de pesquisadores que tornaram meu mestrado possível. A minha orientadora, Prof.^a Carmem Gottfried, a qual dedico toda minha gratidão pela oportunidade, incentivo e confiança. A Prof.^a Clarissa Gama, meus eternos agradecimentos por todo o conhecimento e ajuda na execução dessa dissertação. E por fim, ao Prof. Moisés Bauer, que me acompanha desde a graduação, sou infinitamente grata por cada aula de imunologia e sobretudo, por ter despertado em mim a curiosidade e carinho pelo tema deste trabalho.

Aos meus colegas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Laboratório Central de Microscopia e Microanálise e Laboratório de Biologia Celular e Tecidual. Eu tenho muito orgulho de considerar vocês minha segunda família. Obrigada Paula Tupinambá, Edgar Kuhn, Maria Eduarda Appel, Vitória Kirjner e Brenda Schmitt. Em especial à minha amiga Paula Neves, por todo o acolhimento científico nos momentos que mais precisei, mas também pelas risadas e boas histórias.

Além de agradecimentos, toda a minha admiração pelo Gustavo Gonçalves, por me ensinar desde retornos marginais decrescentes até que trabalhar aos finais de semana pode não ser tão ruim desde que se tenha uma térmica de café e muito bom-humor.

Obrigada aos meus amigos, que fora do ambiente acadêmico contribuíram com inúmeros momentos de felicidade. Ao Daniel Andrade, agradeço a amizade que além de salvar a minha vida, salvou a do meu computador também. E principalmente, todo meu amor para Alice Dutra, Giovana Saccol, Isabela Moraes, Jenifer Vargas e Mariana Guareschi pela década de companheirismo, carinho e apoio.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Laboratório de Plasticidade Neuroglial, assim como a todos os funcionários do Departamento de Bioquímica, que além do acolhimento, possibilitaram a realização deste trabalho.

E finalmente: À Cladir Lopes e aos meus queridos pais, que dividem o mérito desta etapa comigo, obrigada por serem exemplos de paciência e amor. Eu amo vocês.

RESUMO

A esquizofrenia (SZ) é uma condição psiquiátrica de etiologia pouco elucidada, caracterizada por um grupo incapacitante de desordens neurais que acomete até 1% da população humana e possui extensa heterogeneidade genética. Indivíduos com o transtorno têm uma expectativa de vida média cerca de 15 anos menor, taxa de mortalidade duas vezes maior que a da população geral e, conseqüentemente, têm sido associados a um processo contínuo de envelhecimento acelerado. O acúmulo de evidências sugere que pequenas moléculas de RNA não codificantes de fita simples, a família dos microRNAs (miRNAs), de aproximadamente 19-25 nucleotídeos, são reguladores importantes de várias vias de sinalização que desempenham um papel crucial na fisiopatologia da SZ. Porém, os mecanismos regulatórios dos miRNAs em diferentes processos moleculares na SZ, como o envelhecimento precoce presente nesses indivíduos, ainda são um quebra-cabeça a ser resolvido. O avanço da idade associado à inflamação sistêmica de baixo grau é denominado *inflammaging*, processo caracterizado pelo aumento crônico dos níveis de citocinas e fatores pró-inflamatórios relacionados à progressão da senescência. Portanto, níveis alterados de miRNAs podem estar correlacionados com o processo de *inflammaging*, principalmente por meio de modificações transcricionais de seus genes-alvo. Guiados por essa hipótese, objetivamos buscar alvos validados para um conjunto de treze miRNAs previamente descritos em SZ, bem como as vias metabólicas que podem ser influenciadas por esses miRNAs em SZ. A busca de alvos foi realizada por meio das plataformas miRTarBase (<http://miRTarBase.mbc.nctu.edu.tw/>) e miRDB (<http://mirdb.org>). A análise de alvos dos miRNAs alterados na SZ demonstram um claro envolvimento com sistema imunológico, diferenciação celular, ciclo celular, processo inflamatório, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial. Podemos concluir que as alterações encontradas nos perfis de expressão dos miRNAs podem ser utilizadas como ferramentas para elucidar possíveis alvos farmacológicos para vias de sinalização alteradas durante o processo de *inflammaging* na SZ. Além disso, o estudo da expressão de miRNAs em diferentes fases do transtorno tem potencial na busca de marcadores clínicos para auxiliar o diagnóstico.

Palavras-chave: MicroRNAs; Esquizofrenia; Envelhecimento acelerado; *Inflammaging*; Biomarcadores; PD-1; PD-L1.

ABSTRACT

Schizophrenia (SZ) is a psychiatric condition of poorly understood etiology, characterized by a disabling group of neural disorders that affect up to 1% of the human population and have extensive genetic heterogeneity. Individuals with the disorder have an average life expectancy about 15 years lower, a mortality rate twice that of the general population and, consequently, have been associated with a continuous process of accelerated aging. Accumulation of evidence suggests that small, single-stranded non-coding RNA molecules, the family of microRNAs (miRNAs), with approximately 19-25 nucleotides, are important regulators of several signaling pathways that play a crucial role in the pathophysiology of SZ. Although, the regulatory mechanisms of miRNAs in different molecular processes in SZ, such as the premature aging present in these individuals, are still a puzzle to be solved. Advancing age associated with low-grade systemic inflammation is called inflammaging, a process characterized by the chronic increase in levels of cytokines and pro-inflammatory factors related to the progression of senescence. Therefore, altered levels of miRNAs may be correlated with the inflammaging process, mainly through transcriptional modifications of their target genes. Guided by this hypothesis, we aimed to seek validated targets for a set of thirteen miRNAs previously described in SZ, as well as the metabolic pathways that can be influenced by these miRNAs in SZ. The search for targets was performed using the miRTarBase (<http://miRTarBase.mbc.nctu.edu.tw/>) and miRDB (<http://mirdb.org>) platforms. The analysis of altered miRNAs targets in SZ demonstrates a clear involvement with the immune system, cell differentiation, cell cycle, inflammatory process, oxidative stress and mitochondrial dysfunction. We can conclude that the alterations found in the expression profiles of miRNAs can be used as tools to elucidate possible pharmacological targets for altered signaling pathways during the process of inflammaging in SZ. Furthermore, the study of the expression of miRNAs at different stages of the disorder has potential in the search for clinical markers to aid diagnosis.

Keywords: MicroRNAs; Schizophrenia; Accelerated Aging; Inflammaging; Biomarkers; PD-1; PD-L1.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

DISSERTAÇÃO

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Imagem ilustrativa sobre aspectos biológicos, sintomas e terapêutica da SZ. | 11 |
| Figura 2 - Possíveis alterações no sistema neuroimune e prejuízo sináptico durante o desenvolvimento da SZ..... | 14 |
| Figura 3 - Representação basal dos mecanismos celulares e moleculares possivelmente envolvidos no processo de inflammaging..... | 17 |
| Figura 4 - Biogênese de miRNAs e suas possíveis funções..... | 20 |

ARTIGO

| | |
|---|----|
| Figure 1 - Representation of the NOTCH pathway with possible dysregulation by miR-34a, miR-30e and miR-130b in SZ..... | 55 |
| Figure 2 - Representation of BDNF signaling pathway with possible dysregulation by miR-132, miR-195, miR-7, miR-34a, miR-181b and miR-130b in SZ..... | 56 |
| Figure 3 - Representation of the JAK/STAT pathway with possible dysregulation by miR130b in SZ..... | 57 |
| Figure 4 - Representation of the Wnt / β -catenin and TCF7 pathways with dysregulation by miR-195, miR346, miR30a-5p e miR 34a in SZ..... | 58 |
| Figure 5 - Representation of cell cycle with dysregulation by miR-26b, miR34a. miR-30b, miR132, miR-193a-3p and miR-195 in SZ..... | 59 |
| Figure 6 - Representation of the mitochondria with dysregulation by miR-15a, miR-30a-5p, miR-30e, miR-181b, miR-137 and miR-193a-3p in SZ..... | 60 |
| Figure 7 - Regulatory pathways by miRNAs supposedly involved in the inflammaging process present in SZ..... | 61 |
| Supplementary Figure S1 - Basal representation of signaling pathways and regulatory networks linked to a set of miRNAs with their respective candidate targets..... | 63 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------------------------------|---|
| Akt | Proteína Cinase B |
| APC | Proteína Supressora de Tumor de Polipose Adenomatosa Coli |
| ATR | Proteína Relacionada à Rad3 |
| BA9 | Área de Brodmann |
| BAK | Antagonista de BC-L2 |
| BAX | BC-L2 Associado X |
| BBB | Barreira Hematoencefálica |
| BCL-2 | Linfoma de Células B |
| BCL9 | Proteína CLL / Linfoma de Células B 9 |
| BDNF | Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo |
| BID | Agonista de Morte do Domínio de Interação BH3 |
| BIM | Proteína 11 Semelhante a BCL-2 |
| BNIP3L | Proteína 3 de Interação BCL2 Semelhante |
| BNIP3 | Proteína 3 de Interação BCL2 |
| CDKs | Proteína Cinasas Dependentes de Ciclina |
| CK1 | Caseína Cinase 1 |
| CNVs | Variações do Número de Cópias |
| CHK1 | Checkpoint Cinase 1 |
| CREB | Proteína de Ligação do Elemento de Resposta cAMP |
| CYCS | Citocromo c |
| CYLD | Cilindromatose Lisina 63 desubiquitinase |
| DP | Duplo Positivo |
| DLL | Delta |
| DLL1 | Delta 1 |
| DLL4 | Delta 4 |
| DN | Duplo Negativo |
| DVL | Disheveled |
| E2F | Fator de Transcrição E2 |
| ERK | Cinase regulada por sinal extracelular |
| FMRP | Proteína de Retardo Mental X-frágil |
| FMR1 | Retardo Mental X-frágil 1 |
| Foxp3 | Forkhead Box P3 |
| FZD | Frizzled |
| G6P | Glicose-6-fosfato |
| GSK-3β | Glicogênio Sintase Cinase-3 β |
| HK2 | Hexocinase 2 |
| IFN-γ | Interferon Gama |
| IKK | Complexo I κ B cinase |
| IRAK | Cinasas Associadas ao Receptor de Interleucina-1 |
| JAG | Jagged |
| JAK | Janus Cinase |
| KLF4 | Fator 4 Semelhante a Krüppel |
| LEF | Fator de Ligação Potencializador Linfóide |
| LEF1 | Fator de Ligação Potencializador Linfóide 1 |

| | |
|--------------------------------|--|
| LRP | Proteína Relacionada ao Receptor de Lipoproteína de Baixa Densidade |
| MAML1-3 | Coativador Transcricional Mastermind |
| MAPK | Proteína Cinase Ativada por Mitógeno |
| MAPK1 | Proteína Cinase Ativada por Mitógeno 1 |
| MC-L1 | Regulador de Apoptose MC-L1 |
| MDM2 | Murine Double Minute 2 |
| MDM4 | Murine Double Minute 4 |
| MEK | Proteína Cinase Cinase Ativada por Mitogênio |
| MITF | Fator de Transcrição Associado à Microftalmia |
| miRNAs | MicroRNAs |
| MOMP | Permeabilização da Membrana Externa Mitochondrial |
| MYCN | MYCN Proto-Oncogene |
| MyD88 | Fator de Diferenciação Mieloide 88 |
| NEMO | Modulador Essencial de NF- κ B |
| NF-κB | Fator Nuclear Kappa B |
| NICD | Domínio Notch Intracelular |
| NKD1 | Cutícula Nua 1 |
| OSX | Osterix (Fator de Transcrição Sp7) |
| PBMCs | Células Mononucleares de Sangue Periférico |
| PD1 | Proteína de Morte Programada 1 |
| PD-L1 | Ligante de Morte Programada 1 |
| PI3K | Fosfoinositídeo 3-cinase |
| pré-miRNA | miRNA Precursor |
| pré-proBDNF | Pré Proteína Precursora BDNF |
| pri-miRNA | miRNA Primário Longo |
| PPARs | Receptores Ativados por Proliferadores de Peroxissoma |
| PPARγ | Receptor Gama Ativado por Proliferador de Peroxissoma |
| PUMA | Modulador de Apoptose Regulado por p53 |
| qRT-PCR | Reação em Cadeia da Polimerase da Transcriptase Reversa Tempo Real |
| RAF | Proto-oncogene Serina / Treonina-Proteína Cinase |
| RIP1 | Proteína 1 que Interage com Receptor |
| RISC | Complexo de Silenciamento Induzido por RNA |
| RB | Proteína de Retinoblastoma |
| RBP-J | Proteína de Ligação de Sinal de Recombinação para a Região J de Imunoglobulina Kappa |
| RORγt | Receptor Gama Órfão Relacionado à RAR |
| ROS | Espécies Reativas de Oxigênio |
| RUNX2 | Fator de Transcrição 2 Relacionado à Execução |
| SASP | Fenótipo Secretor Associado à Senescência |
| SIRT1 | Sirtuína 1 |
| SNC | Sistema Nervoso Central |
| SNPs | Polimorfismos de Nucleotídeo Único |
| SP | Seleção Positiva e Seleção Negativa |
| STAT | Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição |
| STAT3 | Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição 3 |
| SZ | Esquizofrenia |

| | |
|--------------|--------------------------------------|
| TCF | Fator de Células T |
| TCF7 | Fator de Transcrição 7 |
| TGN | Rede Trans Golgi |
| TL | Comprimento Telomérico |
| TRAF2 | Fator 2 Associado ao Receptor de TNF |
| TRAF6 | Fator 6 associado ao Receptor de TNF |
| Treg | Células T Regulatórias |
| Trk | Receptores de tirosina cinase |
| WEE1 | G2 Checkpoint Cinase |
| YY1 | Fator de Transcrição Yin Yang 1 |

SUMÁRIO

PARTE I

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 11 |
| 1.1 | EPIDEMIOLOGIA E CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DA ESQUIZOFRENIA | 11 |
| 1.2 | SISTEMA IMUNE E ESQUIZOFRENIA | 13 |
| 1.2.1 | Inflamação..... | 14 |
| 1.2.2 | Envelhecimento acelerado | 15 |
| 1.3 | MicroRNAs..... | 19 |
| 1.3.1 | Desordens psiquiátricas e alterações em miRNAs | 20 |
| 1.3.2 | Desregulação de miRNAs na esquizofrenia | 21 |
| 2 | JUSTIFICATIVA | 23 |
| 3 | OBJETIVOS | 24 |
| 3.1 | OBJETIVO GERAL | 24 |
| 3.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 24 |

PARTE II

| | | |
|----------|-------------------------------------|-----------|
| 4 | ARTIGO A SER SUBMETIDO | 26 |
|----------|-------------------------------------|-----------|

PARTE III

| | | |
|----------|---|-----------|
| 5 | DISCUSSÃO | 73 |
| 6 | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 80 |
| 7 | PERSPECTIVAS | 81 |
| | REFERÊNCIAS | 82 |
| | ANEXO 1 - FUNÇÕES DAS MOLÉCULAS ENVOLVIDAS NAS VIAS BIOLÓGICAS DISCUTIDAS NA DISSERTAÇÃO | 96 |

PARTE 1

Introdução

Justificativa

Objetivos

1 INTRODUÇÃO

1.1 EPIDEMIOLOGIA E CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DA ESQUIZOFRENIA

A esquizofrenia (SZ) é um transtorno de etiologia pouco elucidada, caracterizado principalmente por um grupo incapacitante de distúrbios neurais (1). De acordo com revisões sistemáticas, embora a incidência seja relativamente baixa(2) (valor mediano de 15,2 novos casos por 100.000 pessoas por ano)(3), o transtorno é considerado um importante problema de saúde pública, sendo a quarta principal causa de incapacidade em adultos (entre 18 e 45 anos) em países desenvolvidos(4). Além disso, o distúrbio também está associado à redução da expectativa de vida. Portanto, pacientes com SZ apresentam uma expectativa de vida média cerca de 15 anos menor do que a população em geral e um risco de morte por suicídio de 5% a 10% ao longo da vida(5).

A Figura 1 ilustra aspectos da fisiopatologia da SZ, considerando a associação entre microbiota e SNC, sintomas característicos e principais aspectos terapêuticos.

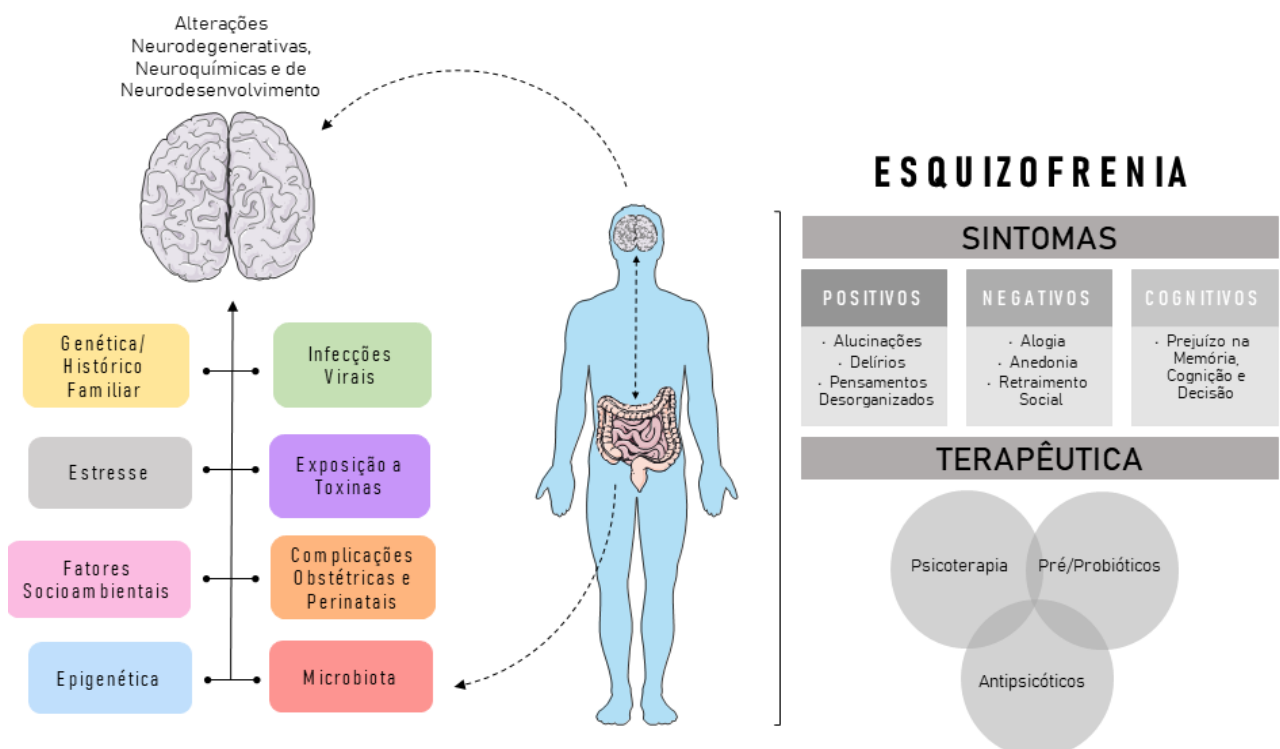


Figura 1 - Imagem ilustrativa sobre aspectos biológicos, sintomas e terapêutica da SZ. A imagem da esquerda relaciona os aspectos biológicos incluindo genética e histórico familiar, estresse, fatores socioambientais, epigenética, infecções virais, exposição a toxinas, complicações obstétricas e perinatais e alterações na microbiota. A imagem da direita ilustra os sintomas positivos, negativos e cognitivos decorrentes das alterações biológicas, juntamente com as principais estratégias terapêuticas, incluindo psicoterapia, pré/probióticos e antipsicóticos.

Fonte: Elaborada pela autora (2021).

A SZ é caracterizada pela presença de sintomas que podem ser divididos em três grupos centrais: sintomas positivos (psicóticos, ou seja, delírios e alucinações), sintomas negativos (embotamento afetivo, prejuízo motivacional, isolamento social, entre outros) e sintomas cognitivos (pior performance em diversos domínios cognitivos quando comparados a controles)(6) (Figura 1). Os sintomas positivos tendem a ter um curso marcado por relapsos e remissão, ainda que alguns pacientes apresentem sintomas psicóticos residuais de longo-prazo. Contudo, os sintomas negativos e cognitivos tendem a ser crônicos e associados aos importantes déficits de funcionamento social e ocupacional observados na SZ(7).

O Manual Conciso de Psiquiatria Clínica descreve que a faixa etária relacionada ao início do transtorno é oscilante, podendo ocorrer entre os 15 e os 45 anos, com um pico no final da adolescência para homens, e cerca de 5 a 7 anos depois para as mulheres(4). O diagnóstico envolve o reconhecimento de uma alta demanda de sinais e sintomas associados com o comprometimento do funcionamento ocupacional, cognitivo e social do indivíduo. A avaliação clínica para diagnóstico consiste em uma entrevista com o paciente e familiares próximos, sendo que a presença de outros transtornos psiquiátricos deve ser descartada. De acordo com o Manual de Diagnóstico e Estatística dos Transtornos Mentais V, apesar dos avanços na área da medicina assim como ocorre em outras doenças psiquiátricas, o diagnóstico é estritamente clínico, não havendo testes radiológicos, laboratoriais ou psicométricos sensíveis e específicos para o transtorno(8).

Os familiares de qualquer grau de pacientes com SZ apresentam risco maior de desenvolvimento do distúrbio quando comparados com a população em geral(9,10). Fatores genéticos têm grande importância no desenvolvimento da SZ, e estudos realizados há mais de 50 anos mostraram o componente biológico hereditário do transtorno(11). Estima-se que o coeficiente de herdabilidade da SZ seja cerca de 80%, o que a coloca entre as doenças com maior herdabilidade(9,12). Além disso, outros fatores de risco para o transtorno são: infecção e desnutrição durante a gestação, complicações obstétricas e perinatais(13,14), uso de cannabis(15) e idade paterna avançada(16).

O transtorno envolve diversos aspectos biológicos, incluindo diferentes mecanismos, em particular alterações do sistema nervoso central (SNC), do sistema imune e metabólico. Nesse sentido, a fisiopatologia da SZ envolve alterações na plasticidade sináptica, incluindo mudanças no funcionamento de neurotrofinas e alterações na defesa antioxidante e na peroxidação lipídica. Além disso, as respostas imunes e processos inflamatórios alterados também podem estar presentes nas fases iniciais e tardias da doença(17–21). Contudo, tais

alterações não são específicas do transtorno e podem ser observadas em outras patologias psiquiátricas(22).

1.2 SISTEMA IMUNE E ESQUIZOFRENIA

Acredita-se que o sistema imunológico é composto por duas subdivisões, sendo elas a imunidade inata e imunidade adaptativa. A imunidade inata, considerada filogeneticamente mais antiga, envolve um sistema de resposta rápida composto de mecanismos físicos de defesa (por exemplo, a pele e o muco) e células imunes específicas, incluindo monócitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, células *natural killer*, células dendríticas entre outras(23,24). O processamento de antígenos leva à ativação da imunidade adaptativa, a qual possui uma organização mais avançada, que envolve uma resposta a antígenos específicos, fornecendo a longo prazo um mecanismo de memória(25). A imunidade adaptativa é caracterizada por um componente celular abrangendo células linfocitárias T e B e um componente humoral de anticorpos específicos. Além disso, o sistema imunológico usa moléculas do complexo principal de histocompatibilidade para determinar o que é um agente estranho presente no corpo(26).

Diferentes pesquisas apontam para a presença de desregulação imunológica na SZ e outras doenças psiquiátricas(27), enfatizando que essas prováveis alterações imunológicas podem contribuir ativamente para os sintomas do transtorno(28). Dentre essas pesquisas, há muitos relatos de anormalidades em células imunes periféricas, bem como associações entre variantes de genes relacionados às citocinas(29), seus receptores, ao antígeno leucocitário humano, autoimunidade e alergias nesses distúrbios(23). Isto conclui que, independentemente da abundância de dados obtidos até o presente momento, o significado dessas associações ainda não está claro, mas sugerem que o status imunológico é relevante para esses transtornos mentais(28).

A Figura 2 ilustra possíveis alterações no sistema imune durante o desenvolvimento da SZ, mediadas por fatores de risco genéticos e ambientais durante a gestação. As primeiras respostas incluem aumento de permeabilidade de barreiras neurais, passando por ativação microglial e liberação de anticorpos e citocinas pró-inflamatórias, afetando o funcionamento sináptico e com isto, desencadeando sintomas comportamentais característicos da SZ.

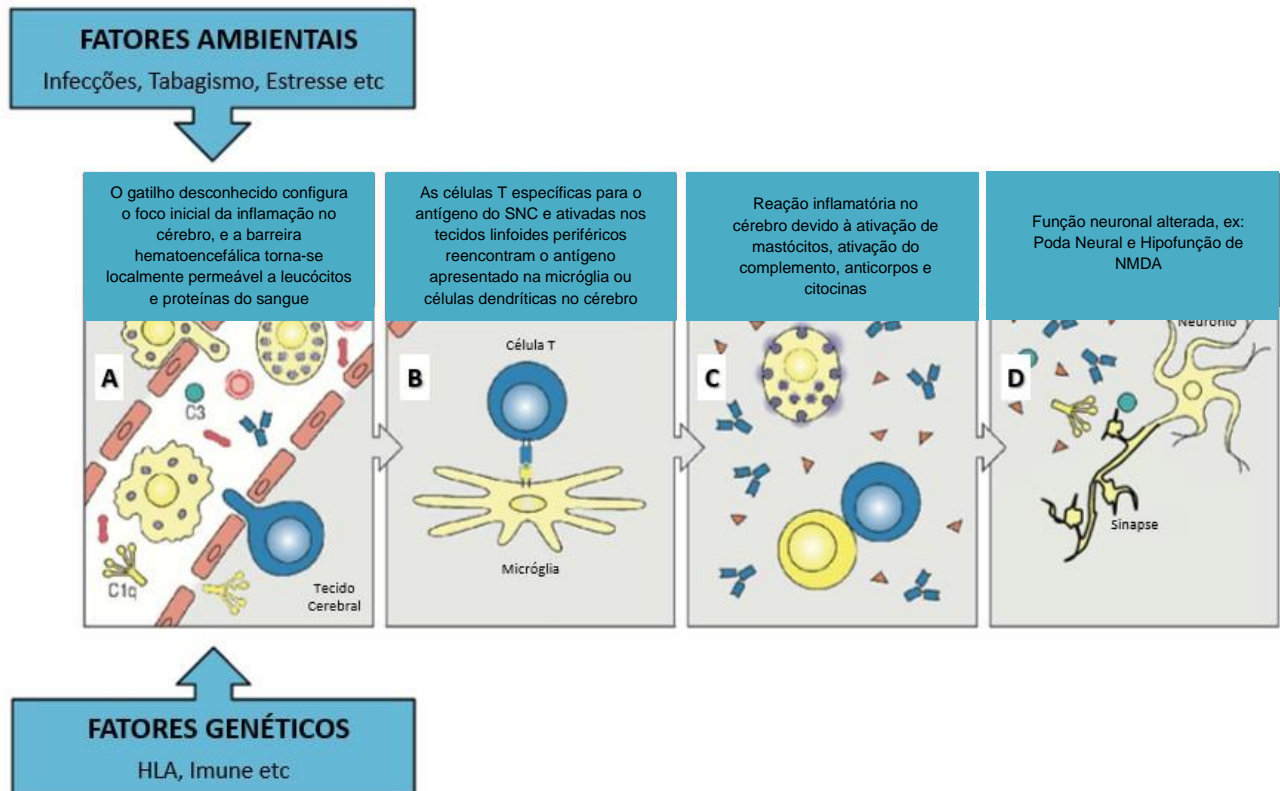


Figura 2 - Possíveis alterações no sistema neuroimune e prejuízo sináptico durante o desenvolvimento da SZ. O gatilho da SZ pode estar relacionado com fatores ambientais e genéticos durante a gestação, promovendo uma gradativa resposta desde o desenvolvimento embrionário ao período pós-natal, incluindo (A) respostas inflamatórias com aumento de permeabilidade de barreiras neurais e entrada de células T no encéfalo; (B), ativação microglial; (C), liberação de anticorpos e citocinas e (D), poda neural excessiva e prejuízo do sinal glutamatérgico do tipo NMDA.

Fonte: Adaptado de Pouget (2016) (30).

1.2.1 Inflamação

A inflamação é o mecanismo de defesa natural do corpo para remover estímulos prejudiciais, como danos teciduais e agentes patogênicos. Em geral, a inflamação é classificada como inflamação aguda ou crônica(31). Além disso, diversas interações entre fatores ambientais e componentes geneticamente codificados da resposta inflamatória determinam se seu resultado será em prol da saúde ou doença(32). Sendo assim, além de proteger o corpo, a inflamação pode ter efeitos deletérios, como é visto em doenças infecciosas e autoimunes(33).

Os transtornos psiquiátricos e a inflamação estão intimamente ligados e, possivelmente, alimentando-se em um ciclo bidirecional. Dentro desse ciclo, o estabelecimento da inflamação pode contribuir para a fisiopatologia e progressão clínica desses distúrbios. Por outro lado, os indivíduos com tais transtornos exibem fortes características do processo inflamatório, incluindo aumento dos níveis circulantes de moléculas como as citocinas(34), que são proteínas

ou glicoproteínas envolvidas no desenvolvimento, sincronização e supressão das respostas imunológicas(35).

A SZ é caracterizada por genes de risco que promovem a inflamação e por fatores de estresse ambiental e psicossocial(33). Os pacientes com o transtorno apresentam diversos marcadores de disfunção imunológica e senescência prematura em níveis moleculares, celulares e teciduais, os quais contribuem para a presença de todos os componentes de uma resposta inflamatória típica(34). Curiosamente, alterações nos perfis de neurotransmissores classicamente descritos na SZ também foram relacionados ao processo de neuroinflamação desses indivíduos e podem ser os potenciais desencadeadores do início e manutenção dos sintomas da patologia(33).

Além disso, estudos evidenciam que indivíduos com SZ apresentam altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, níveis aumentados de reagentes de fase aguda (por exemplo, proteína C reativa, CRP), quimiocinas e moléculas de adesão solúveis em sangue periférico e líquido cefalorraquidiano(36,37). De fato, a fase do transtorno parece influenciar no padrão de moléculas alteradas, porém a IL-6 mostra-se consistente em todos os estágios(38), podendo junto de outras moléculas ser associada ao nível de gravidade presente nos indivíduos com SZ(35,39).

1.2.2 Envelhecimento acelerado

Apesar do envelhecimento acelerado não ser específico da SZ, pois é frequentemente visto em outros transtornos mentais graves(40), uma série de achados na literatura apoiam a presença prematura de fenótipos associados ao envelhecimento fisiológico no transtorno, principalmente pela redução de 10-25 anos na expectativa de vida desses indivíduos quando comparados com pessoas não afetadas(41), bem como uma taxa de mortalidade de 2 a 12 vezes maior do que a população geral com idade comparável(42,43).

O processo de envelhecimento pode ser definido como um conjunto de alterações anatômicas e fisiológicas dependentes do tempo que reduzem a capacidade funcional, a homeostase e diminuem a capacidade de ajuste ao estresse(44). Um biomarcador sugerido desse processo, é o comprimento telomérico (TL)(45), o qual vem sendo relacionado com transtornos psiquiátricos(46), especialmente na SZ onde mostra-se reduzido quando comparado aos controles saudáveis(47,48). Apesar de não ser considerado um biomarcador universal, a redução do TL presente nesses indivíduos pode representar um maior comprometimento

relacionado a um envelhecimento acelerado juntamente com a gravidade e duração do transtorno(49).

Além disso, a neuroplasticidade apresenta-se alterada tanto na SZ quanto no envelhecimento normal(50,51). Estudos post-mortem destacaram que o transtorno está associado a aberrações que afetam amplamente os espinhos dendríticos e diversos aspectos da maquinaria celular envolvida na plasticidade sináptica(52,53). Por exemplo, a densidade da coluna dendrítica é reduzida em várias regiões do cérebro, incluindo os córtices pré-frontal e temporal(54–56). Curiosamente, essas mudanças dentro da neuroplasticidade podem ser vinculadas ao processo de aprendizado, memória e uma variedade de funções cognitivas nas quais tanto os pacientes com SZ quanto idosos apresentam uma ampla gama de deficiências(57,58). Portanto, conforme esperado, estudos evidenciam que indivíduos com o transtorno apresentam um pior desempenho em testes de cognição quando comparados aos controles(59), bem como uma taxa acelerada de redução do volume encefálico relacionada ao envelhecimento(60,61).

Na SZ, muitos de seus indivíduos demonstram prematuramente doenças associadas à idade, como distúrbios cardiovasculares(62) e até problemas metabólicos envolvidos com a tolerância à glicose e resistência à insulina(63,64). Tais disfunções são tão representativas na fisiopatologia do transtorno que enquadram-se em um dos principais motivos de óbitos desses pacientes, superando até o índice de suicídio(42). Sendo assim, sugere-se que a SZ não é apenas um transtorno encefálico, mas sim uma doença multifatorial que engloba diversas alterações biológicas sistêmicas(65).

Atualmente, possíveis explicações para o rápido envelhecimento na SZ incluem diversas questões socioeconômicas, tabagismo, sedentarismo, cuidados de saúde precários, medicamentos antipsicóticos e outros hábitos não saudáveis. No entanto, vários estudos sugerem que o aumento das comorbidades relacionadas à idade e sua relação com o índice de mortalidade no transtorno pode não ser apenas atribuível a esses fatores(40). Portanto, propõe-se que um potencial contribuinte para esse processo seja o aumento de inflamação nesses indivíduos(33).

O envelhecimento humano apresenta uma inflamação crônica de baixo grau, conhecida como “*inflammaging*”, processo que se caracteriza pelo aumento crônico dos níveis de citocinas e fatores pró-inflamatórios relacionados à progressão da senescência(66). Vários mecanismos celulares e moleculares estão envolvidos no processo de *inflammaging* (Figura 3), incluindo disfunção mitocondrial, autofagia e mitofagia defeituosa, ativação de inflamassoma, resposta a

danos no DNA e disbiose(67). Para maiores esclarecimentos, as funções basais relacionadas a cada molécula discutida na Figura 3 estão listadas no Anexo 1¹.

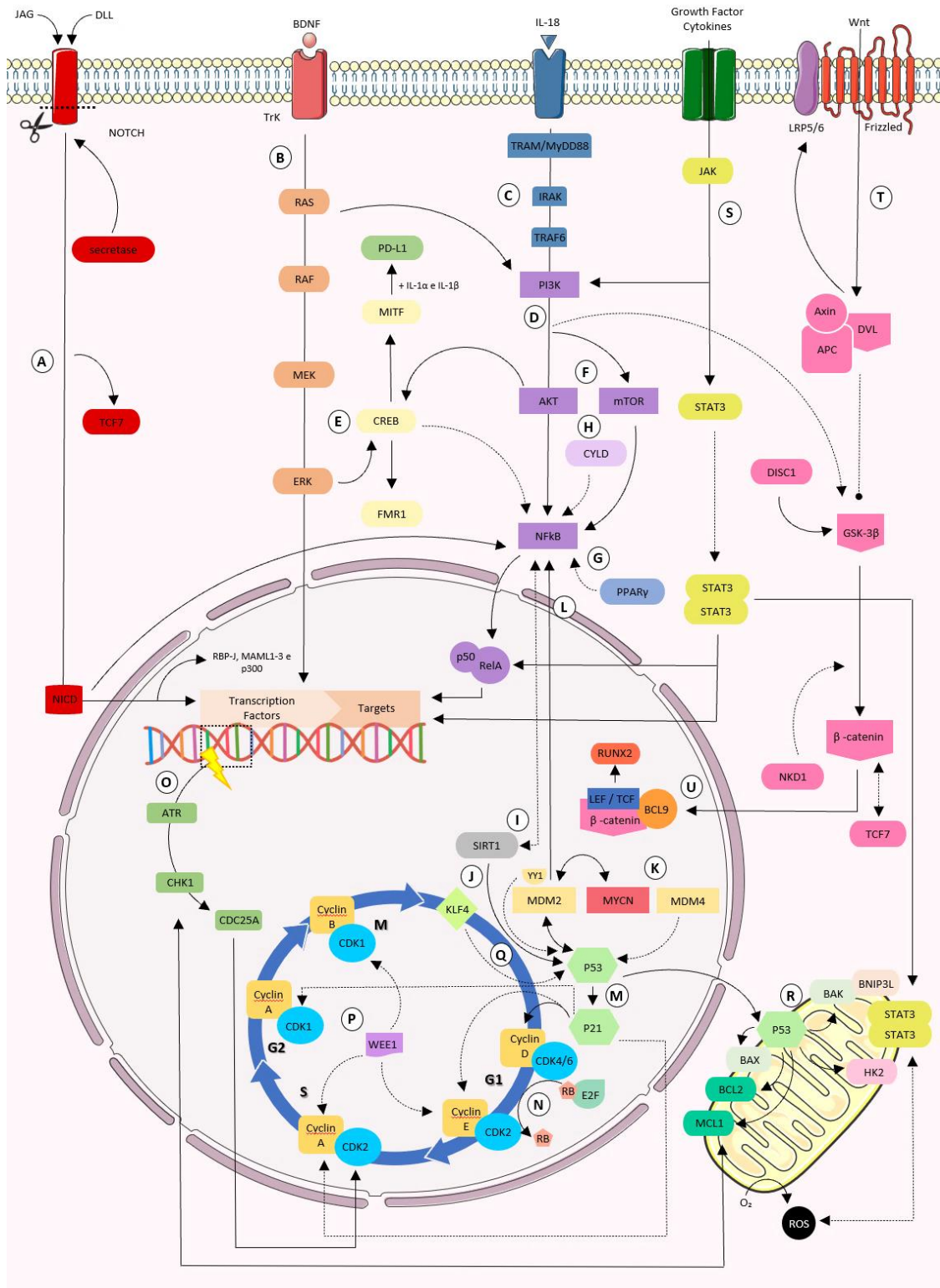


Figura 3 - Representação basal dos mecanismos celulares e moleculares possivelmente envolvidos no processo de *inflammaging*. (A) A via Notch, que através da clivagem proteolítica libera NICD para regular a transcrição. (B) A ligação do BDNF com o receptor Trk ativa a via de sinalização Ras / Raf / MEK / ERK. (C) A

¹ Página 96 da dissertação.

ligação de IL-18 à proteína MyD88, que leva à fosforilação de IRAKs e TRAF6. (D) O TRAF6 medeia a ativação de PI3K, que recruta Akt e, em seguida, fosforila mTOR e suas moléculas de sinalização. A ativação de Akt também aumenta a fosforilação de GSK-3 β , resultando em sua inativação. (E) CREB é fosforilado por ERK1 / 2, que pode regular negativamente o NF- κ B e contribuir para a regulação da FMRP através do gene FMR1. CREB também promove a ativação do MITF. A diminuição da expressão de MITF, juntamente com o aumento da secreção de IL-1 α e IL-1 β , pode iniciar a expressão de PD-L1. (F) Na via PI3K / Akt / mTOR, AKT e mTOR são capazes de promover a translocação nuclear de membros NF- κ B. (G) NF- κ B é modulado por PPAR γ . (H) CYLD regula negativamente a sinalização de NF- κ B por meio da desubiquitinação de seus fatores de sinalização. (I) SIRT1 antagoniza NF- κ B, levando a um fenótipo pró-inflamatório. (J) SIRT1 desacetila p53, o que pode impedir sua translocação nuclear. O SIRT1 também interage diminuindo a atividade transcricional e a expressão de proteínas como p21 e PUMA. (K) O baixo nível de p53 é mantido por meio do MDM2, que atua em conjunto com moléculas como MYCN, MDM4 e YY1. (L) MDM2 também tem efeito agonístico de NF- κ B durante a inflamação, onde se liga à sinalização de NF- κ B / p53, promovendo NF- κ B e bloqueando p53. (M) p53 no ciclo celular, atuando indiretamente nas transições de G1 para S e G2 para mitose. (N) A fase G1, RB, é hiperfosforilada pelo complexo Ciclina D e CDK4 / 6, resultando na liberação de fatores E2F, que estimulam genes envolvidos na indução de entrada na fase S. (O) O dano ao DNA ativa o ATR, que fosforila o CHK1. A sinalização de ATR e CHK1 degrada a fosfatase CDC25A, evitando a transição S / G2 prematura através da cinase CDK2. (P) O dano ao DNA promove a atividade WEE1, que é regulada positivamente para promover a parada do ciclo celular no ponto de verificação intra-S ou G2 / M. (Q) Após o dano ao DNA, KLF4 regula o ciclo celular, estimulando o inibidor de CDK chamado p21. (R) p53 regula a expressão da família BCL-2, que quando desregulada pode aumentar o dano mitocondrial através dos níveis de ROS e, conseqüentemente, ativar BNIP3 / BNIP3L e HK2. (S) Via de sinalização JAK / STAT, que dimeriza STAT3 para sua translocação para o núcleo, onde pode modular a expressão gênica. (T) A via de sinalização dependente de β -catenina, iniciada pela ligação de Wnt aos receptores LRP-5/6 / FZD, induz DVL, resultando na agregação de AXIN, GSK3 β , CK1 e APC complexo no receptor. DISC1 inibe GSK3 β , estabilizando β -catenina e ativando fatores de transcrição. (U) A inibição de GSK3 β eleva a concentração de β -catenina citosólica, que migra para o núcleo e se acumula, interagindo com TCF / LEF e BCL9, aumentando a atividade de transcrição mediada por β -catenina.

Fonte: Elaborada pela autora (2021).

A contribuição dessa inflamação crônica para os principais transtornos mentais tem recebido atenção crescente, revelando potenciais alvos farmacológicos(38). De fato, a SZ é caracterizada por genes que promovem a inflamação(33) associados a uma desregulação das respostas imunológicas, refletindo em perfis anormais de citocinas pró- e anti-inflamatórias em pacientes afetados(68). Portanto, sabendo que a inflamação está implicada na biologia do envelhecimento, nos distúrbios médicos associados ao avanço da idade, bem como na fisiopatologia da SZ(40), hipotetiza-se que o fenótipo senescente nesses indivíduos poderia ser, então, a causa ou consequência do processo de *inflammaging* e seus mecanismos subjacentes, como por exemplo, o aumento do estresse oxidativo(67).

Sendo assim, uma exploração mais aprofundada dos padrões de envelhecimento e suas implicações na fisiopatologia da SZ mostra-se necessária(65), visando uma maior compreensão dos mecanismos dessas mudanças e buscando remediar ou prevenir o transtorno. Nesse contexto, os biomarcadores são fortes candidatos a fornecerem informações sobre os mecanismos subjacentes que podem estar relacionados ao *inflammaging* e sua contribuição para fatores envolvidos no envelhecimento acelerado nesses indivíduos.

1.3 MicroRNAs

Os microRNAs (miRNAs) são uma classe de RNAs pequenos e de fita simples, endógenos e não codificadores, de 22 a 25 nucleotídeos de comprimento, que participam da regulação pós-transcricional da expressão gênica(69). Em humanos, aproximadamente 2500 miRNAs maduros foram encontrados(70,71), os quais estima-se que regulam a tradução de até 60% dos genes codificadores de proteínas envolvidas em quase todos os processos vitais, incluindo desenvolvimento, diferenciação, regulação do crescimento e apoptose(72).

Os miRNAs são gerados a partir de regiões específicas de diversos genes, os quais são transcritos em um miRNA primário longo (pri-miRNA) pela enzima RNA polimerase III(73). Depois de transcrito, o pri-miRNA é clivado no núcleo por um complexo formado pelas proteínas DGCR8/Drosha, sendo Drosha um membro das enzimas RNase III, que são um tipo de endoribonuclease específica para RNA de fita dupla e DGCR8 uma proteína de ligação a RNA de fita dupla que funciona como a subunidade não catalítica do complexo do microprocessador(74,75).

Após a clivagem, pri-miRNA torna-se uma estrutura mais curta em forma de grampo a qual constitui o miRNA precursor (pré-miRNA)(76). O pré-miRNA é então transportado para o citoplasma pela proteína exportina 5(77). No citoplasma, o pré-miRNA sofre a ação da enzima Dicer, uma RNAase III, produzindo então uma fita dupla de aproximadamente 22 pares de bases. Após a separação desse duplex, uma das fitas será degradada e outra será acoplada ao Complexo de Silenciamento Induzido por RNA (RISC)(78). O complexo RISC, por sua vez, liga-se em sequências localizadas predominantemente na região 3'UTR do RNAm, podendo bloquear a sua tradução e/ou conduzi-lo à degradação(79–81). Esse processo pode ser acompanhado na Figura 4.

Sendo assim, para que haja um reconhecimento específico do RNAm alvo pelo seu miRNA, não é necessária a complementaridade total de bases entre essas duas sequências. Em vez disso, uma pequena sequência de 6–8 nucleotídeos na extremidade 5' do miRNA, conhecida como sequência “*seed*” proporciona grande parte da regulação gênica via miRNA(82). Portanto, diversas interações entre miRNAs e seus alvos já foram validadas experimentalmente em diferentes espécies e diversas interações entre rotas de sinalização já foram descritas(83). Dessa forma, há uma crescente evidência que os miRNAs possuem funções centrais nessas rotas através da regulação da tradução de seus componentes proteicos. Em contrapartida, foi demonstrado que algumas dessas rotas de sinalização podem, por si só,

modular a expressão de diversos miRNAs, resultando em uma dependência funcional bidirecional entre miRNAs e rotas de sinalização(84).

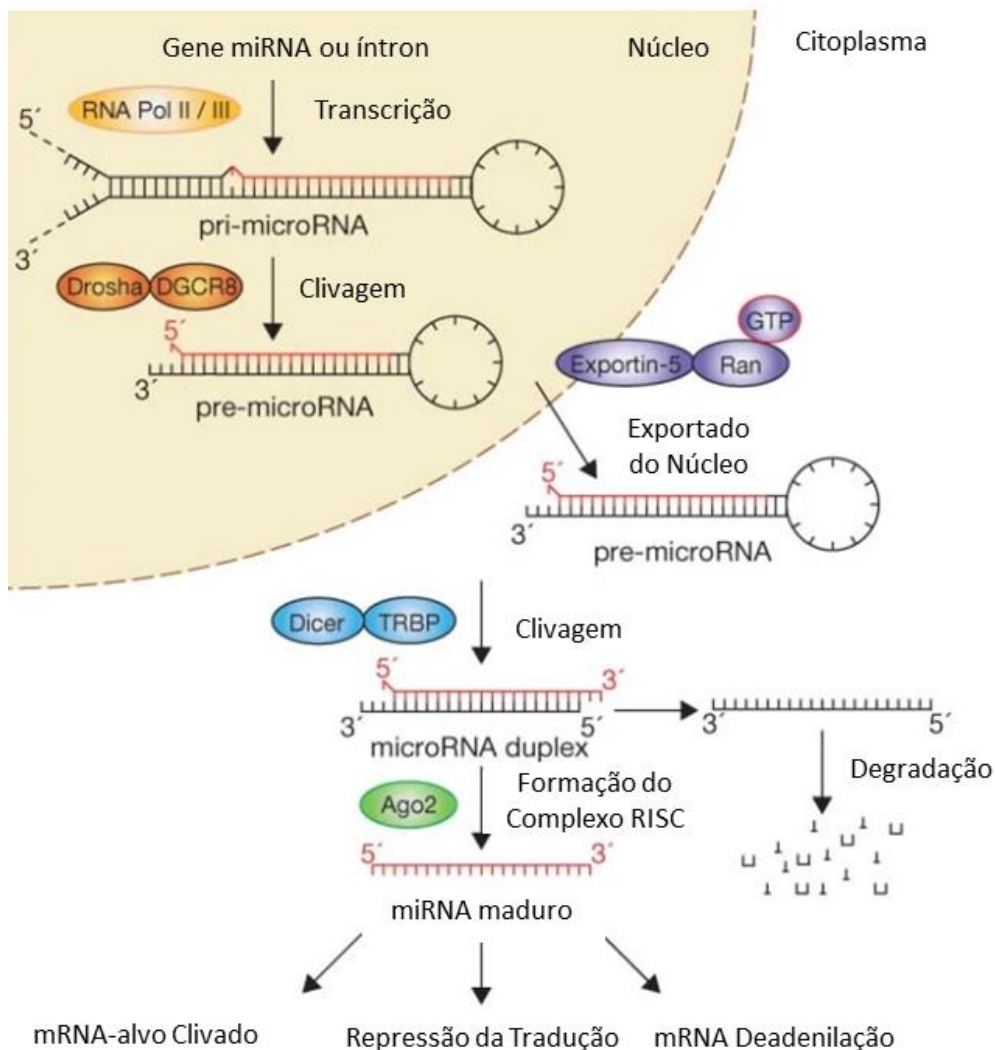


Figura 4 - Biogênese de miRNAs e suas possíveis funções.

Fonte: Adaptado de Winter *et al.*, (2009)(85).

1.3.1 Desordens psiquiátricas e alterações em miRNAs

Nos últimos anos, a análise de biomarcadores periféricos não invasivos tem sido explorada com o objetivo de complementar o diagnóstico de muitas doenças, bem como sua progressão(86,87). Os miRNAs, uma classe de RNAs não-codificantes (Figura 4), desempenham papéis-chave na regulação da expressão gênica, modulando importantes aspectos do funcionamento neural(88,89). Cerca de 70% dos miRNAs humanos expressam-se no sistema nervoso(90) e, portanto, estão envolvidos na regulação da neurogênese, desenvolvimento de sinapses, orientação de axônios e plasticidade neuronal no cérebro tanto

em desenvolvimento quanto adultos(88,91,92). Além disso, os miRNAs também apresentam a capacidade de cruzar a barreira hematoencefálica (BBB) devido ao seu pequeno tamanho, permanecendo estáveis principalmente no sangue e conseqüentemente, afetando outras áreas além da periferia(93).

A interrupção na expressão de miRNAs ou de seus respectivos alvos pode levar a condições patológicas associadas às funções neurocognitivas(91). Sendo assim, diversos estudos defenderam a hipótese de que mudanças nas expressões de miRNAs podem desempenhar um possível papel nas alterações presentes nos mecanismos genéticos e biológicos de diversas doenças psiquiátricas, e que suas expressões anormais apresentam potencial para serem biomarcadores desses transtornos(94,95).

Na última década, pesquisas apoiaram essa relação a partir de investigações de expressão que usam microarrays e análises quantitativas de reação em cadeia da polimerase da transcriptase reversa (qRT-PCR), associação genética que identificam polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) e variações do número de cópias (CNVs)(89). Portanto, além da SZ, cada vez mais é compreendido o importante papel dos miRNAs como uma chave molecular em outros distúrbios neuropsiquiátricos, como transtorno depressivo maior(96) e transtorno bipolar(97).

Apesar dos desafios, a pesquisa com miRNAs tem um alto potencial para a descoberta de biomarcadores na área de transtornos neuropsiquiátricos(93). Uma vez que um miRNA específico está envolvido na regulação da expressão de proteínas responsáveis por uma via de sinalização importante para o transtorno, esse tipo de marcador pode tornar-se contribuinte para o desenvolvimento de intervenções terapêuticas alvos em um futuro próximo(98). Além disso, uma vez estabelecidos e validados, os miRNAs biomarcadores tendem a acelerar o diagnóstico e monitoramento das patologias, bem como criam a possibilidade de estabelecimento de abordagens personalizadas para os perfis de pacientes, permitindo, assim, intervenções terapêuticas mais específicas(99).

1.3.2 Desregulação de miRNAs na esquizofrenia

A fisiopatologia da SZ abrange a desregulação de genes que tendem a convergir funcionalmente para o risco de doença(100). Portanto, biomarcadores que reflitam essas alterações apresentam um grande potencial de melhorar substancialmente o manejo clínico do transtorno e até mesmo revolucionar abordagens voltadas ao desenvolvimento de tratamentos(101). Sendo assim, um dos primeiros estudos que relacionaram miRNAs e SZ,

publicado em 2007 demonstra regulação negativa do miR-106 e regulação positiva dos miR-26b, miR-29b, miR-195, miR-92, miR-30a-5p, miR-30d, miR-20b, miR-29c, miR-29a, miR-212, miR-7, miR-24, miR-30e, miR-9-3p no córtex pré-frontal de indivíduos com SZ(102). Outro estudo, publicado em 2010, investigou os miR-15a, miR-15b, miR-181a, miR-181b, miR-107, miR-16, miR-128, miR-195, miR-19a, miR-20a, miR-219, miR-26b, miR-27a, miR-29c, miR-338 e miR-7, e demonstrou que cerca de 9,5% dos miRNAs estavam elevados no córtex pré-frontal dorsolateral, área de Brodmann 9 (BA9) de indivíduos com SZ(103).

Outro estudo publicado em 2011, avaliando leucócitos de 30 pacientes com SZ, demonstra seis miRNAs regulados positivamente, incluindo os miR-449a, miR-564, miR-432, miR-548, miR-572 e miR-652, e somente o miR-34a foi regulado negativamente(104). Semelhantemente, um ano depois outro estudo demonstra que os miR-181b, miR-219-2-3p, miR-1308 e let-7g estavam aumentados e o miR-195 diminuído no soro de indivíduos com SZ(105). Além disso, em um dos maiores estudos de associação do genoma de SZ realizados pelo Psychiatric Genome Consortium, o SNP rs1625579 dentro do íntron para uma transcrição primária de miR-137 destacou-se por demonstrar a relação mais forte com SZ. Quatro outros loci associados ao transtorno também foram alvos previstos do miR-137, apoiando seu vínculo com a fisiopatologia da SZ(106). Em 2016, o miR-137 foi sugerido como um biomarcador potencial para a SZ por estar aumentado no sangue total de 44 pacientes com SZ, bem como 70,5% de sensibilidade de expressão e 84,1% de especificidade para diferenciar os pacientes dos controles(107).

Apesar de diferentes dados, a literatura ainda está em constante crescimento em relação a mecanismos moleculares de ocorrência e desenvolvimento da SZ, especialmente tratando-se de biomarcadores que possam ser obtidos diretamente do sangue. Portanto, melhorias contínuas nas estratégias de detecção, avaliação e intervenção relacionadas aos miRNAs estão promovendo o estabelecimento de um futuro diagnóstico e tratamento da SZ, bem como outros transtornos psiquiátricos(108).

2 JUSTIFICATIVA

Uma série de achados na literatura da SZ apoiam a hipótese de envelhecimento acelerado em seus indivíduos. Porém, uma exploração mais aprofundada dos padrões desse envelhecimento e suas implicações na fisiopatologia do transtorno mostra-se necessária, visando uma maior compreensão dos mecanismos dessas mudanças e buscando futuras estratégias terapêuticas para SZ. Portanto, as alterações nos perfis de expressão dos miRNAs podem ser utilizadas como ferramenta para auxiliar na elucidação de possíveis vias de sinalização alteradas, bem como de seu envolvimento em processos como o *inflammaging* e concomitante fenótipo senescente desses indivíduos. Ademais, a expressão alterada de miRNAs também pode representar potenciais marcadores para detecção e diagnóstico, além de servir de base para estudos que visem estratégias terapêuticas para o transtorno.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O presente projeto tem como objetivo avaliar alvos biológicos para um conjunto de miRNAs alterados na SZ e sua possível relação com vias biológicas envolvidas no processo de *inflammaging*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Selecionar miRNAs previamente descritos como alterados na SZ;
- b) Do total de miRNAs alterados, selecionar os que modulam alvos biológicos envolvidos nas vias do *inflammaging*;
- c) Desenvolver figuras contendo as vias biológicas potencialmente envolvidas no *inflammaging* e incluir os miRNAs com potencial modulação de moléculas de cada via;
- d) Levantar dados, informações, teorias e resultados que relacionem as alterações entre alvos, miRNAs e vias de sinalização com o processo de *inflammaging* e elencar alvos em potencial para serem analisados na circulação de indivíduos com SZ.

PARTE 2

Artigo a ser submetido

4 ARTIGO A SER SUBMETIDO

MicroRNAs in Schizophrenia Inflammaging: from Molecular Mechanisms to Insights in Translational Medicine

Marina M. B. P. de Oliveira*¹, Clarissa S. Gama ², Moisés E. Bauer ^{3,4}, Carmem Gottfried*^{1,4,5,6}

¹ Department of Biochemistry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.

² Laboratory of Molecular Psychiatry, Hospital de Clínicas de Porto Alegre; Programa de Pós-Graduação em Psiquiatria e Ciências do Comportamento, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

³ Laboratory of Immunobiology, School of Health and Life Sciences, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil.

⁴ National Institute of Science and Technology on Neuroimmunomodulation (INCT-NIM), Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil.

⁵ Translational Research Group in Autism Spectrum Disorder (GETTEA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.

⁶ Autism Wellbeing And Research Development (AWARD) Institute, BR-UK-CA

***CORRESPONDING AUTHORS:**

MBPO (mmbpdo@gmail.com) and CG (cgottfried@ufrgs.br)

Departamento de Bioquímica, ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Ramiro Barcelos 2600 – 21111. CEP: 90035-003 Porto Alegre-RS, Brazil.

Abstract

Increasing evidence suggests that regulators of post-transcriptional gene expression, called microRNAs (miRNAs), play a crucial role in the pathophysiology of schizophrenia (SZ). However, their regulatory mechanisms involved with premature aging are still unknown. Aging is associated with low-grade systemic inflammation, “Inflammaging”, a process characterized with increased plasma levels of pro-inflammatory factors involved with senescence and development of age-related pathologies. It is hypothesized that altered circulating miRNAs levels may be translated into impaired signaling pathways related to inflammaging, mainly through transcriptional modifications of their target genes. Guided by this hypothesis, we aimed to search the validated targets for a set of thirteen miRNAs previously described in SZ, as well as the metabolic pathways that may be influenced by these miRNAs. The selected miRNAs can modulate immune system, cell differentiation, cell cycle, inflammation, oxidative stress and mitochondrial dysfunction. We conclude that the alterations found in the expression profiles of miRNAs can be used as tools to help elucidate possibly altered signaling pathways, and may contribute to the chronic systemic inflammation described in SZ. Furthermore, the abnormal expression of miRNAs may also represent potential markers for detection and diagnosis, in addition to serving as a basis for studies aimed at therapeutic strategies for the disorder.

Key Words: MicroRNAs; Schizophrenia; Accelerated Aging; Inflammaging; Biomarkers; PD-1; PD-L1.

1. Introduction

Schizophrenia (SZ) is a psychiatric condition of incomplete etiology, characterized by a disabling group of brain disorders (1) that affect up to 1% of the human population (2) and have extensive genetic heterogeneity (3). SZ individuals have a reduced life expectancy (10-25 years less), increased (2X) mortality rates to those of the general population (4), and have been associated with several features of accelerated aging (5).

Even though accelerated aging is not a specific feature of SZ (5), many comparisons and similarities have been made between this process and the disorder, considering that understanding is still limited about what causes this relationship and which potential biomarkers are presenting altered with advancing age of these individuals (6).

The aging immune system (inflammaging) is associated with remodeling changes characterized by the establishment of a low-grade chronic pro-inflammatory environment, associated with increased plasma levels of pro-inflammatory cytokines, acute-phase proteins, chemokines, soluble cytokine receptors, and reactive oxygen species (ROS) (7). These changes have been similarly described in SZ and implicated with disease progression(8–10).

In this context, the small single-stranded non-coding RNA molecules, corresponding a family of microRNAs (miRNAs, miR) of approximately 19-25 nucleotides, are important regulators of several age-related signaling pathways (11) that may contribute to the development of early features of inflammaging in SZ. For instance, miRNAs may interfere with immune cell differentiation, cell cycle changes, inflammation, oxidative stress and mitochondrial dysfunction.

We therefore investigated here the role of thirteen miRNAs, found previously dysregulated in SZ (Supplementary Table S2) along with their validated targets, seeking to indicate altered signaling pathways and biological implications that may contribute to the inflammation process observed in SZ. Furthermore, we also discuss the potential clinical utility of miRNAs as new biological markers and therapeutic targets for the disorder, indicating new avenues for intervention.

2. Molecular Mechanisms from miRNAs Dysregulation

The Supplemental Figure S1 summarizes the potential signaling pathways to be modulated by an altered miRNAs set in SZ, describing their basal mechanism. Additional details about this dysregulation will be provided in the subsequent figures.

2.1 Attenuated Notch Signaling and Alteration of T Cell Differentiation

The Notch signaling pathway plays a crucial role in adult brain homeostasis and neurodevelopment (12). Therefore, this fact makes it a relevant candidate for the exploration of psychotic disorders(13). Research correlates the Notch pathway with mechanisms implicated in the pathophysiology of SZ in part based on the demonstration of low-grade systemic inflammation and altered T-cell activation in the disorder (13,14). The Notch pathway is based on signaling through Delta (DLL) and Jagged (JAG) family ligands, which induce intramembrane cleavage of the Notch receptor (NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3 or NOTCH4) and result in the release of an active intracellular fragment denominated Intracellular Notch Domain (NICD)(15). The JAG family ligands are important in the effector T cell differentiation process, acting mainly in the induction of Th2 responses(16). Jagged 1 (J1) instructs the differentiation of Th2 cells, but its impact on the generation of Th1, Th17 and TCD8+ cells has not been determined(17,18). J1 also negatively regulates Forkhead Box P3 (Foxp3) expression,

limiting the immunosuppressive activity of Regulatory T cells (Tregs)(19) and the production of cytokines such as IL-10 and Transforming Growth Factor Beta (TGF- β)(20).

The DLL family is activated through inflammatory stimuli that regulate the expression of ligands such as Delta Like Canonical Notch Ligand 1 (DLL1) and Delta Like Canonical Notch Ligand 4 (DLL4)(16). Both ligands are considered important factors for inducing Th1 (17,21,22) and Th17 cell differentiation (23), but DLL4 also has the ability to modulate Treg cell stability and plasticity in inflammatory environments(24,25). Furthermore, previous studies have shown that both DLL1 and DLL4 can downregulate Th2 cell differentiation(26), consequently decreasing IL-4 and IL-13.

The dysregulation of miRNAs present in SZ implies changes in important factors downstream of the Notch pathway (Figure 1). For example, miR-34a decreases JAG expression, impairing Th2 differentiation with consequently decreased production of anti-inflammatory cytokines such as IL-4, IL-5, IL-10 and IL-13. In this context, the decreased JAG can also result in the activation of Treg cells – with greater expression of Foxp3, repress the transcription factor for Th17 cells denominated RAR-related Orphan Receptor Gamma (ROR γ t) and the pro-inflammatory cytokines IL-17, IL-17F and IL-21 (27). The miR-34a and miR-130b may also decrease Notch signaling by downregulating DLL1 and DLL4, decreasing Th1 and Th17 cells and favoring the differentiation of Th2 cells (Figure 1).

Interestingly, some implications generated by the downregulation of DLL1 and DLL4 are also compatible with immunological changes seen during aging. For example, the shift from Th1 to Th2 profile, decreased production of IL-2 and increased the levels of IL-4, IL-5, IL-10 and IL-6 (28). In addition, similar characteristics were evidenced in SZ, with decreased production of Interferon Gamma (IFN- γ) and IL-2, indicating attenuated response of Th1 cells (29,30). Activation of the Th2 response is also described in the disorder, including increased levels of IL-4 and IL-10 (31). Furthermore, in a study of cerebrospinal fluid, IL-10 levels were related to the severity of psychosis in individuals with SZ (32).

Decreased expression of JAG and DLL ligands also affects the mutually interconnected pathways of Th17 and Treg development(33). Th17 cells secrete IL-17, IL-22 and IL-23, recruit neutrophils and promote inflammation at the site of infection. In contrast, Treg cells produce anti-inflammatory cytokines such as IL-10 and TGF- β , suppress the activity of a variety of immune cells and inhibit immune responses (34). The imbalance between these two cell subsets may influence the outcome of cell-mediated and humoral immune responses. Th17 cells represent a pro-inflammatory subset, when in excess, contributes to autoimmunity and tissue damage. Treg cells display an antagonistic effect, and when impaired may also contribute to

the same problems (33). Furthermore, the Th17 / Treg imbalance is a characteristic of the aging process (35), which may be associated with chronic inflammation, increased autoimmune diseases and the development of inflammatory-mediated diseases described in the elderly (36).

The decreased JAG expression induced by miR-34a may increase Tregs cells and Foxp3 expression, and may be thus contrasting to the pro-inflammatory state found in SZ. However, increased Tregs activity is observed in response to inflammatory states, emphasizing that there is a dysregulation between the pro and anti-inflammatory states (37).

2.2 Downregulation of BDNF and Related Signaling Pathways

The Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) is an important molecule in the aging process, as it is considered protective against oxidative stress in the central nervous system (38). With advancing age, there is a decline in the antioxidant potential, increasing the brain's vulnerability to the harmful effects of oxidative damage associated with decreased BDNF levels (39). Furthermore, age-related reductions in circulating BDNF levels may be related to the loss of gray matter volume and poorer memory performance (40). In addition, the chronicity of psychiatric disorders is also accompanied by changes in BDNF levels (41). Data from clinical SZ studies suggest that BDNF plays an important role in the pathophysiology of the disorder; however, there is discrepant data, sometimes indicating increase, others indicating decrease in BDNF levels in post-mortem brain samples, peripheral tissues and genetic association studies (42). Nevertheless, a meta-analysis in non-medicated and treatment-naive SZ patients revealed that BDNF levels decrease with age, independently of medication (43). Inflammation may also affect the expression of BDNF in the brain, with pro-inflammatory cytokines or lipopolysaccharides reducing this neurotrophin (44–46). Psychotic episodes in SZ individuals are related to increased neuroinflammation and activated microglia (47,48), suggesting that pro-inflammatory cytokines involved in this process may modulate the expression of BDNF (49) through different miR, particularly miR-132 (Figure 2). Furthermore, decreased levels of BDNF affects the Mitogen Activated Protein Kinase / Extracellular Signal-regulated Kinase (MAPK/ERK) pathway. Proto-oncogene Serine/Threonine-protein Kinase (RAF) is downregulated by miR-7 and miR-195 and MEK and MAPK1 by miR-34a and miR-132, respectively.

In the MAPK/ERK pathway, RAS and different growth factors, particularly from the class of cytokines and hormones influence the activation of Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), resulting in the recruitment of Protein Kinase B (Akt) which, when activated,

phosphorylates the Mammalian Target Protein of Rapamycin (mTOR) and it is signaling molecules, resulting in protein translation(50). Evidence demonstrates a critical role for mTOR signaling in the innate and adaptive immune systems(51–54) and that, acting with Phosphatidylinositol 3-kinase / Protein Kinase B (PI3K / Akt), form a pathway that controls many cellular processes, including growth, proliferation, apoptosis and migration(55).

The PI3K / Akt pathway targets Glycogen Synthase Kinase-3 (GSK-3), a protein encoded by GSK-3 α and GSK-3 β (56), which is involved in a wide range of pathologies such as diabetes, cancer and inflammatory, neurodegenerative and psychiatric diseases(57). The PI3K / Akt / GSK-3 β signaling pathway plays an important role in glutamate uptake(58), pathways associated with neuroplasticity and cell migration(59,60). Therefore, the involvement of this pathway in SZ is highly relevant, considering that the levels and activity of GSK3 β are decreased in individuals with the disorder(61,62) and the alteration in the activity of this molecule has been recognized as a risk factor for the pathology(63).

Inhibition of PI3K / Akt / GSK-3 β has also been shown to be essential for strengthening the activity of cAMP Response Element Binding Protein (CREB)(59,64), which is also phosphorylated by ERK1/2(65), and acts as a key regulator in neuronal plasticity(59), decreasing Nuclear Factor- κ B (NF- κ B), promoting macrophage survival and T and B lymphocytes regulation(66). Interestingly, increased miR-181b downregulates CREB and also disrupts the regulation of the Fragile X Mental Retardation Protein (FMRP)(67) by mean of decreased levels of the protein Fragile X Mental Retardation 1 (FMR1), emphasizing a possible relationship between SZ and Fragile X Syndrome(68,69).

Moreover, decreased levels of CREB affects the activation of Microphthalmia-associated Transcription Factor (MITF)(70,71), which is downregulated by miR-137. The decreased MITF expression together with the increased secretion of IL-1 α and IL-1 β , can initiate an expression of Programmed Death Ligand 1 (PD-L1), a molecule that contributes to the suppression of the function of tumor-infiltrating T cells(72). The PD-L1 is related to Programmed Death Protein 1 (PD1), which is a member of the CD28 receptor family, and when interacting with its ligand, causes inhibition of the pathways such PI3K / Akt / mTOR, Ras / MAPK / Erk and consequently, leads to down-regulation of glycolysis, aminoacid metabolism, and increased fatty acid oxidation in T cells(73). Furthermore, the PD1 / PD-L1 signaling pathway is also related to inflammation, establishment of immunological homeostasis(74,75) and it has been poorly explored in aging studies (76).

In the PI3K / Akt / mTOR pathway, both Akt and mTOR promote the activation of the I κ B kinase Complex (IKK), an enzyme complex that is involved in the propagation of the

cellular response to inflammation. When activated, IKK phosphorylates the I κ B α molecule on two N-terminal serines and initiates their degradation which results in nuclear translocation of members of NF- κ B (77,78). The NF- κ B controls many processes, including the inflammatory process, apoptosis and regulation of the expression of genes related to the immune response (79,80). Furthermore, NF- κ B has been considered as the hub of the aging inflammatory network, acting with pro-senescent mechanisms (81). During aging, these factors increase and determine a sustained activation of NF- κ B, resulting in the senescence-associated secretory phenotype (SASP). SASP participates in the process of chronic inflammation present in various age-related diseases, as well as in psychiatric disorders (82).

Unmedicated and medicated SZ patients showed a greater activation of NF- κ B(83), showing a strong correlation with the genetic risk factors present in the pathology, including the TNF, IL-3, IL-4, the Granulocyte-macrophage Colony-stimulating Factor (GM-CSF) and 14-3-3 protein family(84). Similar to the results presented in these studies, dysregulated miRNAs do not act directly on the NF- κ B pathway, but act in molecules associated to its modulation. For example, the increase in miR-130b downregulates Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma (PPAR γ), which modulates NF- κ B signaling through inhibition of I κ B α degradation, decreased RelA (p65) nuclear translocation, decreased RelA binding to DNA and consequently inhibiting the transcription of pro-inflammatory cytokines(85,86). In addition to PPAR γ , miR-130b also inhibits the tumor suppressor gene Cyldromatosis Lysine 63 Deubiquitinase (CYLD), another negative regulator in NF- κ B signaling that acts through the desubiquitination of its signaling factors, including factor 2 associated with the TNF Receptor 2 (TRAF 2), TNF Receptor 6 (TRAF6), Receptor-interacting Protein 1 (RIP1) and NF- κ B Essential Modulator (NEMO) (87–90).

NF- κ B is also antagonized by molecules that regulate metabolic activity in response to cellular stress, such as Sirtuin 1 (SIRT1) which is decreased by miR-34a(91). Therefore, it becomes evident that miRNAs in SZ can downregulate the activity of more than one factor capable of inhibiting NF- κ B, further indicating a possible overactivation of this pathway and consequently, an increase in inflammation and SASP(82) - characteristic processes of the disorder(6).

2.3 Reduction of STAT3, Intestinal Homeostasis and Mitochondrial Functionality

The Janus Tyrosine Kinase / Signal Transducer and Activator of Transcription (JAK / STAT) signaling pathway represents a network of interactions between proteins that after

activated by the binding of cytokines to its receptor, dimerize STAT3 so that it is able to translocate to the nucleus where it can modulate the expression of genes involved in processes such as immunity, cell division and tumor formation(92,93). In addition, STAT3 also acts in intestinal protection with IL-22 secretion, influencing epithelial cell homeostasis, mucosal wound healing and mucus production(94–96).

The increased levels of miR-130b may downregulate STAT3 (Figure 3), decreasing its interaction with IL-22, followed with impairment in intestinal integrity(94). Changes in intestinal homeostasis and microbiota have been repeatedly reported in aging studies (97), inflammation and psychiatric disorders (98). The decreased STAT3 may be related to inflammation and changes in microorganisms identified in patients with SZ (99), but also related to the downregulation of butyrate-producing species(100), that increase the intestinal barrier function(101).

STAT3 also acts on mitochondria, where it has an impact on the inhibition of pore opening caused by the permeabilization of the mitochondrial outer membrane (MOMP)(102) and binds to the complexes of the electron transport chain, maintaining the stability of the organelle(103). Mitochondria that were deficient in STAT3 exhibit a low activity of complex I and II, suggesting that alteration of this molecule may imply a deregulation of cellular respiration(103,104). Thus, downregulation of STAT3 by miRNAs can cause a similar result. Furthermore, mitochondria are considered primary sources of ROS(105), which are closely linked to inflammatory processes, psychiatric(106) diseases and senescence(106). Previous studies have shown that ROS can inhibit JAK/STAT signaling(107–109) and, it is thus possible that the miR-130b-induced STAT3 decrease is a consequence of the increase in ROS present in SZ, mainly due to inflammation(106) and accelerated aging of these individuals(110).

2.4 Alteration of Wnt / β -catenin, Transcription Factor 7 (TCF7) Signaling and T cell Development

The β -catenin-dependent signaling pathway is initiated by the binding of Wnt to Low Density Lipoprotein Receptor-related Protein (LRP)-5/6 and Frizzled receptors, which induces Disheveled (DVL), resulting in aggregation of the AXIN, GSK3 β , Casein kinase 1 (CK1) and the Adenomatous Polyposis Coli Tumor-suppressor Protein (APC) complex to the receptor(111). The Disrupted-In-Schizophrenia 1 (DISC1), considered as a hub protein for SZ, inhibits GSK3 β through its N-terminal domain, which results in stabilization of β -catenin and activation of downstream transcription factors(51). The phosphorylation and inhibition of

GSK3 β ensure an elevation in the concentration of cytosolic β -catenin, which migrates to the nucleus and accumulates, interacting with T cell Factor/ Lymphoid Enhancer Factor Family (TCF/LEF) and coactivators such as the CLL/B-cell Lymphoma 9 Protein (BCL9)(112). The BCL9 increases transcriptional activity mediated by β -catenin and consequently, generates greater cell proliferation, migration, invasion and metastatic potential of tumor cells(113). In addition, Wnt signaling also has the Naked Cuticle 1 (NKD1) gene as an obligatory target during vertebrate development(114,115).

The alteration in miRNAs observed in SZ individuals indicates a possible activation of the Wnt / β -catenin pathway through the NKD1-downregulation induced by miR-195 but also by the increase in BCL9 as a consequence of decreased levels of miR-30a-5p (Figure 4). Curiously, studies have shown the opposite, suggesting an attenuation of β -catenin in patients with SZ, as well as a decrease in the mRNA levels of members essential for Wnt / β -catenin signaling. However, in this case, the results have limitations, such as being based only on gene expression and plasma protein levels, but also many patients were using a combination of psychotropic medications, which made it impossible to know if this decrease is reliable(116).

The β -catenin / TCF7 signaling is described as an important pathway in the regulation of T cell development, differentiation and survival(117,118). TCF7 is also one of the Notch (Figure 2) target genes to be up-regulated during early thymic progenitor cell development (ETP)(119,120), where it is involved in the double-negative (DN) transition to double-positive (DP) and influence on positive and negative thymic selection (SP). In addition, TCF7 also acts by promoting the differentiation of T CD4⁺ cells into Th2 cells and suppresses Th1 or Th17 cells at the same time. Similarly, TCF7 facilitates the formation of T CD8⁺ memory cells(119).

In SZ, the increased levels of miR-34a can also decrease TCF7 with possible alteration of T cells in the thymus, which may favor Th1 and Th17 cells. This is in accordance with previous studies describing high levels of Th1 cytokines, as well as IL-1 β and Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) in samples from patients with SZ in its first episode and without the use of medication(121,122). Although peripheral levels of IL-17 in patients with SZ are not well documented, this increase in Th17 contributes to the hypothesis of immunopathogenesis of the disorder, which associates Th17 with maternal immune activation(123). The Th17 cells can also cross the blood-brain barrier, triggering glial cells to release cytokines and pro-inflammatory molecules(107,124), which are potential regulators of SZ pathophysiology.

Data obtained from Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs) from older adults have shown that chromatin accessibility in the regulatory regions of TCF7 and Lymphoid Enhancer Binding Factor (LEF1) gene is decreased(125,126), which correlates with what is

seen from the dysregulation by miR-34a in SZ. In addition, advancing age shows changes in the Th17 / Treg balance, which may be related to the inflammaging process and consequently the basal pro-inflammatory change reported in elderly individuals, as well as the increase in autoimmune diseases and the development of inflammatory diseases in them(36). Furthermore, it has been shown that aging proliferating T cells highly express transcription factors such as Runt related Transcription Factor (RUNX), increased by miR-30a-5p(127,128).

2.5 *Impaired Cell Cycle*

The p53 is an important molecule in the cell cycle(129), acting indirectly in the transitions from G1 to S and G2 to mitosis, regulated by the activation and inactivation of the family of Cyclin-dependent Protein Kinases (CDKs)(130,131). The Ds cyclins (D1, D2 and D3) are the first cyclins that detect mitogenic signals and activate CDK4/6 during the G1 phase. Similarly, activation of CDK2 by cyclin E (E1 and E2) can lead to the G1/S transition(132). The G1 phase also features the Retinoblastoma Protein (RB), a tumor suppressor that regulates several crucial cellular activities, including DNA damage response, checkpoint activation and differentiation. RB acts through its hyperphosphorylation by the Cyclin D and CDK4/6 complex, resulting in the release of E2 Transcription Factor (E2F)(133), which stimulates genes involved in inducing S-phase entry(134). During this phase, the degradation and replacement of cyclin E proteins by cyclin A leads to the transition to mitosis and, finally, in phase G2 the level of cyclin B increases and at the end of phase M it decreases, activating CDK1 which initiates the end of the cycle(132).

After stimulation, p53 also regulates the expression of a large number of target genes involved in metabolism, apoptosis(135) and senescence(136). In addition, p53 plays a critical role in maintaining genomic integrity through the DNA damage response (DDR)(137). When activated, DDR results in the expression of Rad3-related protein (ATR), a signaling kinase responsible for phosphorylation and activation of Checkpoint Kinase 1 (CHK1). ATR and CHK1 signaling seeks to minimize genotoxic stress through the degradation of CDC25A phosphatase, preventing premature S/G2 transition through CDK2 kinase(138,139). DNA damage also promotes the activity of G2 Checkpoint Kinase (WEE1), which is up-regulated to promote cell cycle arrest at the intra-S or G2/M checkpoint(140,141). WEE1 regulates the activity of CDK1 and CDK2 kinases(142) by promoting repair of genetic material before entry into mitosis, which allows cells to avoid induced apoptosis or propagation of mutations to daughter cells(143). According to our results, the increased levels of miR-195 in SZ may

downregulate CHK1 and WEE1 checkpoints contributing to an impaired cell cycle in these individuals.

The activity of p53 is regulated by different molecules. For example, SIRT1 regulates the subcellular localization of p53(144) and interacts in a specific way, causing a decrease in its transcriptional activity and related proteins, such as p21(145,146). The p53 is also maintained at lower levels through Murine Double Minute 2 (MDM2)(144), a negative regulator that participates in its degradation(129) and also acts in conjunction with molecules such as the Proto-Oncogene MYCN(147) and its homolog Murine Double Minute 4 (MDM4)(148). The Transcription Factor Yin Yang 1 (YY1) also interacts with MDM2 providing the p53/MDM2 complex and consequently increasing the ubiquitination of p53(149). In addition, the Krüppel-like Factor 4 (KLF4), a transcription factor that can activate and repress genes that are involved in cell cycle regulation and differentiation, has also been linked to suppression of p53 levels(150).

According to our hypothesis, the increased levels of miR-34a can downregulate SIRT1, MYCN Proto-Oncogene, MDM4, KLF4 and the transcription factor YY1 (Figure 5). Therefore, it is hypothesized that in this context MDM2 is also decreased, which would affect the down-regulation of p53 causing the increase of this molecule. This increased expression of p53 is evidenced by the alteration as the lower levels of miR-30a-5p and miR-30e can upregulate p21, inhibiting CDKs, this effect can inhibit G1/S progression, cell growth and stemness(151,152).

In addition to the inhibition of cell proliferation caused by the increase in p21, the Ds cyclins can be decreased due to the higher levels of miR-193a-3p, miR-195 and miR-34a. Thus, there is lesser activation of CDK4/6 associated to its downregulation induced by miR-195 and miR-34. The cell cycle can also be affected by the higher levels of miR-132 and miR-26b, with downregulation of RB, which is not hyperphosphorylated by the Cyclin D and CDK4/6 complex, preventing the release of E2F factors(133,153) and consequently impairing entry into the S phase and cell cycle progression(134).

2.6 Mitochondrial Dysfunction and Increased Apoptosis

In the mitochondria, p53 regulates the expression of the B-cell Lymphoma 2 (BCL-2) family(154), which has members BCL-2 Associated Agonist Of Cell Death (BAD), BCL2 Associated X (BAX), p53-regulated Apoptosis Modulator (PUMA), NOXA and BH3 Interacting Domain Death Agonist (BID) that have pro-apoptotic characteristics, but also BCL-2, MC-L1 Apoptosis Regulator (MC-L1) and B-cell lymphoma-extra large (BCL-XL) that in

contrast, have anti-apoptotic characteristics. The balance between pro and anti-apoptotic proteins determines the sensitivity of cells to cell death stimuli. Therefore, excess of pro-apoptotic proteins makes the cells sensitive to apoptosis, while excess of anti-apoptotic proteins makes the cells resilient(155,156).

The upregulation of p53 by miR-30a-5p and miR-30e results in a greater activation of pro-apoptotic proteins (BAD, BAX, PUMA, NOXA or BID) that increase the susceptibility to apoptosis, but are also capable of bind to anti-apoptotic proteins (BCL-2, BCL-XL and MCL-1) and inhibit their activity (157,158), as evidenced by the decrease in BCL-2 and MC-L1 by miR-15a and miR-193a-3p, respectively (Figure 6).

Some direct activators of apoptosis such as BID and BCL-2-like Protein 11 (BIM) also bind and activate effectors BCL2 Antagonist (BAK) and BAX(159), which consequently cause MOMP. The MOMP causes the release of cytochrome c and other factors that form a protein complex (apoptosome), which activates the cascade of aspartate-specific cysteine proteases (caspases) and results in apoptosis(158,160). Considering Cytochrome C (CYCS) as a potential marker for cell and mitochondrial damage(161), one study showed a significant increase in CYCS levels in SZ patients compared to the control group(162). Furthermore, previous data demonstrated decreased levels of BCL-2 protein in the cortical region of individuals with the disorder(163). These evidences suggest that SZ may be a pathology that signals vulnerability to pro-apoptotic stimuli(164), similarly to the context presented from the dysregulation caused by miRNAs.

The MOMP is associated with the progressive loss of mitochondrial function, being related to high levels of ROS, decreased mitochondrial membrane potential and DNA damage(165,166). Increased ROS production represents a threat to cells and one of the strategies that mitochondria use to not increase the level of oxidative stress is the mitophagy mechanism(167). Mitophagy is a process by which damaged mitochondria are selectively removed from the cell(168) and if there is a failure in this system, causing the accumulation of damaged mitochondria, it may result in an increase in ROS and induction of cell death(169). Therefore, researchers have observed proteins that help in this process, such as BCL-2 Interacting Protein 3 (BNIP3), BCL2 Interacting Protein 3 Like (BNIP3L)(170) and hexokinases (HKs)(171).

According to our hypothesis, the higher levels of miR-181b downregulates HK2 activity, decreasing the development of autophagy and increasing apoptosis induced mainly by glucose deprivation(172). Furthermore, increased levels of miR-137 is able to decrease BNIP3L, which also affects the autophagy process in this context and, consequently, causes the

accumulation of damaged mitochondria, which can increase the level of oxidative stress and induce apoptosis through ROS levels(169). Therefore, in addition to being related to increased apoptosis in these individuals, dysregulation of miRNAs in SZ may also be linked to mitochondrial dysfunction, particularly with defects resulting in overproduction of ROS, which affects important inflammatory processes (173) related to several diseases associated with advancing age (174) and psychiatric disorders (106,175).

3. Concluding Remarks and Perspectives

Increasing evidence suggests that regulators of post-transcriptional gene expression, called miRNAs, play a crucial role in many pathophysiological processes characteristic of psychiatric disorders(176). Although the importance of miRNAs in SZ has already been shown (177), more efforts are needed to further understand the regulatory mechanisms of miRNAs and their effects on the disorder, such as the premature aging observed in these individuals.

Even though accelerated aging is not a specific feature of SZ, as it is observed in other psychiatric disorders(5), the presence of this process in the disorder may be a consequence of the low-grade systemic inflammation associated with the pathology (111). Aging is associated with systemic low-grade inflammation known as “Inflammaging”, a process that is characterized by the chronic increase in pro-inflammatory factors related to the clinical progression and premature senescence (7). Several cellular and molecular mechanisms are involved in the inflammaging process, including mitochondrial dysfunction, defective autophagy and mitophagy, inflammasome activation, DNA damage response and dysbiosis(178).

Therefore, the epigenetic alterations described in SZ may be causing the disturbance of the homeostasis of many miRNAs, since these originate from intronic regions of several genes and may be influenced by such modifications. These disturbances in the levels of miRNAs may include possible impairment of the activities of signaling pathways related to inflammaging, mainly through transcriptional modifications of their target genes. Guided by this hypothesis, we selected thirteen miRNAs previously described in SZ and from the miRTarBase (<http://miRTarBase.mbc.nctu.edu.tw/>) and miRDB (<http://mirdb.org>) databases we identified their validated targets and corresponding pathways. Corroborating what was expected, the selected miRNAs significantly affected mediators associated with immune system cell differentiation, cell cycle alteration, inflammation, oxidative stress and mitochondrial dysfunction (Figure 7A).

Among the affected molecules, the decrease of CREB by miR-181b affects the activation of MITF(70,71), which is decreased by miR-137. The down-regulation of MITF expression by miR, together with the increase in IL-1 α and IL-1 β secretion, can trigger the expression of PD-L1, which interacts with PD1(72). Interestingly, in this work we saw that both PD1 / PD-L1 molecules have never been investigated in SZ, despite the increase in PD-L1 being related to situations of chronic infection or persistent stimulation(179), similar to what occurs in the inflammaging process. In these situations, PD-L1 signals through T cells, PD-1 to "turn off" the T cells to minimize damage to healthy tissue. If the problem is resolved acutely PD-1/PD-L1 levels decrease in T cells. But in a scenario where the problem is not eliminated (Figure 7B), as seen in chronic inflammation, the expression of PD-1/PD-L1 remains increased and sustained, which results in functionally exhausted T cells, less able to proliferate, destroy invading pathogens and allowing infections/inflammation to persist(73,179,180). Although these consequences are similar to the profile presented in the elderly, PD1/PD-L1 are still little explored in the aging process(76,181), as well as in mental illnesses and therefore, they may represent a strong potential to be new markers of the inflammaging process in SZ.

In summary, we can conclude that the alterations found in the expression profiles of miRNAs can be used as tools to help elucidate possibly altered signaling pathways, and that they contribute to the inflammaging process in SZ. Furthermore, the abnormal expression of miRNAs may also represent potential markers for detection and diagnosis, in addition to serving as a basis for studies aimed at therapeutic strategies for the disorder. However, to obtain a more elaborate scenario, it is extremely important to expand this study to other miRNAs not evaluated in this work, in addition to evaluating the expressions and activities of their respective targets considering different tissues, cell types and the level of severity of the disorder, with the aim of elucidating new components implicated in SZ.

4. Authors Contributions

MBPO and CG conceptualized the review. CSG and MB contributed to the article and approved the submitted version.

5. Funding

National Institute of Science and Technology on Neuroimmunomodulation – INCT-NIM and National Council of Technological and Scientific Development (CNPq).

6. References

1. Tomasik J, Rahmoune H, Guest PC, Bahn S. Neuroimmune biomarkers in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2016;176(1):3–13.
2. Barnett R. Schizophrenia. *Lancet (London, England).* 2018;391(10121):648.
3. Purcell SM, Wray NR, Stone JL, Visscher PM, O'Donovan MC, Sullivan PF, et al. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature.* 2009;460(7256):748–52.
4. Crump C, Winkleby MA, Sundquist K, Sundquist J. Comorbidities and mortality in persons with schizophrenia: a Swedish national cohort study. *Am J Psychiatry.* 2013;170(3):324–33.
5. Jeste D V, Wolkowitz OM, Palmer BW. Divergent trajectories of physical, cognitive, and psychosocial aging in schizophrenia. *Schizophr Bull.* 2011;37(3):451–5.
6. Nguyen TT, Eyler LT, Jeste D V. Systemic biomarkers of accelerated aging in schizophrenia: A critical review and future directions. *Schizophr Bull.* 2018;44(2):398–408.
7. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, et al. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;908:244–54.
8. Czepielewski LS, Massuda R, Panizzutti B, Grun LK, Barbé-Tuana FM, Teixeira AL, et al. Telomere Length and CCL11 Levels are Associated With Gray Matter Volume and Episodic Memory Performance in Schizophrenia: Evidence of Pathological Accelerated Aging. *Schizophr Bull.* 2018;44(1):158–67.
9. Pedrini M, Massuda R, Fries GR, de Bittencourt Pasquali MA, Schnorr CE, Moreira JCF, et al. Similarities in serum oxidative stress markers and inflammatory cytokines in patients with overt schizophrenia at early and late stages of chronicity. *J Psychiatr Res.* 2012;46(6):819–24.
10. Pedrini M, Massuda R, de Lucena D, Macêdo D, Paz AVC, Lobato MIR, et al. Differences in eotaxin serum levels patients with recent onset and in chronic stable schizophrenia: a clue for understanding accelerating aging profile. Vol. 152, *Schizophrenia research.* Netherlands; 2014. p. 528–9.
11. Beveridge NJ, Cairns MJ. MicroRNA dysregulation in schizophrenia. *Neurobiol Dis.* 2012;46(2):263–71.
12. Ables JL, Breunig JJ, Eisch AJ, Rakic P. Not(ch) just development: Notch signalling in the adult brain. *Nat Rev Neurosci.* 2011;12(5):269–83.
13. Hoseth EZ, Krull F, Dieset I, Mørch RH, Hope S, Gardsjord ES, et al. Attenuated Notch signaling in schizophrenia and bipolar disorder. *Sci Rep.* 2018;8(1):5349.

14. Bergink V, Gibney SM, Drexhage HA. Autoimmunity, inflammation, and psychosis: a search for peripheral markers. *Biol Psychiatry*. 2014;75(4):324–31.
15. Andersson ER, Sandberg R, Lendahl U. Notch signaling: simplicity in design, versatility in function. *Development*. 2011;138(17):3593–612.
16. Mochizuki K, He S, Zhang Y. Notch and inflammatory T-cell response: new developments and challenges. *Immunotherapy*. 2011;3(11):1353–66.
17. Amsen D, Blander JM, Lee GR, Tanigaki K, Honjo T, Flavell RA. Instruction of distinct CD4 T helper cell fates by different notch ligands on antigen-presenting cells. *Cell*. 2004;117(4):515–26.
18. Elyaman W, Bradshaw EM, Wang Y, Oukka M, Kivisäkk P, Chiba S, et al. JAGGED1 and delta1 differentially regulate the outcome of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol*. 2007;179(9):5990–8.
19. Rong H, Shen H, Xu Y, Yang H. Notch signalling suppresses regulatory T-cell function in murine experimental autoimmune uveitis. *Immunology*. 2016;149(4):447–59.
20. Ou H-X, Guo B-B, Liu Q, Li Y-K, Yang Z, Feng W-J, et al. Regulatory T cells as a new therapeutic target for atherosclerosis. *Acta Pharmacol Sin*. 2018;39(8):1249–58.
21. Maekawa Y, Tsukumo S, Chiba S, Hirai H, Hayashi Y, Okada H, et al. Delta1-Notch3 interactions bias the functional differentiation of activated CD4+ T cells. *Immunity*. 2003;19(4):549–59.
22. Skokos D, Nussenzweig MC. CD8- DCs induce IL-12-independent Th1 differentiation through Delta 4 Notch-like ligand in response to bacterial LPS. *J Exp Med*. 2007;204(7):1525–31.
23. Vieceli Dalla Sega F, Fortini F, Aquila G, Campo G, Vaccarezza M, Rizzo P. Notch Signaling Regulates Immune Responses in Atherosclerosis. *Front Immunol*. 2019;10:1130.
24. Ting H-A, Schaller MA, de Almeida Nagata DE, Rasky AJ, Maillard IP, Lukacs NW. Notch Ligand Delta-like 4 Promotes Regulatory T Cell Identity in Pulmonary Viral Infection. *J Immunol*. 2017;198(4):1492–502.
25. Huang M-T, Chiu C-J, Chiang B-L. Multi-Faceted Notch in Allergic Airway Inflammation. *Int J Mol Sci*. 2019;20(14).
26. Sun J, Krawczyk CJ, Pearce EJ. Suppression of Th2 cell development by Notch ligands Delta1 and Delta4. *J Immunol*. 2008;180(3):1655–61.
27. Chen Z, Lin F, Gao Y, Li Z, Zhang J, Xing Y, et al. FOXP3 and ROR γ t: transcriptional regulation of Treg and Th17. *Int Immunopharmacol*. 2011;11(5):536–42.
28. Boren E, Gershwin ME. Inflamm-aging: autoimmunity, and the immune-risk phenotype. *Autoimmun Rev*. 2004;3(5):401–6.

29. Arolt V, Rothermundt M, Wandinger KP, Kirchner H. Decreased in vitro production of interferon-gamma and interleukin-2 in whole blood of patients with schizophrenia during treatment. *Mol Psychiatry*. 2000;5(2):150–8.
30. Garay PA, McAllister AK. Novel roles for immune molecules in neural development: implications for neurodevelopmental disorders. *Front Synaptic Neurosci*. 2010;2:136.
31. Dimitrov DH, Lee S, Yantis J, Honaker C, Braida N. Cytokine Serum Levels as Potential Biological Markers for the Psychopathology in Schizophrenia. Carvalho L, organizador. *Adv Psychiatry*. 2014;2014:493505.
32. Wieselmann G. *Current Update in Psychoimmunology*. SpringerWienNewYork. 1997.
33. Noack M, Miossec P. Th17 and regulatory T cell balance in autoimmune and inflammatory diseases. *Autoimmun Rev*. 2014;13(6):668–77.
34. Littman DR, Rudensky AY. Th17 and regulatory T cells in mediating and restraining inflammation. *Cell*. 2010;140(6):845–58.
35. Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini F, et al. Inflammaging and anti-inflammaging: A systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev*. 2007;128(1):92–105.
36. Schmitt V, Rink L, Uciechowski P. The Th17/Treg balance is disturbed during aging. *Exp Gerontol*. 2013;48(12):1379–86.
37. Corsi-Zuelli F, Loureiro CM, Shuhama R, Fachim HA, Menezes PR, Louzada-Junior P, et al. Cytokine profile in first-episode psychosis, unaffected siblings and community-based controls: the effects of familial liability and childhood maltreatment. *Psychol Med*. 2020;50(7):1139–47.
38. Almeida RD, Manadas BJ, Melo C V, Gomes JR, Mendes CS, Grãos MM, et al. Neuroprotection by BDNF against glutamate-induced apoptotic cell death is mediated by ERK and PI3-kinase pathways. *Cell Death Differ*. 2005;12(10):1329–43.
39. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 2000;408(6809):239–47.
40. Erickson KI, Prakash RS, Voss MW, Chaddock L, Heo S, McLaren M, et al. Brain-derived neurotrophic factor is associated with age-related decline in hippocampal volume. *J Neurosci*. 2010;30(15):5368–75.
41. Lima Giacobbo B, Doorduyn J, Klein HC, Dierckx RAJO, Bromberg E, de Vries EFJ. Brain-Derived Neurotrophic Factor in Brain Disorders: Focus on Neuroinflammation. *Mol Neurobiol*. 2019;56(5):3295–312.
42. Buckley PF, Pillai A, Howell KR. Brain-derived neurotrophic factor: findings in schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*. 2011;24(2):122–7.

43. Green MJ, Matheson SL, Shepherd A, Weickert CS, Carr VJ. Brain-derived neurotrophic factor levels in schizophrenia: a systematic review with meta-analysis. *Mol Psychiatry*. 2011;16(9):960–72.
44. Guan Z, Fang J. Peripheral immune activation by lipopolysaccharide decreases neurotrophins in the cortex and hippocampus in rats. *Brain Behav Immun*. 2006;20(1):64–71.
45. Schnydrig S, Korner L, Landweer S, Ernst B, Walker G, Otten U, et al. Peripheral lipopolysaccharide administration transiently affects expression of brain-derived neurotrophic factor, corticotropin and proopiomelanocortin in mouse brain. *Neurosci Lett*. 2007;429(1):69–73.
46. Rage F, Silhol M, Tapia-Arancibia L. IL-1beta regulation of BDNF expression in rat cultured hypothalamic neurons depends on the presence of glial cells. *Neurochem Int*. 2006;49(5):433–41.
47. Fillman SG, Cloonan N, Catts VS, Miller LC, Wong J, McCrossin T, et al. Increased inflammatory markers identified in the dorsolateral prefrontal cortex of individuals with schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2013;18(2):206–14.
48. Doorduyn J, De Vries EFJ, Willemsen ATM, De Groot JC, Dierckx RA, Klein HC. Neuroinflammation in schizophrenia-related psychosis: A PET study. *J Nucl Med*. 2009;50(11):1801–7.
49. Jin Y, Sun LH, Yang W, Cui RJ, Xu SB. The Role of BDNF in the Neuroimmune Axis Regulation of Mood Disorders. *Front Neurol*. 2019;10:515.
50. Mitra A, Raychaudhuri SK, Raychaudhuri SP. IL-22 induced cell proliferation is regulated by PI3K/Akt/mTOR signaling cascade. *Cytokine*. 2012;60(1):38–42.
51. Weng Y-T, Chien T, Kuan I-I, Chern Y. The TRAX, DISC1, and GSK3 complex in mental disorders and therapeutic interventions. *J Biomed Sci*. 2018;25(1):71.
52. Kitagishi Y, Kobayashi M, Kikuta K, Matsuda S. Roles of PI3K/AKT/GSK3/mTOR Pathway in Cell Signaling of Mental Illnesses. *Depress Res Treat*. 2012;2012:752563.
53. Chi H. Regulation and function of mTOR signalling in T cell fate decisions. *Nat Rev Immunol*. 2012;12(5):325–38.
54. Weichhart T, Hengstschläger M, Linke M. Regulation of innate immune cell function by mTOR. *Nat Rev Immunol*. 2015;15(10):599–614.
55. Xu F, Na L, Li Y, Chen L. Roles of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours. *Cell Biosci*. 2020;10:54.
56. Hermida MA, Dinesh Kumar J, Leslie NR. GSK3 and its interactions with the PI3K/AKT/mTOR signalling network. *Adv Biol Regul*. 2017;65:5–15.

57. Maqbool M, Hoda N. GSK3 Inhibitors in the Therapeutic Development of Diabetes, Cancer and Neurodegeneration: Past, Present and Future. *Curr Pharm Des.* 2017;23(29):4332–50.
58. Guillet BA, Velly LJ, Canolle B, Masméjean FM, Nieoullon AL, Pisano P. Differential regulation by protein kinases of activity and cell surface expression of glutamate transporters in neuron-enriched cultures. *Neurochem Int.* 2005;46(4):337–46.
59. Qiao J, Rong L, Wang Z, Zhang M. Involvement of Akt/GSK3 β /CREB signaling pathway on chronic omethoate induced depressive-like behavior and improvement effects of combined lithium chloride and astaxanthin treatment. *Neurosci Lett.* 2017;649:55–61.
60. Jope RS, Yuskaitis CJ, Beurel E. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): inflammation, diseases, and therapeutics. *Neurochem Res.* 2007;32(4–5):577–95.
61. Kozlovsky N, Belmaker RH, Agam G. Low GSK-3 β immunoreactivity in postmortem frontal cortex of schizophrenic patients. *Am J Psychiatry.* 2000;157(5):831–3.
62. Kozlovsky N, Belmaker RH, Agam G. Low GSK-3 activity in frontal cortex of schizophrenic patients. *Schizophr Res.* 2001;52(1–2):101–5.
63. Yan P, Qiao X, Wu H, Yin F, Zhang J, Ji Y, et al. An Association Study Between Genetic Polymorphisms in Functional Regions of Five Genes and the Risk of Schizophrenia. *J Mol Neurosci.* 2016;59(3):366–75.
64. Fukushima T, Liu R-Y, Byrne JH. Transforming growth factor- β 2 modulates synaptic efficacy and plasticity and induces phosphorylation of CREB in hippocampal neurons. *Hippocampus.* 2007;17(1):5–9.
65. Li J, Li X, Bi H, Li B. The MEK/ERK/CREB signaling pathway is involved in atrazine induced hippocampal neurotoxicity in Sprague Dawley rats. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2019;170:673–81.
66. Wen AY, Sakamoto KM, Miller LS. The role of the transcription factor CREB in immune function. *J Immunol.* 2010;185(11):6413–9.
67. Wang H, Morishita Y, Miura D, Naranjo JR, Kida S, Zhuo M. Roles of CREB in the regulation of FMRP by group I metabotropic glutamate receptors in cingulate cortex. *Mol Brain.* 2012;5:27.
68. Santoro MR, Bray SM, Warren ST. Molecular mechanisms of fragile X syndrome: a twenty-year perspective. *Annu Rev Pathol.* 2012;7:219–45.
69. Das P, Johnston CF, Hossain S. Schizophrenia in a patient with full mutation of Fragile X gene and intellectual disability: a “STEP” towards better understanding. *Psychiatr Genet.* 2020;30(3):83–6.

70. Kim J-H, Hong A-R, Kim Y-H, Yoo H, Kang S-W, Chang SE, et al. JNK suppresses melanogenesis by interfering with CREB-regulated transcription coactivator 3-dependent MITF expression. *Theranostics*. 2020;10(9):4017–29.
71. Kim Y-M, Cho S-E, Seo Y-K. The activation of melanogenesis by p-CREB and MITF signaling with extremely low-frequency electromagnetic fields on B16F10 melanoma. *Life Sci*. 2016;162:25–32.
72. Khalili JS, Liu S, Rodríguez-Cruz TG, Whittington M, Wardell S, Liu C, et al. Oncogenic BRAF(V600E) promotes stromal cell-mediated immunosuppression via induction of interleukin-1 in melanoma. *Clin cancer Res an Off J Am Assoc Cancer Res*. 2012;18(19):5329–40.
73. Bardhan K, Anagnostou T, Boussiotis VA. The PD1: PD-L1/2 pathway from discovery to clinical implementation. *Front Immunol*. 2016;7(DEC).
74. Canavan M, Floudas A, Veale DJ, Fearon U. The PD-1:PD-L1 axis in Inflammatory Arthritis. *BMC Rheumatol*. 2021;5(1):1.
75. McDermott DF, Atkins MB. PD-1 as a potential target in cancer therapy. *Cancer Med*. 2013;2(5):662–73.
76. Lages CS, Lewkowich I, Sproles A, Wills-Karp M, Chougnet C. Partial restoration of T-cell function in aged mice by in vitro blockade of the PD-1/PD-L1 pathway. *Aging Cell*. 2010;9(5):785–98.
77. Beinke S, Ley SC. Functions of NF-kappaB1 and NF-kappaB2 in immune cell biology. *Biochem J*. 2004;382(Pt 2):393–409.
78. Karin M, Delhase M. The I kappa B kinase (IKK) and NF-kappa B: key elements of proinflammatory signalling. *Semin Immunol*. 2000;12(1):85–98.
79. Huang W-C, Hung M-C. Beyond NF-κB activation: nuclear functions of IκB kinase α. *J Biomed Sci*. 2013;20(1):3.
80. Diamant G, Dikstein R. Transcriptional control by NF-κB: elongation in focus. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1829(9):937–45.
81. Balistreri CR, Candore G, Accardi G, Colonna-Romano G, Lio D. NF-κB pathway activators as potential ageing biomarkers: targets for new therapeutic strategies. *Immun Ageing*. 2013;10(1):24.
82. Salminen A, Kauppinen A, Kaarniranta K. Emerging role of NF-κB signaling in the induction of senescence-associated secretory phenotype (SASP). *Cell Signal*. 2012;24(4):835–45.
83. Song X-Q, Lv L-X, Li W-Q, Hao Y-H, Zhao J-P. The interaction of nuclear factor-kappa B and cytokines is associated with schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2009;65(6):481–8.

84. Sun J, Jia P, Fanous AH, van den Oord E, Chen X, Riley BP, et al. Schizophrenia Gene Networks and Pathways and Their Applications for Novel Candidate Gene Selection. *PLoS One*. 2010;5(6):1–9.
85. Vergès B. Clinical interest of PPARs ligands. *Diabetes Metab*. 2004;30(1):7–12.
86. Kersten S, Desvergne B, Wahli W. Roles of PPARs in health and disease. *Nature*. 2000;405(6785):421–4.
87. Brummelkamp TR, Nijman SMB, Dirac AMG, Bernards R. Loss of the cylindromatosis tumour suppressor inhibits apoptosis by activating NF-kappaB. *Nature*. 2003;424(6950):797–801.
88. Trompouki E, Hatzivassiliou E, Tschirritzis T, Farmer H, Ashworth A, Mosialos G. CYLD is a deubiquitinating enzyme that negatively regulates NF-kappaB activation by TNFR family members. *Nature*. 2003;424(6950):793–6.
89. Wright A, Reiley WW, Chang M, Jin W, Lee AJ, Zhang M, et al. Regulation of early wave of germ cell apoptosis and spermatogenesis by deubiquitinating enzyme CYLD. *Dev Cell*. 2007;13(5):705–16.
90. Deng M, Dai W, Yu VZ, Tao L, Lung ML. Cylindromatosis Lysine 63 Deubiquitinase (CYLD) Regulates NF-kB Signaling Pathway and Modulates Fibroblast and Endothelial Cells Recruitment in Nasopharyngeal Carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2020;12(7).
91. Munk R, Panda AC, Grammatikakis I, Gorospe M, Abdelmohsen K. Chapter Four - Senescence-Associated MicroRNAs. In: Galluzzi L, Vitale I, organizadores. *MiRNAs in Aging and Cancer*. Academic Press; 2017. p. 177–205. (*International Review of Cell and Molecular Biology*; vol. 334).
92. Owen KL, Brockwell NK, Parker BS. JAK-STAT Signaling: A Double-Edged Sword of Immune Regulation and Cancer Progression. *Cancers (Basel)*. 2019;11(12).
93. Johnson DE, O’Keefe RA, Grandis JR. Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(4):234–48.
94. Sugimoto K, Ogawa A, Mizoguchi E, Shimomura Y, Andoh A, Bhan AK, et al. IL-22 ameliorates intestinal inflammation in a mouse model of ulcerative colitis. *J Clin Invest*. 2008;118(2):534–44.
95. Pickert G, Neufert C, Leppkes M, Zheng Y, Wittkopf N, Warntjen M, et al. STAT3 links IL-22 signaling in intestinal epithelial cells to mucosal wound healing. *J Exp Med*. 2009;206(7):1465–72.
96. Takatori H, Kanno Y, Watford WT, Tato CM, Weiss G, Ivanov II, et al. Lymphoid tissue inducer-like cells are an innate source of IL-17 and IL-22. *J Exp Med*. 2009;206(1):35–41.

97. Wilmanski T, Diener C, Rappaport N, Patwardhan S, Wiedrick J, Lapidus J, et al. Gut microbiome pattern reflects healthy ageing and predicts survival in humans. *Nat Metab.* 2021;3(2):274–86.
98. Dinan TG, Cryan JF. Gut microbiota: a missing link in psychiatry. *World Psychiatry.* 2020;19(1):111–2.
99. Severance EG, Alaedini A, Yang S, Halling M, Gressitt KL, Stallings CR, et al. Gastrointestinal inflammation and associated immune activation in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2012;138(1):48–53.
100. Shen Y, Xu J, Li Z, Huang Y, Yuan Y, Wang J, et al. Analysis of gut microbiota diversity and auxiliary diagnosis as a biomarker in patients with schizophrenia: A cross-sectional study. *Schizophr Res.* 2018;197:470–7.
101. Peng L, Li Z-R, Green RS, Holzman IR, Lin J. Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *J Nutr.* 2009;139(9):1619–25.
102. Boengler K, Hilfiker-Kleiner D, Heusch G, Schulz R. Inhibition of permeability transition pore opening by mitochondrial STAT3 and its role in myocardial ischemia/reperfusion. *Basic Res Cardiol.* 2010;105(6):771–85.
103. Qi Q-R, Yang Z-M. Regulation and function of signal transducer and activator of transcription 3. *World J Biol Chem.* 2014;5(2):231–9.
104. Wegrzyn J, Potla R, Chwae Y-J, Sepuri NB V, Zhang Q, Koeck T, et al. Function of mitochondrial Stat3 in cellular respiration. *Science.* 2009;323(5915):793–7.
105. Dodson M, Darley-USmar V, Zhang J. Cellular metabolic and autophagic pathways: traffic control by redox signaling. *Free Radic Biol Med.* 2013;63:207–21.
106. Koga M, Serritella A V, Sawa A, Sedlak TW. Implications for reactive oxygen species in schizophrenia pathogenesis. *Schizophr Res.* 2016;176(1):52–71.
107. Kim C, Lee S-G, Yang WM, Arfuso F, Um J-Y, Kumar AP, et al. Formononetin-induced oxidative stress abrogates the activation of STAT3/5 signaling axis and suppresses the tumor growth in multiple myeloma preclinical model. *Cancer Lett.* 2018;431:123–41.
108. Liu B, Yu S. Amentoflavone suppresses hepatocellular carcinoma by repressing hexokinase 2 expression through inhibiting JAK2/STAT3 signaling. *Biomed Pharmacother.* 2018;107:243–53.
109. Cao Y, Wang J, Tian H, Fu G-H. Mitochondrial ROS accumulation inhibiting JAK2/STAT3 pathway is a critical modulator of CYT997-induced autophagy and apoptosis in gastric cancer. *J Exp Clin Cancer Res.* 2020;39(1):119.
110. Okusaga OO. Accelerated aging in schizophrenia patients: the potential role of oxidative stress. *Aging Dis.* 2014;5(4):256–62.

111. Bilic J, Huang Y-L, Davidson G, Zimmermann T, Cruciat C-M, Bienz M, et al. Wnt induces LRP6 signalosomes and promotes dishevelled-dependent LRP6 phosphorylation. *Science*. 2007;316(5831):1619–22.
112. Agle CC, Lewis FC, Jaka O, Lazarus NR, Velloso C, Francis-West P, et al. Active GSK3 β and an intact β -catenin TCF complex are essential for the differentiation of human myogenic progenitor cells. *Sci Rep*. 2017;7(1):13189.
113. Takada K, Zhu D, Bird GH, Sukhdeo K, Zhao J-J, Mani M, et al. Targeted disruption of the BCL9/ β -catenin complex inhibits oncogenic Wnt signaling. *Sci Transl Med*. 2012;4(148):148ra117.
114. Van Raay TJ, Coffey RJ, Solnica-Krezel L. Zebrafish Naked1 and Naked2 antagonize both canonical and non-canonical Wnt signaling. *Dev Biol*. 2007;309(2):151–68.
115. Angonin D, Van Raay TJ. Nkd1 functions as a passive antagonist of Wnt signaling. *PLoS One*. 2013;8(8):e74666.
116. Hoseth EZ, Krull F, Dieset I, Mørch RH, Hope S, Gardsjord ES, et al. Exploring the Wnt signaling pathway in schizophrenia and bipolar disorder. *Transl Psychiatry*. 2018;8(1):55.
117. Ioannidis V, Beermann F, Clevers H, Held W. The beta-catenin--TCF-1 pathway ensures CD4(+)/CD8(+) thymocyte survival. *Nat Immunol*. 2001;2(8):691–7.
118. Ma J, Wang R, Fang X, Sun Z. β -catenin/TCF-1 pathway in T cell development and differentiation. *J Neuroimmune Pharmacol Off J Soc NeuroImmune Pharmacol*. 2012;7(4):750–62.
119. Zhu Y, Wang W, Wang X. Roles of transcriptional factor 7 in production of inflammatory factors for lung diseases. *J Transl Med*. 2015;13(1):273.
120. Weber BN, Chi AW-S, Chavez A, Yashiro-Ohtani Y, Yang Q, Shestova O, et al. A critical role for TCF-1 in T-lineage specification and differentiation. *Nature*. 2011;476(7358):63–8.
121. Miller BJ, Buckley P, Seabolt W, Mellor A, Kirkpatrick B. Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: Clinical status and antipsychotic effects. *Biol Psychiatry*. 2011;70(7):663–71.
122. Upthegrove R, Manzanares-Teson N, Barnes NM. Cytokine function in medication-naive first episode psychosis: A systematic review and meta-analysis. *Schizophr Res*. 2014;155(1–3):101–8.
123. Debnath M, Berk M. Th17 pathway-mediated immunopathogenesis of schizophrenia: mechanisms and implications. *Schizophr Bull*. 2014;40(6):1412–21.

124. Balasa R, Barcutean L, Balasa A, Motataianu A, Roman-Filip C, Manu D. The action of TH17 cells on blood brain barrier in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Hum Immunol.* 2020;81(5):237–43.
125. Ucar D, Márquez EJ, Chung C-H, Marches R, Rossi RJ, Uyar A, et al. The chromatin accessibility signature of human immune aging stems from CD8(+) T cells. *J Exp Med.* 2017;214(10):3123–44.
126. Tserel L, Kolde R, Limbach M, Tretyakov K, Kasela S, Kisand K, et al. Age-related profiling of DNA methylation in CD8+ T cells reveals changes in immune response and transcriptional regulator genes. *Sci Rep.* 2015;5:13107.
127. Kim C, Jin J, Weyand CM, Goronzy JJ. The Transcription Factor TCF1 in T Cell Differentiation and Aging. *Int J Mol Sci.* 2020;21(18).
128. Kim C, Hu B, Jadhav RR, Jin J, Zhang H, Cavanagh MM, et al. Activation of miR-21-Regulated Pathways in Immune Aging Selects against Signatures Characteristic of Memory T Cells. *Cell Rep.* 2018;25(8):2148-2162.e5.
129. Zilfou JT, Lowe SW. Tumor suppressive functions of p53. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009;1(5):a001883.
130. Lee E-W, Lee M-S, Camus S, Ghim J, Yang M-R, Oh W, et al. Differential regulation of p53 and p21 by MKRN1 E3 ligase controls cell cycle arrest and apoptosis. *EMBO J.* 2009;28(14):2100–13.
131. Karimian A, Ahmadi Y, Yousefi B. Multiple functions of p21 in cell cycle, apoptosis and transcriptional regulation after DNA damage. *DNA Repair (Amst).* 2016;42:63–71.
132. Hydbring P, Malumbres M, Sicinski P. Non-canonical functions of cell cycle cyclins and cyclin-dependent kinases. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2016;17(5):280–92.
133. Sherr CJ, Roberts JM. Living with or without cyclins and cyclin-dependent kinases. *Genes Dev.* 2004;18(22):2699–711.
134. Thwaites MJ, Cecchini MJ, Dick FA. Analyzing RB and E2F during the G1-S transition. *Methods Mol Biol.* 2014;1170:449–61.
135. Fischer M. Census and evaluation of p53 target genes. *Oncogene.* 2017;36(28):3943–56.
136. Mijit M, Caracciolo V, Melillo A, Amicarelli F, Giordano A. Role of p53 in the Regulation of Cellular Senescence. *Biomolecules.* 2020;10(3).
137. Williams AB, Schumacher B. p53 in the DNA-Damage-Repair Process. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016;6(5).

138. Moiseeva TN, Yin Y, Calderon MJ, Qian C, Schamus-Haynes S, Sugitani N, et al. An ATR and CHK1 kinase signaling mechanism that limits origin firing during unperturbed DNA replication. *Proc Natl Acad Sci*. 2019;116(27):13374–83.
139. Sørensen CS, Syljuåsen RG, Falck J, Schroeder T, Rønnstrand L, Khanna KK, et al. Chk1 regulates the S phase checkpoint by coupling the physiological turnover and ionizing radiation-induced accelerated proteolysis of Cdc25A. *Cancer Cell*. 2003;3(3):247–58.
140. Perry JA, Kornbluth S. Cdc25 and Wee1: analogous opposites? *Cell Div*. 2007;2:12.
141. Matheson CJ, Backos DS, Reigan P. Targeting WEE1 Kinase in Cancer. *Trends Pharmacol Sci*. 2016;37(10):872–81.
142. Ghelli Luserna Di Rorà A, Cerchione C, Martinelli G, Simonetti G. A WEE1 family business: Regulation of mitosis, cancer progression, and therapeutic target. *J Hematol Oncol*. 2020;13(1):1–18.
143. Garcia TB, Fosmire SP, Porter CC. Increased activity of both CDK1 and CDK2 is necessary for the combinatorial activity of WEE1 inhibition and cytarabine. *Leuk Res*. 2018;64:30–3.
144. Yi J, Luo J. SIRT1 and p53, effect on cancer, senescence and beyond. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1804(8):1684–9.
145. Ong ALC, Ramasamy TS. Role of Sirtuin1-p53 regulatory axis in aging, cancer and cellular reprogramming. *Ageing Res Rev*. 2018;43:64–80.
146. Luo J, Nikolaev AY, Imai S, Chen D, Su F, Shiloh A, et al. Negative control of p53 by Sir2alpha promotes cell survival under stress. *Cell*. 2001;107(2):137–48.
147. Tran HN, Singh HP, Guo W, Cambier L, Riggan L, Shackelford GM, et al. Reciprocal Induction of MDM2 and MYCN in Neural and Neuroendocrine Cancers. *Front Oncol*. 2020;10:563156.
148. Matijasevic Z, Krzywicka-Racka A, Sluder G, Jones SN. MdmX regulates transformation and chromosomal stability in p53-deficient cells. *Cell Cycle*. 2008;7(19):2967–73.
149. Grönroos E, Terentiev AA, Punga T, Ericsson J. YY1 inhibits the activation of the p53 tumor suppressor in response to genotoxic stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(33):12165–70.
150. Rowland BD, Bernards R, Peeper DS. The KLF4 tumour suppressor is a transcriptional repressor of p53 that acts as a context-dependent oncogene. *Nat Cell Biol*. 2005;7(11):1074–82.
151. Xiao B-D, Zhao Y-J, Jia X-Y, Wu J, Wang Y-G, Huang F. Multifaceted p21 in carcinogenesis, stemness of tumor and tumor therapy. *World J Stem Cells*. 2020;12(6):481–7.

152. Fischer M, Quaas M, Steiner L, Engeland K. The p53-p21-DREAM-CDE/CHR pathway regulates G2/M cell cycle genes. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(1):164–74.
153. Jin X, Ding D, Yan Y, Li H, Wang B, Ma L, et al. Phosphorylated RB Promotes Cancer Immunity by Inhibiting NF- κ B Activation and PD-L1 Expression. *Mol Cell.* 2019;73(1):22-35.e6.
154. Chipuk JE, Kuwana T, Bouchier-Hayes L, Droin NM, Newmeyer DD, Schuler M, et al. Direct activation of Bax by p53 mediates mitochondrial membrane permeabilization and apoptosis. *Science.* 2004;303(5660):1010–4.
155. Adams JM, Cory S. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy. *Oncogene.* 2007;26(9):1324–37.
156. Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science.* 1998;281(5381):1322–6.
157. Zhang L-N, Li J-Y, Xu W. A review of the role of Puma, Noxa and Bim in the tumorigenesis, therapy and drug resistance of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Gene Ther.* 2013;20(1):1–7.
158. Aubrey BJ, Kelly GL, Janic A, Herold MJ, Strasser A. How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression? *Cell Death Differ.* 2018;25(1):104–13.
159. Ren D, Tu H-C, Kim H, Wang GX, Bean GR, Takeuchi O, et al. BID, BIM, and PUMA are essential for activation of the BAX- and BAK-dependent cell death program. *Science.* 2010;330(6009):1390–3.
160. Certo M, Del Gaizo Moore V, Nishino M, Wei G, Korsmeyer S, Armstrong SA, et al. Mitochondria primed by death signals determine cellular addiction to antiapoptotic BCL-2 family members. *Cancer Cell.* 2006;9(5):351–65.
161. Eleftheriadis T, Pissas G, Liakopoulos V, Stefanidis I. Cytochrome c as a Potentially Clinical Useful Marker of Mitochondrial and Cellular Damage. *Front Immunol.* 2016;7:279.
162. Aydın H, Tekin YK, Erşan S, Yavuz H, Erşan EE. The apoptotic paradox in schizophrenia. *Cumhur Med J.* 2019;8(June):256–62.
163. Jarskog LF, Gilmore JH, Selinger ES, Lieberman JA. Cortical bcl-2 protein expression and apoptotic regulation in schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 2000;48(7):641–50.
164. Beyazyüz M, Küfeciler T, Bulut L, Ünsal C, Albayrak Y, Akyol ES, et al. Increased serum levels of apoptosis in deficit syndrome schizophrenia patients: a preliminary study. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2016;12:1261–8.
165. Treulen F, Uribe P, Boguen R, Villegas J V. Mitochondrial outer membrane permeabilization increases reactive oxygen species production and decreases mean sperm

velocity but is not associated with DNA fragmentation in human sperm. *Mol Hum Reprod.* 2016;22(2):83–92.

166. Kilbride SM, Prehn JHM. Central roles of apoptotic proteins in mitochondrial function. *Oncogene.* 2013;32(22):2703–11.

167. Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. Polle A, organizador. *J Bot.* 2012;2012:217037.

168. Esteban-Martínez L, Boya P. BNIP3L/NIX-dependent mitophagy regulates cell differentiation via metabolic reprogramming. *Autophagy.* 2018;14(5):915–7.

169. Green DR, Galluzzi L, Kroemer G. Mitochondria and the autophagy-inflammation-cell death axis in organismal aging. *Science.* 2011;333(6046):1109–12.

170. O’Sullivan TE, Johnson LR, Kang HH, Sun JC. BNIP3- and BNIP3L-Mediated Mitophagy Promotes the Generation of Natural Killer Cell Memory. *Immunity.* 2015;43(2):331–42.

171. Patra KC, Wang Q, Bhaskar PT, Miller L, Wang Z, Wheaton W, et al. Hexokinase 2 is required for tumor initiation and maintenance and its systemic deletion is therapeutic in mouse models of cancer. *Cancer Cell.* 2013;24(2):213–28.

172. Tan VP, Miyamoto S. HK2/hexokinase-II integrates glycolysis and autophagy to confer cellular protection. *Autophagy.* 2015;11(6):963–4.

173. Chelombitko MA. Role of Reactive Oxygen Species in Inflammation: A Minireview. *Moscow Univ Biol Sci Bull.* 2018;73(4):199–202.

174. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging.* 2018;13:757–72.

175. Salim S. Oxidative stress and psychological disorders. *Curr Neuropharmacol.* 2014;12(2):140–7.

176. Issler O, Chen A. Determining the role of microRNAs in psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci.* 2015;16(4):201–12.

177. Cao T, Zhen X-C. Dysregulation of miRNA and its potential therapeutic application in schizophrenia. *CNS Neurosci Ther.* 2018;24(7):586–97.

178. Franceschi C, Garagnani P, Parini P, Giuliani C, Santoro A. Inflammaging: a new immune–metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14(10):576–90.

179. Jubel JM, Barbati ZR, Burger C, Wirtz DC, Schildberg FA. The Role of PD-1 in Acute and Chronic Infection. *Front Immunol.* 2020;11:487.

180. Francisco LM, Sage PT, Sharpe AH. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunol Rev.* 2010;236:219–42.
181. Henson SM, Macaulay R, Riddell NE, Nunn CJ, Akbar AN. Blockade of PD-1 or p38 MAP kinase signaling enhances senescent human CD8(+) T-cell proliferation by distinct pathways. *Eur J Immunol.* 2015;45(5):1441–51.
182. Alacam H, Akgun S, Akca H, Ozturk O, Kabukcu BB, Herken H. miR-181b-5p, miR-195-5p and miR-301a-3p are related with treatment resistance in schizophrenia. *Psychiatry Res.* 2016;245:200–6.
183. Shi W, Du J, Qi Y, Liang G, Wang T, Li S, et al. Aberrant expression of serum miRNAs in schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 2012;46(2):198–204.
184. Sun X, Lu J, Zhang L, Song H, Zhao L, Fan H, et al. Aberrant microRNA expression in peripheral plasma and mononuclear cells as specific blood-based biomarkers in schizophrenia patients. *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas.* 2015;22(3):570–4.
185. Perkins DO, Jeffries CD, Jarskog LF, Thomson JM, Woods K, Newman MA, et al. microRNA expression in the prefrontal cortex of individuals with schizophrenia and schizoaffective disorder. *Genome Biol.* 2007;8(2):R27.
186. Beveridge NJ, Gardiner E, Carroll AP, Tooney PA, Cairns MJ. Schizophrenia is associated with an increase in cortical microRNA biogenesis. *Mol Psychiatry.* 2010;15(12):1176–89.
187. Mellios N, Huang H-S, Baker SP, Galdzicka M, Ginns E, Akbarian S. Molecular determinants of dysregulated GABAergic gene expression in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 2009;65(12):1006–14.
188. Guo A-Y, Sun J, Jia P, Zhao Z. A Novel microRNA and transcription factor mediated regulatory network in schizophrenia. *BMC Syst Biol.* 2010;4(1):10.
189. Wei H, Yuan Y, Liu S, Wang C, Yang F, Lu Z, et al. Detection of circulating miRNA levels in schizophrenia. *Am J Psychiatry.* novembro de 2015;172(11):1141–7.
190. Sun X, Zhang J, Niu W, Guo W, Song H, Li H, et al. A preliminary analysis of microRNA as potential clinical biomarker for schizophrenia. *Am J Med Genet Part B, Neuropsychiatr Genet Off Publ Int Soc Psychiatr Genet.* 2015;168B(3):170–8.
191. Beveridge NJ, Tooney PA, Carroll AP, Gardiner E, Bowden N, Scott RJ, et al. Dysregulation of miRNA 181b in the temporal cortex in schizophrenia. *Hum Mol Genet.* 2008;17(8):1156–68.
192. Lai C-Y, Lee S-Y, Scarr E, Yu Y-H, Lin Y-T, Liu C-M, et al. Aberrant expression of microRNAs as biomarker for schizophrenia: from acute state to partial remission, and from peripheral blood to cortical tissue. *Transl Psychiatry.* 2016;6(1):e717.

193. He K, Guo C, Guo M, Tong S, Zhang Q, Sun H, et al. Identification of serum microRNAs as diagnostic biomarkers for schizophrenia. *Hereditas*. 2019;156:23.
194. Kim AH, Reimers M, Maher B, Williamson V, McMichael O, McClay JL, et al. MicroRNA expression profiling in the prefrontal cortex of individuals affected with schizophrenia and bipolar disorders. *Schizophr Res*. 2010;124(1–3):183–91.
195. Zhu Y, Kalbfleisch T, Brennan MD, Li Y. A MicroRNA gene is hosted in an intron of a schizophrenia-susceptibility gene. *Schizophr Res*. 2009;109(1–3):86–9.
196. Zhang J, Sun X-Y, Zhang L-Y. MicroRNA-7/Shank3 axis involved in schizophrenia pathogenesis. *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas*. 2015;22(8):1254–7.
197. Wu S, Zhang R, Nie F, Wang X, Jiang C, Liu M, et al. MicroRNA-137 Inhibits EFNB2 Expression Affected by a Genetic Variant and Is Expressed Aberrantly in Peripheral Blood of Schizophrenia Patients. *EBioMedicine*. 2016;12:133–42.
198. Ma J, Shang S, Wang J, Zhang T, Nie F, Song X, et al. Identification of miR-22-3p, miR-92a-3p, and miR-137 in peripheral blood as biomarker for schizophrenia. *Psychiatry Res*. 2018;265:70–6.
199. Yu H, Wu J, Zhang H, Zhang G, Sui J, Tong W, et al. Alterations of miR-132 are novel diagnostic biomarkers in peripheral blood of schizophrenia patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2015;63:23–9.

FIGURES

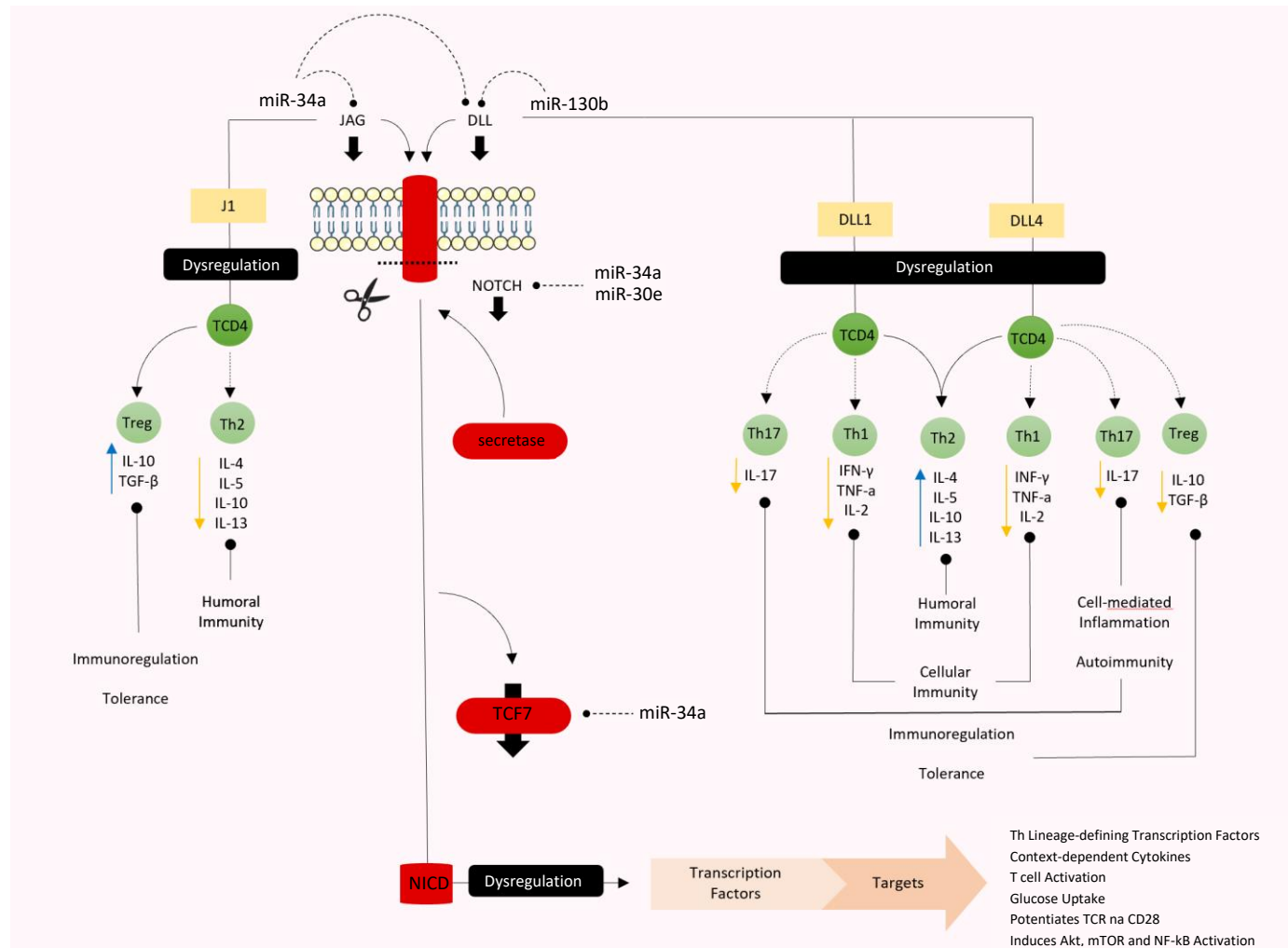


Figure 1 - Representation of the NOTCH pathway with possible dysregulation by miR-34a, miR-30e and miR-130b in SZ. The increased miR-34a is able to decrease JAG ligands, upregulating Treg cell differentiation and downregulating Th2 signal. In addition, the increased miR-130b, likewise miR-34a, decreases DLL1 and DLL4 favoring Th2 cells, impairing Th1 differentiation and Th17/Treg balance. Consequently, the NOTCH receptor can be downregulated by miR-30e and miR-34a reinforcing the pathway alteration. The transcription factor TCF7 can also be decreased by miR-34a. In summary, these alterations can, collectively, promote pro-inflammatory and pro-oxidative responses in SZ individuals. Abbreviations: AKT, Protein kinase B; DLL, Delta-like Ligand; JAG, Jagged Ligand; mTOR, Mammalian Target Protein of Rapamycin; NF-κB, Nuclear Factor-κB; NICD, Intracellular Domain of the Notch Protein; TCF7, Transcription Factor 7; TCR, T cell receptor.

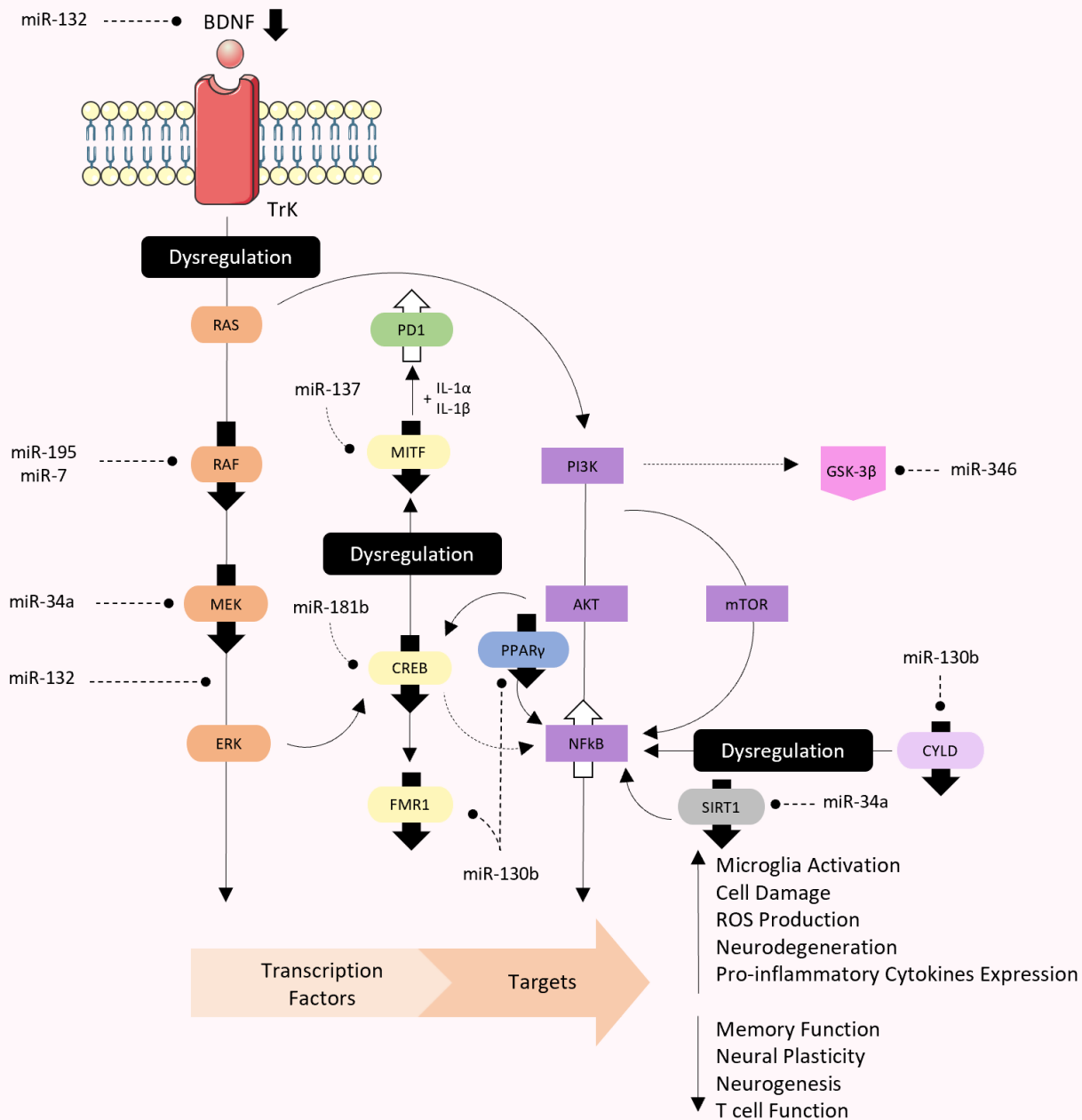


Figure 2 - Representation of BDNF signaling pathway with possible dysregulation by miR-132, miR-195, miR-7, miR-34a, miR-181b and miR-130b in SZ. The downregulation of BDNF by miR-132 affects its binding with Trk and consequently the Ras / Raf / MEK / ERK pathway. miR-195, miR-7, miR-34a and miR-132. The transcription factor CREB is decreased by miR-181b, contributing to disruption of FMR1 regulation by miR-130b. The decrease in CREB also interferes with MITF, which is affected by miR-137 and together with the increase in IL-1 α and IL-1 β results in the upregulation of PD1/PD-L1. Akt and mTOR are able to promote NF- κ B, which is hypothesized to be overactivated because their negative regulators SIRT1, CREB, PPAR γ and CYLD are decreased by miR-34a, miR-181b and miR-130b, respectively. These changes in NF- κ B and Ras / Raf / MEK / ERK pathway can promote pro-inflammatory, pro-oxidative and neurodegenerative responses in individuals with SZ. Abbreviations: AKT, Protein kinase B; BDNF, Brain-derived Neurotrophic Factor; CREB, cAMP-response Element Binding Protein; CYLD, Cylindromatosis Lysine 63 Deubiquitinase; FMR1, Fragile X Mental Retardation 1; GSK-3 β , Glycogen Synthase Kinase 3 Beta; MITF, Microphthalmia-associated Transcription Factor; mTOR, Mammalian Target Protein of Rapamycin; NF- κ B, Nuclear Factor- κ B; PD-L1, Programmed Death-ligand 1; PI3K, Phosphoinositide 3-kinases; PPAR γ , Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma; SIRT1, Sirtuin 1; Trk, Tyrosine Kinase Receptors.

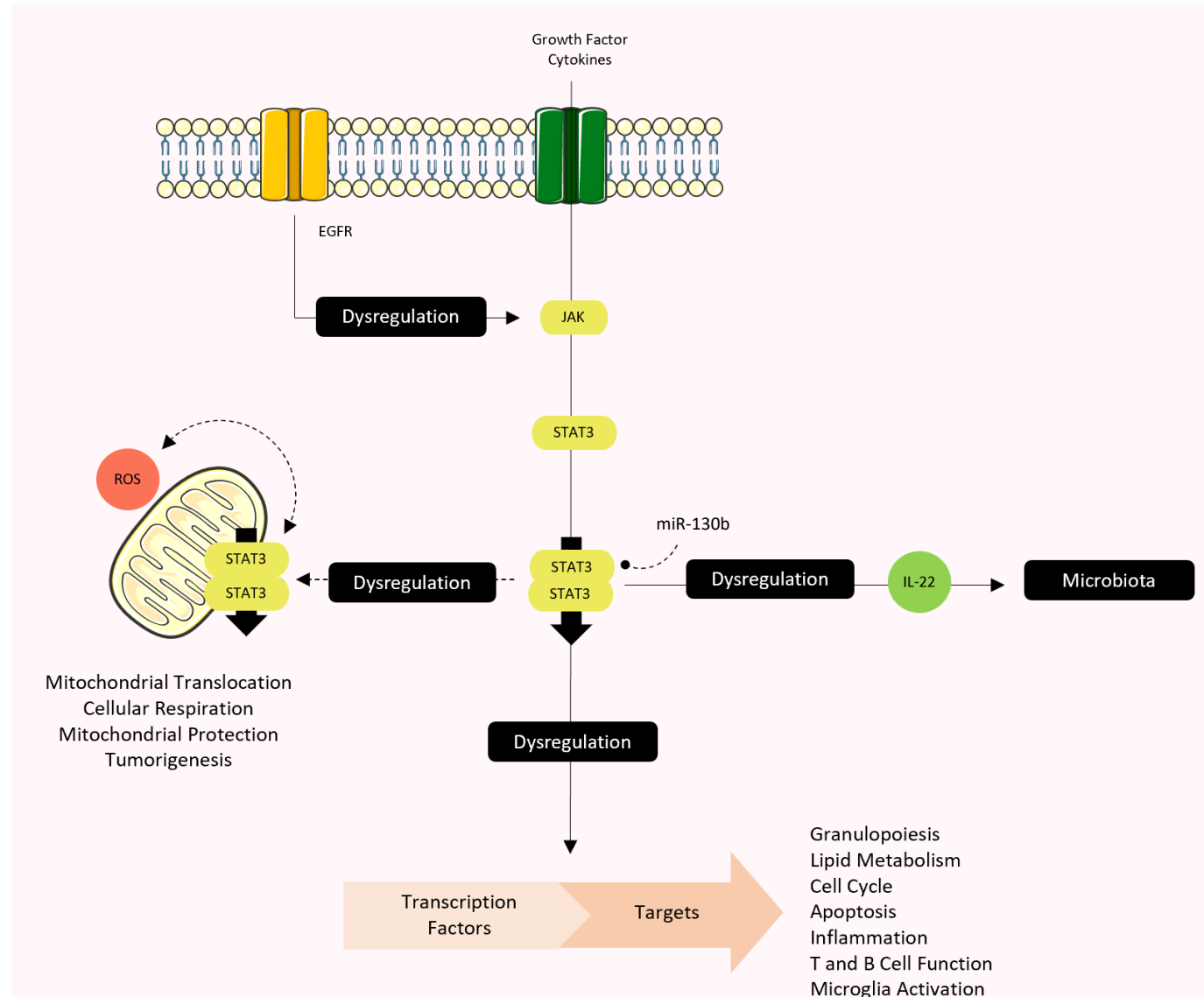


Figure 3 - Representation of the JAK/STAT pathway with possible dysregulation by miR130b in SZ. STAT3 expression is decreased by miR-130b, affecting its relationship with IL-22 and consequently, the integrity of the intestine. In mitochondria, decreased STAT3 can affect mitochondrial permeability, respiration and production of ROS. In summary, these changes can impair the gut brain axis and increase pro-oxidative response in individuals with SZ. Abbreviations: JAK, Janus Kinase; ROS, Reactive Oxygen Species; STAT3, Signal Transducer and Activator of Transcription 3.

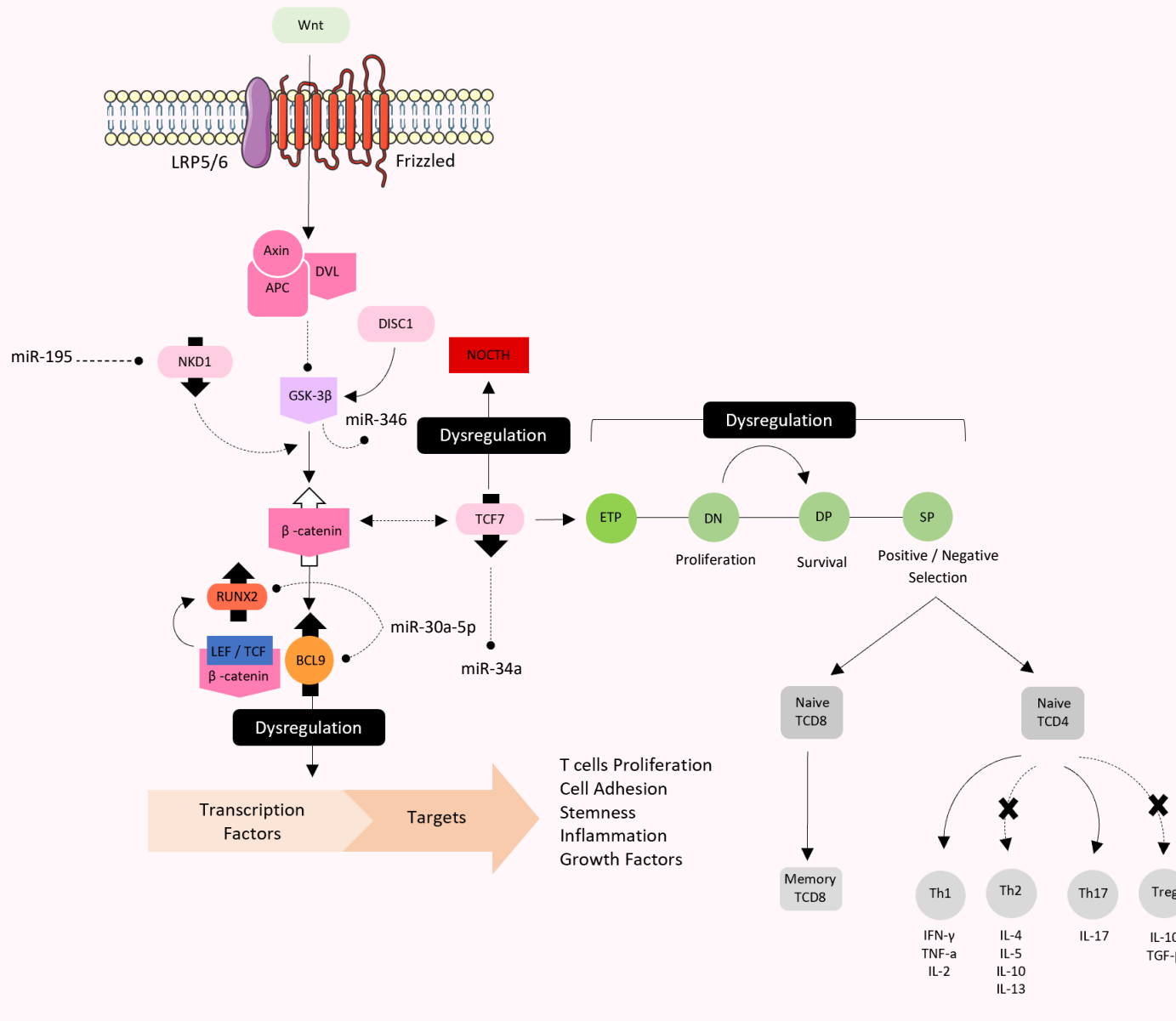


Figure 4 - Representation of the Wnt / β -catenin and TCF7 pathways with dysregulation by miR-195, miR346, miR30a-5p e miR 34a in SZ. Considering that the negative regulator NKD1 is downregulated by miR-195, an increase in the activity of β -catenin is hypothesized, in addition to the upregulation of BCL9 due to the lower levels of miR-30a-5p, corroborating this hypothesis. The lower levels of miR-30a-5p also elevates RUNX expression, which contributes to the aging scenario in T cells. The higher levels of miR-34a decreases TCF7, altering T cell development in the thymus and possibly favoring Th1 and Th17 cells, which is linked to the pro-inflammatory state present in individuals with SZ. Abbreviations: APC, Adenomatous Polyposis Coli Tumor-suppressor Protein; BCL9, B-cell CLL/Lymphoma 9 Protein; DISC1, Disrupted-In-Schizophrenia 1; DN, Double Negative; DP, Double Positive; DVL, Dishevelled; ETP, Early Thymic Progenitor Cell Development; GSK-3 β , Glycogen Synthase Kinase 3 Beta; LEF/TCF, T cell Factor/ Lymphoid Enhancer Factor Family; LRP, Low Density Lipoprotein Receptor-related Protein; NKD1, Naked Cuticle 1; RUNX2, Runt-related Transcription Factor 2; SP, Positive and Negative Selection.

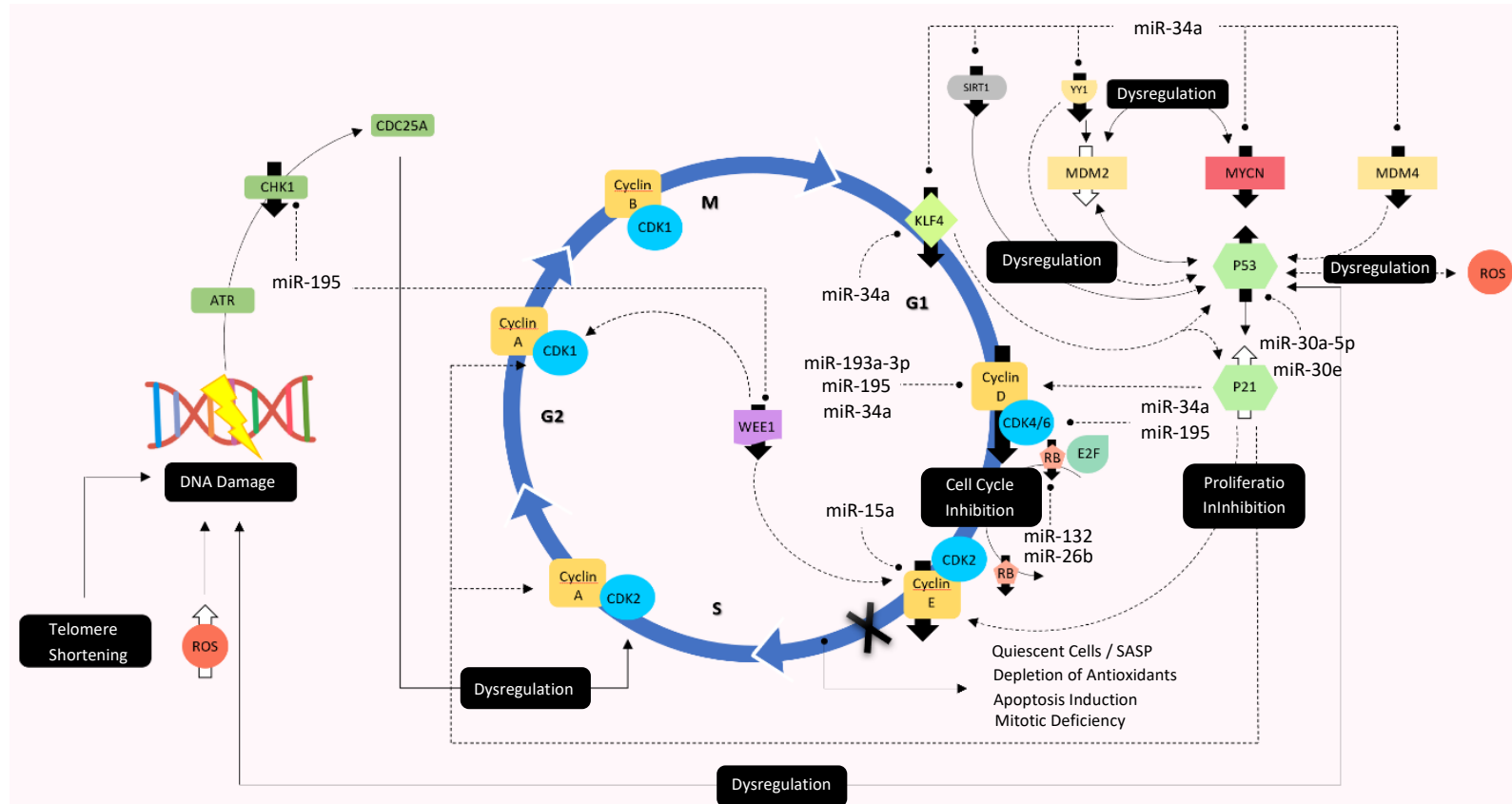


Figure 5 - Representation of cell cycle with dysregulation by miR-26b, miR34a, miR-30b, miR132, miR-193a-3p and miR-195 in SZ. The increased levels of miR-34a may downregulate SIRT1, MYCN, MDM4, KLF4 and the transcription factor YY1. Therefore, it is hypothesized that in this context MDM2 is also decreased, which avoids the downregulation of p53 causing the increase of this molecule. The increase in p53 expression may also be induced by decreased levels of miR-30a-5p and miR-30e, contributing to the increase in p21, which acts in the inhibition of CDKs along with multiple cellular functions. The increased levels of miR-193a-3p, miR-195 and miR-34 in SZ can downregulate D cyclins, followed by lesser activation of CDK4/6 during the G1 phase. The cell cycle is also affected by the downregulation of RB protein by increased levels of miR-132 and miR-26b, which is not hyperphosphorylated by the Cyclin D and CDK4/6 complex, preventing the release of E2F factors and consequently impairing entry into the S phase and progression of the cell cycle. Furthermore, the alteration of miR-195 can downregulate CHK1 and WEE1 checkpoints, contributing to a disturbed cell cycle. Abbreviations: ATR, Rad3-related Protein; CDKs, Cyclin-dependent Kinases; CHK1, Checkpoint Kinase 1; E2F, E2F Transcription Factor; KLF4, Kruppel Like Factor 4; MDM2, Murine Double Minute 2; MDM4, Murine Double Minute 4; MYCN, MYCN Proto-Oncogene; RB, The Retinoblastoma Protein; ROS, Reactive Oxygen Species; SIRT1, Sirtuin 1; WEE1, G2 Checkpoint Kinase.

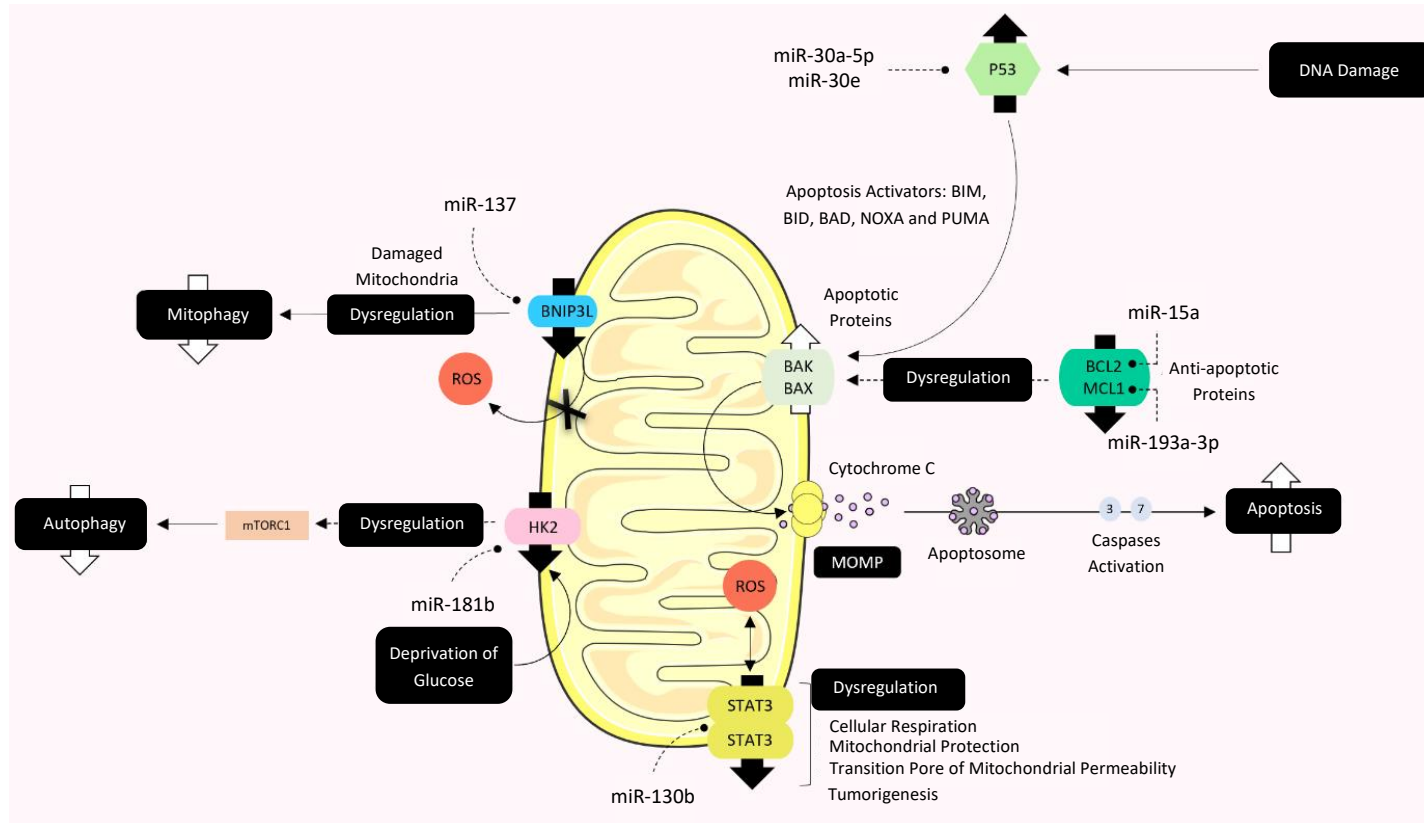


Figure 6 - Representation of the mitochondria with dysregulation by miR-15a, miR-30a-5p, miR-30e, miR-181b, miR-137 and miR-193a-3p in SZ. Increased p53 due to the lower levels of miR-30a-5p and miR-30e results in activation of pro-apoptotic proteins (BAD, BAX, PUMA, NOXA or BID), which bind and inhibit anti-apoptotic proteins (BCL- 2, BCL-XL and MCL-1). In addition, higher levels of miR-15a and miR-193a-3p can downregulate BCL-2 and MC-L1, respectively. The downregulation of anti-apoptotic proteins causes MOMP, releasing CYCS and other factors that form the apoptosome, which activates caspases and results in an increase in apoptosis. Autophagy-related molecules such as BNIP3L and HK2 are decreased by miR-137 and miR-181b, respectively. Therefore, it causes the accumulation of damaged mitochondria, which can increase the level of oxidative stress and induce apoptosis through ROS levels. In summary, these alterations can promote the increase in apoptosis and oxidative stress in individuals with SZ. Abbreviations: BAD, BCL2 Associated Agonist of Cell Death; BAK, BCL2 Homologous Antagonist/ Killer; BAX, BCL2 Associated X; BCL2, B-cell Lymphoma 2; BID, BH3 Interacting Domain Death Agonist; BIM, Bcl-2-like Protein 11; BNIP3L, BCL2 Interacting Protein 3 Like; G6P, Glucose-6-Phosphate; HK2, Hexokinase 2; MCL1, MCL1 Apoptosis Regulator; MOMP, Mitochondrial Outer Membrane Permeabilization; PUMA, p53-regulated Apoptosis Modulator; ROS, Reactive Oxygen Species; STAT3, Signal Transducer and Activator of Transcription 3.

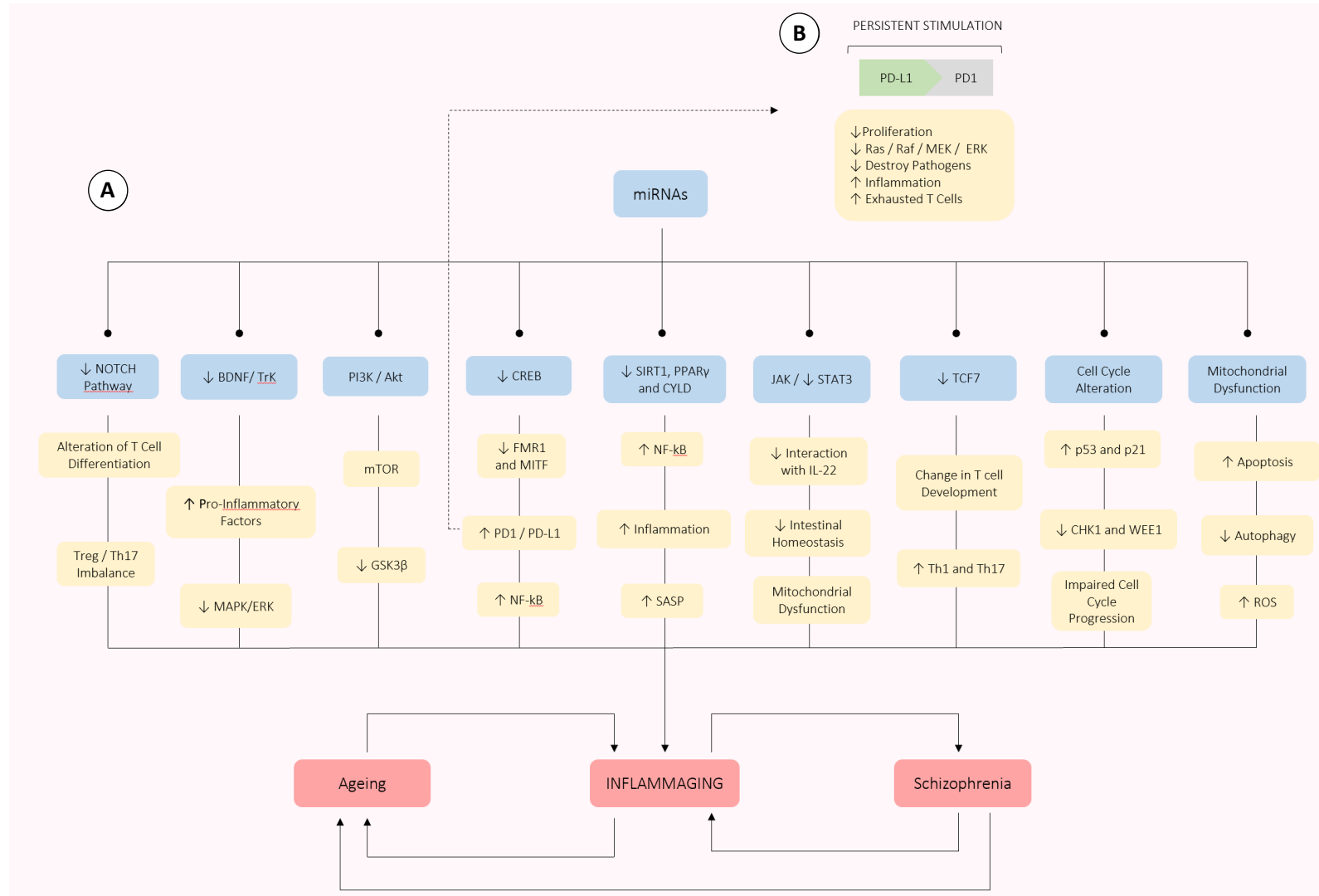


Figure 7 - Regulatory pathways by miRNAs supposedly involved in the inflammaging process present in SZ. (A) The influence of miRNAs affects important mediators of signaling pathways, generating consequences that may be involved in inflammaging, a process that can be the basis of accelerated aging in SZ. (B) In situations of chronic stimulation, PD-1/PD-L1 remains increased and sustained, resulting in characteristics that may contribute to accelerated aging in SZ. Therefore, PD1/PD-L1 may be a potential marker of inflammaging in the disorder.

Supplementary Figure S1 - Basal representation of signaling pathways and regulatory networks linked to a set of miRNAs with their respective candidate targets. (A) The Notch pathway involves proteolytic cleavage to release NICD that functions to regulate transcription. (B) The binding of BDNF with the Trk receptor activates the Ras / Raf / MEK / ERK signaling pathway. (C) The binding of IL-18 to the MyD88 protein, which leads to phosphorylation of IRAKs and TRAF6. (D) The TRAF6 mediates the activation of PI3K, which recruits Akt and then phosphorylates mTOR and its signaling molecules. Activation of Akt also increases phosphorylation of GSK-3 β , resulting in its inactivation. (E) The CREB is phosphorylated by ERK1/2, which can downregulate NF- κ B and contribute to the regulation of FMRP through the FMR1 gene. CREB also promotes MITF activation. Decreased MITF expression, together with increased IL-1 α and IL-1 β secretion, can initiate PD-L1 expression. (F) In the PI3K / Akt / mTOR pathway, AKT and mTOR are able to promote nuclear translocation of NF- κ B members. (G) NF- κ B modulated by PPAR γ . (H) CYLD down-regulates NF- κ B signaling through desubiquitination of its signaling factors. (I) SIRT1 antagonizes NF- κ B, leading to a pro-inflammatory phenotype. (J) SIRT1 deacetylates p53, which may prevent its nuclear translocation. The SIRT1 also interacts by decreasing transcriptional activity and the expression of proteins such as p21 and PUMA. (K) The low level of p53 is maintained through MDM2, which works in conjunction with molecules such as MYCN, MDM4 and YY1. (L) MDM2 also has NF- κ B agonistic effect during inflammation, where it binds to NF- κ B / p53 signaling, promoting NF- κ B and blocking p53. (M) The p53 acts on the cell cycle, acting indirectly in the transitions from G1 to S and G2 to mitosis. (N) The G1 phase, RB, is hyperphosphorylated by the Cyclin D and CDK4/6 complex, resulting in the release of E2F factors, which stimulate genes involved in inducing entry into the S phase. (O) DNA damage activates ATR, which phosphorylates CHK1. ATR and CHK1 signaling degrades the CDC25A phosphatase, preventing the premature S/G2 transition through the CDK2 kinase. (P) DNA damage promotes WEE1 activity, which is up-regulated to promote cell cycle arrest at the intra-S or G2/M checkpoint. (Q) After DNA damage, KLF4 regulates the cell cycle by stimulating the CDK inhibitor called p21. (R) The p53 regulates the expression of the BCL-2 family, which when unregulated can increase mitochondrial damage through ROS levels and consequently activate BNIP3/BNIP3L and HK2. (S) The JAK/STAT signaling pathway, which dimerizes STAT3 for its translocation to the nucleus where it can modulate gene expression. (T) The β -catenin dependent signaling pathway, initiated by Wnt binding to LRP-5/6 / FZD receptors, induces DVL, resulting in aggregation of AXIN, GSK3 β , CK1 and complex APC in the receptor. DISC1 inhibits GSK3 β , stabilizing β -catenin and activating transcription factors. (U) Inhibition of GSK3 β elevates the concentration of cytosolic β -catenin, which migrates to the nucleus and accumulates, interacting with TCF / LEF and BCL9, increasing β -catenin-mediated transcription activity.

SUPPLEMENTARY TABLES

| Acronym or Abbreviation | Definition |
|--------------------------------|---|
| Akt | Protein Kinase B |
| APC | Adenomatous Polyposis Coli Tumor-suppressor Protein |
| ATR | Rad3-related protein |
| BAD | BCL2 Associated Agonist Of Cell Death |
| BAK | BCL2 Antagonist/Killer |
| BAX | BCL2 Associated X |
| BCL-XL | B-cell lymphoma-extra large |
| BCL-2 | B-cell Lymphoma 2 |
| BCL9 | CLL/B-cell Lymphoma 9 Protein |
| BDNF | Brain Derived Neurotrophic Factor |
| BID | BH3 Interacting Domain Death Agonist |
| BIM | BCL-2-like Protein 11 |
| BNIP3 | BCL2 Interacting Protein 3 |
| BNIP3L | BCL2 Interacting Protein 3 Like |
| CDKs | Cyclin-dependent Protein Kinases |
| CHK1 | Checkpoint Kinase 1 |
| CK1 | Casein Kinase 1 |
| CREB | cAMP Response Element Binding Protein |
| CYCS | Cytochrome C |
| CYLD | Cylindromatosis Lysine 63 Deubiquitinase |
| DDR | DNA Damage Response |
| DISC1 | Disrupted-In-Schizophrenia 1 |
| DLL | Delta |
| DLL1 | Delta Like Canonical Notch Ligand 1 |
| DLL4 | Delta Like Canonical Notch Ligand 4 |
| DN | Double Negative |
| DP | Double Positive |
| DVL | Disheveled |
| E2F | E2 Transcription Factor |
| ERK | Extracellular Signal-regulated Kinase |
| ETP | Early Thymic Progenitor Cell Development |
| FMR1 | Fragile X Mental Retardation 1 |
| FMRP | Fragile X Mental Retardation Protein |
| Foxp3 | Forkhead Box P3 |
| G6P | Glucose-6-Phosphate |
| GM-CSF | Granulocyte-macrophage Colony-stimulating Factor |
| GSK-3 | Glycogen Synthase Kinase-3 |
| HKs | Hexokinases |
| IFN-γ | Interferon Gamma |
| IKK | I κ B Kinase Complex |

| | |
|--------------------------------|--|
| IRAK | Interleukin-1 Receptor-associated Kinases |
| J1 | Jagged 1 |
| JAG | Jagged |
| JAK | Janus tyrosine kinase |
| KLF4 | Krüppel-like Factor 4 |
| LEF1 | Lymphoid Enhancer Binding Factor 1 |
| LRP | Low Density Lipoprotein Receptor-related Protein |
| MAPK | Mitogen Activated Protein Kinase |
| MC-L1 | MCL1 Apoptosis Regulator |
| MDM2 | Murine Double Minute 2 |
| MDM4 | Murine Double Minute 4 |
| MEK | Mitogen-activated protein kinase kinase |
| miRNAs | MicroRNAs |
| MITF | Microphthalmia-associated Transcription Factor |
| MOMP | Permeabilization of the Mitochondrial Outer Membrane |
| mTOR | Mammalian Target Protein of Rapamycin |
| My88 | Myeloid Differentiation Factor 88 |
| MYCN | MYCN Proto-Oncogene |
| NEMO | NF- κ B Essential Modulator |
| NF-κB | Nuclear Factor- κ B |
| NICD | Intracellular Notch Domain |
| NKD1 | Naked Cuticle 1 |
| p65 | RelA Nuclear Translocation |
| PBMCs | Peripheral Blood Mononuclear Cells |
| PD-1 | Programmed Death Protein 1 |
| PD-L1 | Programmed Death Ligand 1 |
| PI3K | Phosphatidylinositol 3-kinase |
| PPARγ | Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma |
| PUMA | p53-regulated Apoptosis Modulator |
| RAF | Proto-oncogene Serine/Threonine-protein Kinase |
| RB | Retinoblastoma Protein |
| RIP1 | Receptor-interacting Protein 1 |
| RORγt | RAR-related Orphan Receptor Gamma |
| ROS | Reactive Oxygen Species |
| RUNX | Runt-related Transcription Factor |
| SASP | Senescence-associated Secretory Phenotype |
| SIRT1 | Sirtuin 1 |
| SP | Positive and Negative Selection |
| STAT | Signal Transducer And Activator Of Transcription |
| SZ | Schizophrenia |
| TCF | T cell factor |
| TCF7 | Transcription Factor 7 |
| TCR | T-cell receptor |
| TGF-β | Transforming Growth Factor Beta |
| TNF-α | Tumor Necrosis Factor Alpha |

| | |
|--------------|----------------------------------|
| TRAF | TNF Receptor |
| TRAF6 | TNF Receptor Associated Factor 6 |
| TRAM | TRIF-related Adaptor Molecule |
| Tregs | Regulatory T cells |
| Trk | Tyrosine Kinase Receptors |
| WEE1 | G2 Checkpoint Kinase |
| YY1 | Transcription Factor Yin Yang 1 |

Supplementary Table S1: Acronyms and Abbreviations. All acronyms or abbreviations used in the text and figures with their definitions, arranged in alphabetical order.

| MicroRNA | Potential Targets* | Reference | Expression | Model | <i>n</i> | | Type of Sample | Methodology |
|-----------------|---|-------------------------------|-----------------|-------|---|---------|--------------------------------------|---|
| | | | | | CASES | CTRLS | | |
| miR-195 | <i>WEE1, CDK6, CCND1, RAF, CHEK1 and NKD1</i> | Alacam et al. (2016) (182) | up-regulation | Human | Treatment Resistant SZ (n = 20) and Treatment Responsive SZ (n = 20) | n = 10 | Plasma | qRT-PCR |
| | | Shi et al. (2012) (183) | down-regulation | | n = 115 | n = 40 | Soro | Semi-nested qRT-PCR e qRT-PCR |
| | | Sun et al. (2015) (184) | up-regulation | | n = 25 | n = 13 | Plasma and PBMCs | qRT-PCR |
| | | Perkins et al. (2007) (185) | down-regulation | | SZ (n = 13), Schizoaffective Disorder (n = 2) | n = 21 | Post-mortem Brain Tissue (DLPFC/BA9) | |
| | | Beveridge et al. (2010) (186) | up-regulation | | n = 21 | n = 21 | Post-mortem Brain Tissue (STG/BA22) | |
| | | Mellios et al. (2009) (187) | down-regulation | | n = 20 | n = 20 | Post-mortem Brain Tissue (CPF/BA10) | |
| | | Guo et al. (2010) (188) | down-regulation | | Three studies related to SZmiRNAs and 160 SZGenes selected based on integrative evidence of linkage, association, gene expression and literature search | | - | |
| miR-130b | <i>PPARG, STAT3, FMR1, DLL1 and CYLD</i> | Wei et al. (2015) (189) | up-regulation | Human | SZ (n=564) and Other Disorder (n=162) | n = 400 | Plasma | Solexa Sequencing, TLDA Assay e qRT-PCR |

| | | | | | | | | |
|--------------------|--|-------------------------------|---------------|-------|--|---|-------------------------------------|---|
| miR-193a-3p | <i>MCL1 and CCND1</i> | Wei et al. (2015) (189) | up-regulation | Human | SZ (n=564) and Other Disorder (n=162) | n = 400 | Plasma | Solexa Sequencing, TLDA Assay e qRT-PCR |
| miR-181b | <i>CREB1 and HK2</i> | Sun et al. (2015) (190) | up-regulation | Human | n = 61 | n = 62 | Plasma | qRT-PCR |
| | | Beveridge et al. (2008) (191) | | | n = 21 | n=21 | Post-mortem Gray Matter Tissue | mRNA Microarray, Northern hybridization, Cell culture e qRT-PCR |
| | | Beveridge et al. (2010) (186) | | | n = 21 | n = 21 | Post-mortem Brain Tissue (STG/BA22) | qRT-PCR |
| | | Alacam et al. (2016) (182) | | | Treatment Resistant SZ (n = 20) and Treatment Responsive SZ (n = 20) | n = 10 | Plasma | |
| miR-34a | <i>JAG, MYCN, CDK6, CCND1, DLL1, SIRT1, NOCTH1, YY1, MDM4, MAP2K1, NOTCH2, KLF4 and TCF7</i> | Sun et al. (2015) (190) | up-regulation | Human | n = 61 | n = 62 | Plasma | qRT-PCR |
| | | Lai et al. (2016) (192) | | Human | SZ (n=48) and Brain Tissue (n=25) | Controls (n=37) and Control Brain Tissue (n=27) | PBMCs and Post-mortem Brain Tissue | qRT-PCR |
| | | Kuanjun et al. (2019) (193) | | | n = 40 | n = 40 | Soro | |

| | | | | | | | | |
|----------------|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------|-------|---|--------|--|---|
| | | Kim et al. (2010) (194) | | | n = 35 | n = 35 | Post-mortem Brain Tissue of the Dorsolateral Prefrontal Cortex (BA46) | TLDA e qRT-PCR |
| miR-346 | <i>GSK3B and IL18</i> | Sun et al. (2015) (190) | up-regulation | Human | n = 61 | n = 62 | Plasma | qRT-PCR |
| | | Zhu et al. (2009) (195) | down-regulation | | SZ (n=35) BP (n=32) | n = 34 | RNA and Genomic DNA Samples from SZ Patients Extracted from the Dorsolateral Prefrontal Cortex | |
| | | Shi et al. (2012) (183) | up-regulation | | n = 115 | n = 40 | Soro | Semi-nested qRT-PCR e qRT-PCR |
| miR-7 | <i>EGFR, RAF, RELA, and KLF4,</i> | Sun et al. (2015) (190) | up-regulation | Human | n = 61 | n = 62 | Plasma | qRT-PCR |
| | | Zhang et al. (2015) (196) | up-regulation | Human | n = 50 | n = 50 | Hippocampal Neurons (HT22) | Cell Culture, Viral Infection and qRT-PCR |
| | | Perkins et al. (2007) (185) | up-regulation | | SZ (n = 13), Schizoaffective Disorder (n = 2) | n = 21 | Post-mortem Brain Tissue (DLPFC/BA9) | qRT-PCR |
| | | Sun et al. (2015) (184) | up-regulation | | n = 25 | n = 13 | Plasma e PBMCs | |

| | | | | | | | | |
|-------------------|------------------------------|-------------------------------|-----------------|-------|---|---------|--|--|
| miR-30e | <i>NOTCH1 and TP53</i> | Perkins et al. (2007) (185) | up-regulation | Human | SZ (n = 13), Schizoaffective Disorder (n = 2) | n = 21 | Post-mortem Brain Tissue (DLPFC/BA9) | qRT-PCR |
| | | Mellios et al. (2009) (187) | down-regulation | | n = 20 | n = 20 | Post-mortem Brain Tissue (CPF/BA10) | |
| | | Wei et al. (2015) (189) | up-regulation | | SZ (n=564) and Other Disorder (n=162) | n = 400 | Plasma | Solexa Sequencing, TLDA Assay e qRT-PCR |
| miR-26b | <i>RB</i> | Beveridge et al. (2010) (186) | up-regulation | Human | n = 21 | n = 21 | Post-mortem Brain Tissue (STG/BA22) | qRT-PCR |
| | | Perkins et al (2007) (185) | down-regulation | | SZ (n = 13), Schizoaffective Disorder (n = 2) | n = 21 | Post-mortem Brain Tissue (DLPFC/BA9) | qRT-PCR |
| miR-15a | <i>BCL2, CCND1 and CCNE1</i> | Beveridge et al. (2010) (186) | up-regulation | Human | n = 21 | n = 21 | Post-mortem Brain Tissue (STG/BA22) | qRT-PCR |
| miR-30a-5p | <i>RUNX2, BCL9 and TP53</i> | Mellios et al. (2009) (187) | - | Human | n = 20 | n = 20 | Post-mortem Brain Tissue (CPF/BA10) | qRT-PCR |
| | | Perkins et al. (2007) (185) | down-regulation | | SZ (n = 13), Schizoaffective Disorder (n = 2) | n = 21 | Post-mortem Brain Tissue (DLPFC/BA9) | |
| miR-137 | <i>CDK6, MITF and BNIP3L</i> | Wu et al. (2016) (197) | up-regulation | Human | n = 44 | n = 44 | HEK293T and SH-SY5Y as Cell Lines and Peripheral Blood | Cell Culture, Luciferase Assay, qRT-PCR and Western Blotting |
| | | Ma et al. (2018) (198) | | | n = 10 | n = 10 | Peripheral Blood | qRT-PCR |

| | | | | | | | | |
|----------------|--------------------------|-------------------------|---------------|----------------|---------|---------|---|---------------------------|
| miR-132 | <i>RB, BDNF and MAPK</i> | Kim et al. (2010) (194) | up-regulation | Human | n = 35 | n = 35 | Post-mortem Brain Tissue from the Dorsolateral Prefrontal Cortex (BA46) | TLDA e qRT-PCR |
| | | Yu et al. (2015) (199) | - | Rats and Human | n = 105 | n = 130 | PBMCs | mRNA Microarray e qRT-PCR |

Supplementary Table S2: Compiled of miRNAs and their respective targets addressed in this work. The thirteen miRNAs were previously selected from their descriptions in the available literature on SZ. Information about the respective targets was obtained from the miRTarBase (<http://miRTarBase.mbc.nctu.edu.tw/>) and miRDB (<http://mirdb.org>) databases. *Only validated targets and their corresponding pathways were selected.

PARTE III

Discussão

Considerações Finais

Perspectivas

5 DISCUSSÃO

As alterações epigenéticas presentes na SZ podem estar causando um distúrbio na homeostase de muitos miRNAs, uma vez que se originam de regiões intrônicas de vários genes e podem ser influenciadas por tais modificações. Esses distúrbios nos níveis de miRNAs podem incluir um possível comprometimento das atividades das vias de sinalização relacionadas ao *inflammaging*, principalmente por meio de modificações transcricionais de seus genes-alvo. Guiados por esta hipótese, buscamos miRNAs previamente descritos na literatura como alterados na SZ e, posteriormente, avaliamos seus alvos biológicos por meio do miRTarBase² e miRDB³. Após esta primeira análise, selecionamos aqueles miRNAs cujos alvos biológicos validados estão presentes nas vias descritas na Figura 3⁴, relacionadas ao envelhecimento acelerado e inflamação crônica desses indivíduos. Chegamos a um total de 13 miRNAs (miR-195, miR-130b, miR-7, miR-193a-3p, miR-181b, miR-30a-5p, miR-137, miR-34a, miR-132, miR-346, miR-30e, miR-26b e miR-15a), os quais foram posicionados nas vias biológicas descritas no manuscrito, representando os possíveis mecanismos contribuintes para a fisiopatologia do transtorno. Após esta análise, sugerimos que a desregulação destes 13 miRNAs na SZ pode alterar fatores importantes em cada via.

Considerando o aumento de miR-34a na via da Notch, podemos pensar como consequência uma menor expressão de Jagged (JAG), a qual prejudica a diferenciação de Th2 e conseqüentemente diminui citocinas anti-inflamatórias como IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13. Nesse contexto, a diminuição de JAG também pode resultar no aumento de células T regulatórias (Treg) que juntamente com uma maior expressão de Forkhead Box P3 (Foxp3), reprimem o fator de transcrição para células Th17 denominado Receptor Gama Órfão Relacionado a RAR (ROR γ t) e as citocinas pró-inflamatórias IL-17, IL-17F e IL-21(109). O miR-34a e miR-130b também diminuem a sinalização Notch, regulando negativamente Delta 1 (DLL1) e Delta 4 (DLL4), diminuindo células Th1 e Th17 e favorecendo a diferenciação de células Th2.

Curiosamente, algumas implicações geradas pela regulação negativa de DLL1 e DLL4 também são compatíveis com as alterações imunológicas observadas no processo de envelhecimento. Por exemplo, a mudança do perfil Th1 para Th2 diminuindo a produção de IL-2 e aumentando os níveis de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-6(110). Na análise das respostas Th1 e Th2 na SZ, características semelhantes foram evidenciadas, incluindo diminuição da produção de

² Disponível em: <http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw/>.

³ Disponível em: <http://mirdb.org>.

⁴ Páginas 17 e 18 da dissertação.

Interferon Gama (IFN- γ) e IL-2, indicando resposta atenuada de células Th1(111,112). A ativação da resposta Th2 também foi descrita no distúrbio, incluindo níveis aumentados de IL-4 e IL-10(113). Além disso, em um estudo do líquido cefalorraquidiano, os níveis de IL-10 foram relacionados à gravidade da psicose em indivíduos com SZ(114).

A expressão diminuída de ligantes JAG e Delta (DLL) também afeta as vias mutuamente interconectadas como o desenvolvimento de Th17 e Treg, as quais implicam em um desequilíbrio pró e anti-inflamatório, influenciando o resultado das respostas imunológicas(115). Além disso, o desequilíbrio Th17 / Treg é uma característica do processo de envelhecimento(116), que pode estar associada à inflamação crônica, aumento de doenças autoimunes e desenvolvimento de doenças inflamatórias descritas em idosos(117).

Embora a diminuição da expressão de JAG por miR-34a aumente a expressão de células Treg e Foxp3, o que teoricamente não é coerente com o estado pró-inflamatório encontrado em SZ, acredita-se que este alto nível de células Treg pode ser considerado uma resposta imune buscando equilibrar o alto grau de inflamação presente no distúrbio, enfatizando que há uma desregulação entre os estados pró e anti-inflamatórios(118).

A menor expressão do Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo (BDNF) resultante do aumento do miR-132 pode acarretar no agravamento do processo de envelhecimento, visto que esta molécula é considerada um dos agentes protetores do SNC(119). Além disso, alterações nos níveis de BDNF também são acompanhadas pela cronicidade das doenças psiquiátricas(120). Os dados de estudos clínicos sobre SZ sugerem que o BDNF desempenha um papel importante na fisiopatologia do transtorno. Entretanto, tais dados apresentam muita variabilidade entre eles, ora indicando aumento, ora indicando diminuição dos níveis de BDNF tanto em amostras de encéfalo post-mortem, quanto em tecidos periféricos e estudos de associação genética(121).

No entanto, uma meta-análise em pacientes com SZ não medicados e virgens de tratamento revelou que os níveis de BDNF diminuem com a idade, independentemente da dosagem do medicamento(122). Um contexto semelhante é visto em modelos animais quando o aumento da inflamação afeta a expressão do BDNF no cérebro, onde citocinas pró-inflamatórias ou lipopolissacarídeos causam redução significativa dessa neurotrofina(123–125). Curiosamente, os episódios psicóticos em indivíduos com SZ estão relacionados ao aumento da neuroinflamação e micróglia ativada(126,127), sugerindo que as citocinas pró-inflamatórias envolvidas neste processo possam modular a expressão do BDNF(128) por meio de diferentes miRNAs, como o miR-132 destacado neste trabalho. Consequentemente, a diminuição dos níveis de BDNF por miR-132 afeta a via Proteína Cinase Ativada por Mitógeno

/ Cinase Regulada por Sinal Extracelular (MAPK / ERK), a qual mostra-se igualmente afetada pela desregulação de miRNAs. Por exemplo, miR-7 e miR-195 são capazes de influenciar a expressão do Proto-oncogene Serina / Treonina-Proteína Cinase (RAF) e miR-34a juntamente com miR-132 são capazes de regular a expressão da Proteína Cinase Cinase Ativada por Mitógeno (MEK) e MAPK1, respectivamente.

Além disso, nossos resultados também demonstraram que GSK-3 β juntamente ao aumento do miR-181b é capaz de desregular a Proteína de Ligação do Elemento de Resposta cAMP (CREB) e interromper a regulação da Proteína de Retardo Mental X-frágil (FMRP) por meio da diminuição dos níveis do gene de Retardo mental X-frágil 1 (FMR1) (129), enfatizando uma possível relação entre SZ e Síndrome do X Frágil(130). A diminuição de CREB pelo miR-181b também afeta a ativação do Fator de Transcrição Associado à Microftalmia (MITF), o qual é diminuída pelo miR-137(131,132). A regulação negativa da expressão de MITF pelo miRNA, juntamente com o aumento da secreção de IL-1 α e IL-1 β , pode desencadear a expressão do Ligante de Morte Programada 1 (PD-L1), que interage com a Proteína de Morte Programada 1 (PD1)(133). Curiosamente, neste trabalho vimos que ambas as moléculas PD1 / PD-L1 nunca foram investigadas na SZ, apesar do aumento da PD-L1 estar relacionado a situações de infecção crônica ou estimulação persistente(134), semelhante ao que ocorre no processo de *inflammaging*. Nessas situações, PD-L1 sinaliza através das células T, PD-1 para "desligar" as células T a fim de minimizar os danos ao tecido saudável. Se o problema for resolvido de forma aguda, os níveis de PD-1 / PD-L1 diminuem nas células T. Porém, em um cenário onde o problema não é eliminado, como visto na inflamação crônica, a expressão de PD-1 / PD-L1 permanece aumentada e sustentada, o que resulta em células T funcionalmente exauridas, menos capazes de proliferar, destruir invasão de patógenos e permitindo a persistência de infecções / inflamações(134–136). Embora essas consequências sejam semelhantes ao perfil apresentado em idosos(137,138), PD1 / PD-L1 ainda são pouco explorados no processo de envelhecimento, bem como nas doenças mentais e, portanto, podem representar um forte potencial para serem novos marcadores do processo de *inflammaging* na SZ.

Neste trabalho, também destacamos a via do Fator Nuclear Kappa B (NF- κ B), a qual possui a capacidade de controlar muitos processos, incluindo o processo inflamatório, apoptose e regulação da expressão de genes relacionados à resposta imune(139,140). Além disso, NF- κ B também apresenta-se como *hub* da rede inflamatória e do envelhecimento, onde os fatores ativadores da via podem atuar como mecanismos pró-senescentes(141). No envelhecimento, esses fatores aumentam e determinam uma ativação sustentada do NF- κ B, resultando no

fenótipo secretor associado à senescência (SASP), que participa do processo de inflamação crônica presente em várias doenças relacionadas à idade, bem como em transtornos psiquiátricos(142).

Curiosamente, nossos resultados demonstram que a desregulação dos miRNAs não afetou diretamente a via do NF- κ B, mas sim em moléculas relacionadas à sua modulação. Por exemplo, o aumento em miR-130b regula negativamente o receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR γ), que modula a sinalização de NF- κ B por meio da inibição da degradação de I κ B α , diminuição da translocação nuclear de RelA (p65), o que causa diminuição da ligação de RelA ao DNA e, conseqüentemente, a repressão de transcrição de citocinas pró-inflamatórias(143,144). Além do PPAR γ , o miR-130b também inibe o gene supressor de tumor Cilindromatose Lisina 63 Desubiquitinase (CYLD), outro regulador negativo na sinalização de NF- κ B que atua por meio da desubiquitinação de seus fatores de sinalização, incluindo o Fator 2 Associado ao Receptor de TNF (TRAF2), Fator 6 Associado ao Receptor de TNF (TRAF6), Proteína 1 que Interage com Receptor (RIP1) e o Modulador Essencial de NF- κ B (NEMO)(145–148).

O NF- κ B também é antagonizado por moléculas que regulam a atividade metabólica em resposta ao estresse celular, como a sirtuína 1 (SIRT1)(149), que é diminuída pelo miR-34a. Portanto, hipotetizamos que a alteração dos miRNAs na SZ é capaz de diminuir a atividade de mais de um fator capaz de inibir o NF- κ B, o que indica uma possível superativação desta via e, conseqüentemente, um aumento da inflamação e SASP no transtorno(142).

A desregulação de miRNAs na SZ também afetou a via Janus Cinase / Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição (JAK / STAT), onde os níveis aumentados de miR-130b apresentaram capacidade de afetar negativamente a expressão do Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição 3 (STAT3), diminuindo sua interação com IL-22, podendo resultar em prejuízo na integridade intestinal(150). Mudanças na homeostase intestinal, assim como mudanças no microbioma, são extremamente importantes no envelhecimento(151,152), inflamação e doenças psiquiátricas(153). Portanto, hipotetizamos que a diminuição do STAT3 pode estar relacionada a alteração de microrganismos marcadores de inflamação identificados em pacientes com SZ(154), mas também à regulação negativa de espécies que estão relacionadas à produção de butirato(155), as quais demonstram aumentar a função de barreira intestinal(156).

As mitocôndrias também contam com a presença de STAT3, o qual atua na inibição da abertura dos poros causada pela permeabilização da membrana externa mitocondrial (MOMP)(157) e se liga aos complexos da cadeia de transporte de elétrons, mantendo a

estabilidade da organela(158). Mitocôndrias deficientes em STAT3 exibem baixa atividade dos complexos I e II, sugerindo que a alteração dessa molécula pode implicar na desregulação da respiração celular(158,159). Sendo assim, a regulação negativa de STAT3 pelos miRNAs pode causar um resultado semelhante.

Além disso, as mitocôndrias são consideradas fontes primárias de espécies reativas de oxigênio (ROS)(160), que estão intimamente ligadas a processos inflamatórios, doenças psiquiátricas(161) e senescência(162). Pesquisas demonstraram que o aumento de ROS pode inibir a sinalização de JAK / STAT(163–165) e, portanto, é possível que a diminuição de STAT3 induzida por miR-130b seja consequência do aumento de ROS presente em SZ, principalmente devido à inflamação(161) e envelhecimento acelerado destes indivíduos(166).

Dentre os miRNAs regulados positivamente, o aumento dos níveis de miR-34a apresentou a capacidade de diminuir o Fator de Transcrição 7 (TCF7), causando uma possível alteração das células T no timo, o que pode favorecer as células Th1 e Th17. Esse resultado está de acordo com estudos anteriores que encontraram níveis elevados de citocinas Th1, bem como IL-1 β e TNF- α em amostras de pacientes com SZ em seu primeiro episódio e sem uso de medicação(35,167). Embora os níveis periféricos de IL-17 em pacientes com SZ não estejam bem documentados, esse aumento de Th17 contribui para a hipótese de imunopatogênese do transtorno, que associa Th17 à ativação imune materna(168). Além disso, as células Th17 também podem cruzar a BBB, fazendo com que as células gliais liberem citocinas e moléculas pró-inflamatórias, que são potenciais influenciadores na fisiopatologia da SZ(169,170). No envelhecimento, evidências demonstram a presença de alterações no equilíbrio Th17 / Treg, o que podem estar relacionadas ao processo inflamatório e consequentemente à alteração pró-inflamatória basal relatada em idosos, bem como o aumento das doenças autoimunes e o desenvolvimento de doenças inflamatórias nesses indivíduos(117).

Ademais, a influência do miR-34a na diminuição de TCF7 também parece estar relacionada ao processo de senescência, pois dados obtidos de células mononucleares de sangue periférico (PBMC) de idosos mostraram que a acessibilidade à cromatina nas regiões regulatórias do gene *TCF7* e do Fator de Ligação Potencializador Linfóide (LEF1) estão reduzidas(171,172).

A desregulação dos miRNAs pode também afetar o ciclo celular, principalmente na atividade de p53, a qual é regulada negativamente por diferentes moléculas. Por exemplo, SIRT1 que regula a localização subcelular de p53(173) e interage de maneira específica, causando uma diminuição em sua atividade transcricional e em proteínas relacionadas, como a p21(174,175). A p53 também é mantido em níveis mais baixos através do Murine Double

Minute 2 (MDM2)(173), um regulador negativo que participa de sua degradação(176) e também atua em conjunto com moléculas como o MYCN Proto-Oncogene (MYCN)(177) e seu homólogo Murine Double Minute 4 (MDM4)(178). O Fator de Transcrição Yin Yang 1 (YY1) também interage com o MDM2 fornecendo o complexo p53 / MDM2 e conseqüentemente aumentando a ubiquitinação de p53(179). Além disso, o Fator 4 Semelhante a Krüppel (KLF4), um fator de transcrição que pode ativar e reprimir genes que estão envolvidos na regulação e diferenciação do ciclo celular, também foi associado à supressão dos níveis de p53(180).

Nossos dados demonstram que os níveis aumentados de miR-34a podem regular negativamente SIRT1, MYCN, MDM4, KLF4 e o fator de transcrição YY1. Portanto, hipotetizamos e que nesse cenário MDM2 também está diminuído, o que afetaria a regulação negativa de p53 causando o aumento desta molécula. Este aumento da expressão de p53 é evidenciado pela alteração de miR-30a-5p e miR-30e, colaborando também para regulação positiva de p21, o qual atua na inibição de Proteínas cinases Dependentes de Ciclina (CDKs) juntamente com múltiplas funções celulares, incluindo a progressão G1 / S, crescimento celular, dano ao DNA e *stemness*(181,182). Além da inibição da proliferação celular causada pelo aumento de p21, as ciclinas Ds podem apresentar-se diminuídas devido aos níveis elevados de miR-193a-3p, miR-195 e miR-34a. Sendo assim, há menor ativação de CDK4 / 6 associada à sua regulação negativa induzida por miR-195 e miR-34. Ademais, os níveis aumentados de miR-195 também podem diminuir os pontos de verificação do ciclo como CHK1 e WEE1. Por fim, o ciclo celular também pode ser afetado pelos níveis mais elevados de miR-132 e miR-26b, diminuindo a Proteína de Retinoblastoma (RB), que não é hiperfosforilado pelo complexo Ciclina D e CDK4/6, impedindo a liberação de Fatores de Transcrição E2 (E2F)(183,184) e conseqüentemente dificultando a entrada para a fase S e progressão do ciclo celular(185).

Neste trabalho, também investigamos a regulação positiva de p53 por miR-30a-5p e miR-30e podendo resultar em uma maior ativação de proteínas pró-apoptóticas (BAD, BAX, PUMA, NOXA ou BID), as quais além de induzir uma maior suscetibilidade à apoptose, também são capazes de ligar-se a proteínas anti-apoptóticas (BCL-2, BCL-XL e MCL-1) e inibir sua atividade(186,187), conforme é evidenciado pela diminuição do Linfoma de Células B (BCL-2) e o regulador de apoptose MC-L1 através de miR-15a e miR-193a-3p, respectivamente. Na mitocôndria, alguns ativadores diretos de apoptose, como o Agonista de Morte do Domínio de Interação BH3 (BID), também se ligam e ativam os efetores como o Antagonista de BC-L2 (BAK) e BC-L2 Associado X (BAX)(188), que, conseqüentemente, causam MOMP. A MOMP causa a liberação de citocromo c (CYCS) e outros fatores que formam um complexo proteico (apoptossoma), o qual ativa a cascata de cisteína proteases

específicas do aspartato (caspases) e resulta em apoptose(186,189). Considerando o CYCS como um marcador potencial para dano celular e mitocondrial(190), um estudo mostrou um aumento significativo nos níveis de CYCS em pacientes com SZ em comparação com o grupo de controle(191). Além disso, dados anteriores demonstraram níveis diminuídos da proteína BCL-2 na região cortical de indivíduos com o transtorno(192). Sendo assim, essas evidências sugerem que a SZ pode ser uma patologia que sinaliza vulnerabilidade a estímulos pró-apoptóticos(193), semelhante ao contexto apresentado a partir da desregulação causada pelos miRNAs neste trabalho.

De acordo com nossos resultados, os níveis mais elevados de miR-181b podem regular negativamente a atividade da Hexocinase 2 (HK2), diminuindo o desenvolvimento de autofagia e contribuindo para o aumento da apoptose induzida principalmente pela privação de glicose(194). Ademais, os níveis de miR-137 apresentam-se capazes de diminuir a Proteína 3 de Interação BCL2 Semelhante (BNIP3L), o que também afeta o processo de autofagia neste contexto e, conseqüentemente, provoca o acúmulo de mitocôndrias danificadas, as quais podem aumentar o nível de estresse oxidativo e conseqüentemente induzir a apoptose através dos níveis de ROS(195). Portanto, além de estar relacionada ao aumento da apoptose nesses indivíduos, a desregulação dos miRNAs na SZ também pode estar ligada à disfunção mitocondrial, principalmente com defeitos que resultam em superprodução de ROS, que afeta processos inflamatórios importantes(196) relacionados a várias doenças associadas ao avanço da idade(197) e distúrbios psiquiátricos(161,198,199).

Em conjunto, esses achados sugerem que as alterações nos níveis dos miRNAs previamente descritos na SZ corroboraram com o que era esperado, afetando significativamente os mediadores associados ao processo de *inflammaging*, como vias envolvidas na diferenciação celular do sistema imunológico, alteração do ciclo celular, inflamação, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial(67). Portanto, os miRNA apresentam um grande potencial de se tornar uma ferramenta valiosa como biomarcador para SZ, além de permitir a realização de diversos estudos envolvendo rotas de sinalização possivelmente alteradas nesse transtorno.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho demonstra que níveis alterados de miRNAs na SZ pode contribuir para o envelhecimento precoce de indivíduos com SZ.

Dentre os treze miRNAs previamente citados como alterados no transtorno, foram encontrados: miR-34a, miR-30e, miR-130b ocasionando a atenuação da sinalização Notch, bem como a alteração da diferenciação de células T. Além disso, miR-132, miR-195, miR-7, miR-34a, miR-132, miR-137, miR-181b, miR-130b e miR-346 mostraram atuar na regulação negativa de BDNF e conseqüentemente, influenciaram na desregulação de vias relacionadas à neurotrofina como MAPK/ERK e NF- κ B. O miR-130b também regulou negativamente STAT3, resultando em uma perturbação da homeostase intestinal, bem como uma piora na funcionalidade mitocondrial.

A via Wnt / β -catenin juntamente com TCF7 também foram afetados pela alteração de miR-195, miR-346 e miR-30a-5p, hipotetizando um aumento da atividade de β -catenina e intensificando a desregulação de células T. A maioria dos miRNAs alterados na SZ pode atuar no ciclo celular, regulando negativamente seus pontos de verificação e possivelmente causando sua inibição através dos miR-34a, miR-195, miR-30a-5p, miR-30e, miR-193a-3p, miR-15a, miR-132 e miR-26b. Por fim, os miR-30a-5p, miR-30e, miR-137, miR-181b, miR-130b, miR-193a-3p e miR-15a ocasionaram a desregulação mitocondrial, alterando a permeabilidade, aumentando a apoptose e influenciando nos altos níveis de ROS.

Portanto, corroborando o que era esperado, os miRNAs selecionados afetaram significativamente os mediadores do processo de *inflammaging*, como a diferenciação celular do sistema imunológico, ciclo celular, inflamação, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial. Sendo assim, concluímos que as alterações encontradas nos perfis de expressão dos miRNAs podem ser utilizadas como ferramentas para auxiliar na elucidação de possíveis vias de sinalização alteradas, e que contribuem para o processo de *inflammaging* na SZ. Além disso, a expressão alterada de miRNAs também pode indicar potenciais marcadores para detecção e diagnóstico através de seus alvos biológicos, além de servir de base para estudos que visem estratégias terapêuticas para o transtorno. Porém, para se obter um cenário mais elaborado, é de extrema importância expandir este estudo para outros miRNAs não avaliados neste trabalho, além de avaliar as expressões e atividades de seus respectivos alvos considerando diferentes tecidos, tipos de células e o nível de gravidade do transtorno, com o objetivo de elucidar novos componentes implicados na SZ.

7 PERSPECTIVAS

Nossos dados apresentam, através dos níveis de miRNAs, novos pontos de vista sobre o estudo de rotas de sinalização contribuintes para o envelhecimento acelerado na fisiopatologia da SZ. Será necessário para ampliar e validar nossos achados, investigações em diferentes estágios do transtorno e em diferentes tecidos e tipos celulares, para então, estabelecer e ampliar propostas de novas estratégias terapêuticas na SZ. Além disso, para que possamos obter um cenário mais elaborado, é extremamente importante para a expansão desse estudo a utilização de ferramentas de bioinformática, ensaios experimentais, avaliação da expressão e atividades de genes e proteínas alvo para identificação novos componentes implicados em processos biológicos específicos da SZ, como por exemplo PD1/PD-L1.

REFERÊNCIAS

1. Tomasik J, Rahmoune H, Guest PC, Bahn S. Neuroimmune biomarkers in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2016;176(1):3–13.
2. Baxter AJ, Patton G, Scott KM, Degenhardt L, Whiteford HA. Global epidemiology of mental disorders: what are we missing? *PLoS One.* 2013;8(6):e65514.
3. McGrath J, Saha S, Chant D, Welham J. Schizophrenia: A concise overview of incidence, prevalence, and mortality. *Epidemiol Rev.* 2008;30(1):67–76.
4. Sadock BJ, Sadock VA. *Manual Conciso de Psiquiatria Clínica.* Porto Alegre:Artmed; 2004;2:154-174.
5. Hjorthøj C, Stürup AE, McGrath JJ, Nordentoft M. Years of potential life lost and life expectancy in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *The lancet Psychiatry.* abril de 2017;4(4):295–301.
6. Winship IR, Dursun SM, Baker GB, Balista PA, Kandratavicius L, Maia-de-Oliveira JP, et al. An Overview of Animal Models Related to Schizophrenia. *Can J Psychiatry.* janeiro de 2019;64(1):5–17.
7. Owen MJ, Sawa A, Mortensen PB. Schizophrenia. *Lancet.* 2016;388(10039):86–97.
8. American Psychiatry Association Apa. *DSM-V- Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais.* São Paulo:Artmed; 2014;5:59-66.
9. Gottesman II, Erlenmeyer-Kimling L. Family and twin strategies as a head start in defining prodromes and endophenotypes for hypothetical early-interventions in schizophrenia. *Schizophr Res.* agosto de 2001;51(1):93–102.
10. Gottesman II, Gould TD. The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry.* abril de 2003;160(4):636–45.
11. Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA. Schizophrenia, “just the facts” what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophr Res.* julho de 2008;102(1–3):1–18.
12. Gejman P V, Sanders AR, Kendler KS. Genetics of schizophrenia: new findings and challenges. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2011;12:121–44.
13. Ballon JS, Dean KA, Cadenhead KS. Obstetrical complications in people at risk for developing schizophrenia. *Schizophr Res.* 2008;98(1):307–11.
14. Penner JD, Brown AS. Prenatal infectious and nutritional factors and risk of adult schizophrenia. *Expert Rev Neurother.* julho de 2007;7(7):797–805.
15. Hahn B. The Potential of Cannabidiol Treatment for Cannabis Users With Recent-Onset Psychosis. *Schizophr Bull.* janeiro de 2018;44(1):46–53.
16. Petersen L, Mortensen PB, Pedersen CB. Paternal age at birth of first child and risk of schizophrenia. *Am J Psychiatry.* janeiro de 2011;168(1):82–8.
17. Ng F, Berk M, Dean O, Bush AI. Oxidative stress in psychiatric disorders: Evidence

- base and therapeutic implications. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2008;11(6):851–76.
18. Gama CS, Andreazza AC, Kunz M, Berk M, Belmonte-de-Abreu PS, Kapczinski F. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Neurosci Lett*. 2007;420(1):45–8.
 19. Gama CS, Berk M, Andreazza AC, Kapczinski F, Belmonte-de-Abreu P. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor and thiobarbituric acid reactive substances in chronically medicated schizophrenic patients: A positive correlation. *Rev Bras Psiquiatr*. 2008;30(4):337–40.
 20. Gama CS, Salvador M, Andreazza AC, Kapczinski F, Silva Belmonte-de-Abreu P. Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in schizophrenia: A study of patients treated with haloperidol or clozapine. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2006;30(3):512–5.
 21. Gama CS, Salvador M, Andreazza AC, Lobato MI, Berk M, Kapczinski F, et al. Elevated serum thiobarbituric acid reactive substances in clinically symptomatic schizophrenic males. *Neurosci Lett*. 2008;433(3):270–3.
 22. Uebel MGP. *Estresse Oxidativo E Inflamação Em Diferentes Estágios Da Esquizofrenia [tese]*. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2013.
 23. Strous RD, Shoenfeld Y. Schizophrenia, autoimmunity and immune system dysregulation: A comprehensive model updated and revisited. *J Autoimmun*. 2006;27(2):71–80.
 24. Goldsmith CAW, Rogers DP. The case for autoimmunity in the etiology of schizophrenia. *Pharmacotherapy*. 2008;28(6):730–41.
 25. Bonilla FA, Oettgen HC. Adaptive immunity. *J Allergy Clin Immunol*. fevereiro de 2010;125(2 Suppl 2):S33-40.
 26. Jiang J, Natarajan K, Margulies DH. MHC Molecules, T cell Receptors, Natural Killer Cell Receptors, and Viral Immuno-evasins-Key Elements of Adaptive and Innate Immunity. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1172:21–62.
 27. Patterson PH. Immune involvement in schizophrenia and autism: Etiology, pathology and animal models. *Behav Brain Res*. 2009;204(2):313–21.
 28. Bennett FC, Molofsky A V. The immune system and psychiatric disease: a basic science perspective. *Clin Exp Immunol*. setembro de 2019;197(3):294–307.
 29. Potvin S, Stip E, Sepehry AA, Gendron A, Bah R, Kouassi E. Inflammatory Cytokine Alterations in Schizophrenia: A Systematic Quantitative Review. *Biol Psychiatry*. 2008;63(8):801–8.
 30. Pouget J. Evaluating the contribution of immune gene variants to schizophrenia. In 2016.
 31. Murphy K, Weaver C. *Janeway's Immunobiology*. 9ª ed. Nova York, Londres: Garland Science / Taylor & Francis Group; 2016.

32. Müller N, Weidinger E, Leitner B, Schwarz MJ. The role of inflammation in schizophrenia. *Front Neurosci.* 2015;9:372.
33. Müller N. Inflammation in Schizophrenia: Pathogenetic Aspects and Therapeutic Considerations. *Schizophr Bull.* agosto de 2018;44(5):973–82.
34. Bauer ME, Teixeira AL. Inflammation in psychiatric disorders: what comes first? *Ann N Y Acad Sci.* fevereiro de 2019;1437(1):57–67.
35. Miller BJ, Buckley P, Seabolt W, Mellor A, Kirkpatrick B. Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: Clinical status and antipsychotic effects. *Biol Psychiatry.* 2011;70(7):663–71.
36. Goldsmith DR, Rapaport MH, Miller BJ. A meta-analysis of blood cytokine network alterations in psychiatric patients: comparisons between schizophrenia, bipolar disorder and depression. *Mol Psychiatry.* dezembro de 2016;21(12):1696–709.
37. Inoshita M, Numata S, Tajima A, Kinoshita M, Umehara H, Nakataki M, et al. A significant causal association between C-reactive protein levels and schizophrenia. *Sci Rep.* maio de 2016;6:26105.
38. Fond G, Lançon C, Korchia T, Auquier P, Boyer L. The Role of Inflammation in the Treatment of Schizophrenia. *Front psychiatry.* 2020;11:160.
39. Khandaker GM, Cousins L, Deakin J, Lennox BR, Yolken R, Jones PB. Inflammation and immunity in schizophrenia: implications for pathophysiology and treatment. *The lancet Psychiatry.* março de 2015;2(3):258–70.
40. Jeste D V, Wolkowitz OM, Palmer BW. Divergent trajectories of physical, cognitive, and psychosocial aging in schizophrenia. *Schizophr Bull.* maio de 2011;37(3):451–5.
41. Laursen TM, Munk-Olsen T, Vestergaard M. Life expectancy and cardiovascular mortality in persons with schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry.* março de 2012;25(2):83–8.
42. Casey DE, Hansen TE, Meyer J, Nasrallah H. Excessive mortality and morbidity associated with schizophrenia. In: Meyer JM, Nasrallah HA, eds. *Medical illness and schizophrenia.* Washington, DC: American Psychiatric Press, Inc.; 2009:17–35.
43. Brown S. Excess mortality of schizophrenia. A meta-analysis. *Br J Psychiatry.* dezembro de 1997;171:502–8.
44. Ahmed A, Tollefsbol T. Telomeres and telomerase: basic science implications for aging. *J Am Geriatr Soc.* agosto de 2001;49(8):1105–9.
45. Vaiserman A, Krasnienkov D. Telomere Length as a Marker of Biological Age: State-of-the-Art, Open Issues, and Future Perspectives. *Front Genet.* 2020;11:630186.
46. Lindqvist D, Epel ES, Mellon SH, Penninx BW, Révész D, Verhoeven JE, et al. Psychiatric disorders and leukocyte telomere length: Underlying mechanisms linking mental illness with cellular aging. *Neurosci Biobehav Rev.* agosto de 2015;55:333–64.
47. Czepielewski LS, Massuda R, Panizzutti B, da Rosa ED, de Lucena D, Macêdo D, et al. Telomere length in subjects with schizophrenia, their unaffected siblings and

- healthy controls: Evidence of accelerated aging. *Schizophr Res.* julho de 2016;174(1–3):39–42.
48. Polho GB, De-Paula VJ, Cardillo G, dos Santos B, Kerr DS. Leukocyte telomere length in patients with schizophrenia: A meta-analysis. *Schizophr Res.* julho de 2015;165(2–3):195–200.
 49. Czepielewski LS, Massuda R, Panizzutti B, Grun LK, Barbé-Tuana FM, Teixeira AL, et al. Telomere Length and CCL11 Levels are Associated With Gray Matter Volume and Episodic Memory Performance in Schizophrenia: Evidence of Pathological Accelerated Aging. *Schizophr Bull.* janeiro de 2018;44(1):158–67.
 50. McCullumsmith RE, Clinton SM, Meador-Woodruff JH. Schizophrenia as a disorder of neuroplasticity. *Int Rev Neurobiol.* 2004;59:19–45.
 51. Balu DT, Coyle JT. Neuroplasticity signaling pathways linked to the pathophysiology of schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev.* janeiro de 2011;35(3):848–70.
 52. Osimo EF, Beck K, Reis Marques T, Howes OD. Synaptic loss in schizophrenia: a meta-analysis and systematic review of synaptic protein and mRNA measures. *Mol Psychiatry.* abril de 2019;24(4):549–61.
 53. Forsyth JK, Lewis DA. Mapping the Consequences of Impaired Synaptic Plasticity in Schizophrenia through Development: An Integrative Model for Diverse Clinical Features. *Trends Cogn Sci.* outubro de 2017;21(10):760–78.
 54. Glantz LA, Lewis DA. Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical pyramidal neurons in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* janeiro de 2000;57(1):65–73.
 55. Glausier JR, Lewis DA. Dendritic spine pathology in schizophrenia. *Neuroscience.* outubro de 2013;251:90–107.
 56. Garey L. When cortical development goes wrong: schizophrenia as a neurodevelopmental disease of microcircuits. *J Anat.* outubro de 2010;217(4):324–33.
 57. Lee J, Park S. Working memory impairments in schizophrenia: a meta-analysis. *J Abnorm Psychol.* novembro de 2005;114(4):599–611.
 58. Aleman A, Hijman R, de Haan EH, Kahn RS. Memory impairment in schizophrenia: a meta-analysis. *Am J Psychiatry.* setembro de 1999;156(9):1358–66.
 59. Loewenstein DA, Czaja SJ, Bowie CR, Harvey PD. Age-associated differences in cognitive performance in older patients with schizophrenia: a comparison with healthy older adults. *Am J Geriatr psychiatry Off J Am Assoc Geriatr Psychiatry.* janeiro de 2012;20(1):29–40.
 60. Cobia DJ, Smith MJ, Wang L, Csernansky JG. Longitudinal progression of frontal and temporal lobe changes in schizophrenia. *Schizophr Res.* agosto de 2012;139(1–3):1–6.
 61. Kochunov P, Glahn DC, Rowland LM, Olvera RL, Winkler A, Yang Y-H, et al. Testing the hypothesis of accelerated cerebral white matter aging in schizophrenia and major depression. *Biol Psychiatry.* março de 2013;73(5):482–91.

62. Osimo EF, Brugger SP, de Marvao A, Pillinger T, Whitehurst T, Statton B, et al. Cardiac structure and function in schizophrenia: cardiac magnetic resonance imaging study. *Br J Psychiatry*. agosto de 2020;217(2):450–7.
63. Spelman LM, Walsh PI, Sharifi N, Collins P, Thakore JH. Impaired glucose tolerance in first-episode drug-naïve patients with schizophrenia. *Diabet Med*. maio de 2007;24(5):481–5.
64. Venkatasubramanian G, Chittiprol S, Neelakantachar N, Naveen MN, Thirthall J, Gangadhar BN, et al. Insulin and insulin-like growth factor-1 abnormalities in antipsychotic-naïve schizophrenia. *Am J Psychiatry*. outubro de 2007;164(10):1557–60.
65. Nguyen TT, Eyler LT, Jeste D V. Systemic biomarkers of accelerated aging in schizophrenia: A critical review and future directions. *Schizophr Bull*. 2018;44(2):398–408.
66. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, et al. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci*. junho de 2000;908:244–54.
67. Franceschi C, Garagnani P, Parini P, Giuliani C, Santoro A. Inflammaging: a new immune–metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nat Rev Endocrinol*. 2018;14(10):576–90.
68. Rodrigues-Amorim D, Rivera-Baltanás T, Spuch C, Caruncho HJ, González-Fernandez Á, Olivares JM, et al. Cytokines dysregulation in schizophrenia: A systematic review of psychoneuroimmune relationship. *Schizophr Res*. julho de 2018;197:19–33.
69. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Vol. 120, Cell*. United States; 2005. p. 15–20.
70. Kozomara A, Birgaoanu M, Griffiths-Jones S. miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Res*. janeiro de 2019;47(D1):D155–62.
71. Golan D, Levy C, Friedman B, Shomron N. Biased hosting of intronic microRNA genes. *Bioinformatics*. abril de 2010;26(8):992–5.
72. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. janeiro de 2004;116(2):281–97.
73. Borchert GM, Lanier W, Davidson BL. RNA polymerase III transcribes human microRNAs. *Nat Struct Mol Biol*. dezembro de 2006;13(12):1097–101.
74. Saliminejad K, Khorram Khorshid HR, Soleymani Fard S, Ghaffari SH. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *J Cell Physiol*. maio de 2019;234(5):5451–65.
75. Nguyen TA, Park J, Dang TL, Choi Y-G, Kim VN. Microprocessor depends on hemin to recognize the apical loop of primary microRNA. *Nucleic Acids Res*. junho de 2018;46(11):5726–36.
76. Yang W, Chendrimada TP, Wang Q, Higuchi M, Seeburg PH, Shiekhattar R, et al.

- Modulation of microRNA processing and expression through RNA editing by ADAR deaminases. *Nat Struct Mol Biol.* janeiro de 2006;13(1):13–21.
77. Yi R, Doehle BP, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Overexpression of exportin 5 enhances RNA interference mediated by short hairpin RNAs and microRNAs. *RNA.* fevereiro de 2005;11(2):220–6.
 78. Okamura K, Phillips MD, Tyler DM, Duan H, Chou Y, Lai EC. The regulatory activity of microRNA* species has substantial influence on microRNA and 3' UTR evolution. *Nat Struct Mol Biol.* abril de 2008;15(4):354–63.
 79. Doench JG, Sharp PA. Specificity of microRNA target selection in translational repression. *Genes Dev.* março de 2004;18(5):504–11.
 80. Kedde M, Strasser MJ, Boldajipour B, Oude Vrielink JAF, Slanchev K, le Sage C, et al. RNA-binding protein Dnd1 inhibits microRNA access to target mRNA. *Cell.* dezembro de 2007;131(7):1273–86.
 81. Liu J. Control of protein synthesis and mRNA degradation by microRNAs. *Curr Opin Cell Biol.* abril de 2008;20(2):214–21.
 82. Grimson A, Farh KK-H, Johnston WK, Garrett-Engele P, Lim LP, Bartel DP. MicroRNA targeting specificity in mammals: determinants beyond seed pairing. *Mol Cell.* julho de 2007;27(1):91–105.
 83. Hsu S-D, Lin F-M, Wu W-Y, Liang C, Huang W-C, Chan W-L, et al. miRTarBase: a database curates experimentally validated microRNA-target interactions. *Nucleic Acids Res.* janeiro de 2011;39(Database issue):D163-9.
 84. Davis-Dusenbery BN, Hata A. Mechanisms of control of microRNA biogenesis. *J Biochem.* outubro de 2010;148(4):381–92.
 85. Winter J, Jung S, Keller S, Gregory RI, Diederichs S. Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nat Cell Biol.* março de 2009;11(3):228–34.
 86. Rosado M, Silva R, G Bexiga M, G Jones J, Manadas B, Anjo SI. Advances in biomarker detection: Alternative approaches for blood-based biomarker detection. *Adv Clin Chem.* 2019;92:141–99.
 87. Wiktorowicz JE, Soman K V. Discovery of Candidate Biomarkers. *Adv Exp Med Biol.* 2016;919:443–62.
 88. Follert P, Cremer H, Béclin C. MicroRNAs in brain development and function: a matter of flexibility and stability. *Front Mol Neurosci.* 2014;7:5.
 89. Geaghan M, Cairns MJ. MicroRNA and Posttranscriptional Dysregulation in Psychiatry. *Biol Psychiatry.* agosto de 2015;78(4):231–9.
 90. Nowak JS, Michlewski G. miRNAs in development and pathogenesis of the nervous system. *Biochem Soc Trans.* agosto de 2013;41(4):815–20.
 91. Nadim WD, Simion V, Benedetti H, Pichon C, Baril P, Morisset-Lopez S. MicroRNAs in Neurocognitive Dysfunctions: New Molecular Targets for Pharmacological

- Treatments? *Curr Neuropharmacol.* 2017;15(2):260–75.
92. Wang J, Wang Y, Yang J, Huang Y. microRNAs as novel biomarkers of schizophrenia (Review). *Exp Ther Med.* dezembro de 2014;8(6):1671–6.
 93. Roy B, Yoshino Y, Allen L, Prall K, Schell G, Dwivedi Y. Exploiting Circulating MicroRNAs as Biomarkers in Psychiatric Disorders. *Mol Diagn Ther.* junho de 2020;24(3):279–98.
 94. Miller BH, Wahlestedt C. MicroRNA dysregulation in psychiatric disease. *Brain Res.* junho de 2010;1338:89–99.
 95. Sun E, Shi Y. MicroRNAs: Small molecules with big roles in neurodevelopment and diseases. *Exp Neurol.* junho de 2015;268:46–53.
 96. Fries GR, Zhang W, Benevenuto D, Quevedo J. MicroRNAs in Major Depressive Disorder. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1118:175–90.
 97. Fries GR, Carvalho AF, Quevedo J. The miRNome of bipolar disorder. *J Affect Disord.* junho de 2018;233:110–6.
 98. Coyle JT. MicroRNAs suggest a new mechanism for altered brain gene expression in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* março de 2009;106(9):2975–6.
 99. Condrat CE, Thompson DC, Barbu MG, Bugnar OL, Boboc A, Cretoiu D, et al. miRNAs as Biomarkers in Disease: Latest Findings Regarding Their Role in Diagnosis and Prognosis. *Cells.* janeiro de 2020;9(2).
 100. Harrison PJ, Weinberger DR. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry.* 2005;10(1):40–68.
 101. Schwarz E, Bahn S. The utility of biomarker discovery approaches for the detection of disease mechanisms in psychiatric disorders. *Br J Pharmacol.* março de 2008;153 Suppl(Suppl 1):S133-6.
 102. Perkins DO, Jeffries CD, Jarskog LF, Thomson JM, Woods K, Newman MA, et al. microRNA expression in the prefrontal cortex of individuals with schizophrenia and schizoaffective disorder. *Genome Biol.* 2007;8(2):R27.
 103. Beveridge NJ, Gardiner E, Carroll AP, Tooney PA, Cairns MJ. Schizophrenia is associated with an increase in cortical microRNA biogenesis. *Mol Psychiatry.* dezembro de 2010;15(12):1176–89.
 104. Lai C-Y, Yu S-L, Hsieh MH, Chen C-H, Chen H-Y, Wen C-C, et al. MicroRNA expression aberration as potential peripheral blood biomarkers for schizophrenia. *PLoS One.* 2011;6(6):e21635.
 105. Shi W, Du J, Qi Y, Liang G, Wang T, Li S, et al. Aberrant expression of serum miRNAs in schizophrenia. *J Psychiatr Res.* fevereiro de 2012;46(2):198–204.
 106. Ripke S, Sanders AR, Kendler KS, Levinson DF, Sklar P, Holmans PA, et al. Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nat Genet.* 2011;43(10):969–78.

107. Wu S, Zhang R, Nie F, Wang X, Jiang C, Liu M, et al. MicroRNA-137 Inhibits EFNB2 Expression Affected by a Genetic Variant and Is Expressed Aberrantly in Peripheral Blood of Schizophrenia Patients. *EBioMedicine*. outubro de 2016;12:133–42.
108. He K, Guo C, He L, Shi Y. MiRNAs of peripheral blood as the biomarker of schizophrenia. *Hereditas*. 2018;155:9.
109. Chen Z, Lin F, Gao Y, Li Z, Zhang J, Xing Y, et al. FOXP3 and ROR γ t: transcriptional regulation of Treg and Th17. *Int Immunopharmacol*. maio de 2011;11(5):536–42.
110. Boren E, Gershwin ME. Inflamm-aging: autoimmunity, and the immune-risk phenotype. *Autoimmun Rev*. julho de 2004;3(5):401–6.
111. Garay PA, McAllister AK. Novel roles for immune molecules in neural development: implications for neurodevelopmental disorders. *Front Synaptic Neurosci*. 2010;2:136.
112. Arolt V, Rothermundt M, Wandinger KP, Kirchner H. Decreased in vitro production of interferon-gamma and interleukin-2 in whole blood of patients with schizophrenia during treatment. *Mol Psychiatry*. março de 2000;5(2):150–8.
113. Dimitrov DH, Lee S, Yantis J, Honaker C, Braida N. Cytokine Serum Levels as Potential Biological Markers for the Psychopathology in Schizophrenia. Carvalho L, organizador. *Adv Psychiatry*. 2014;2014:493505.
114. Van Kammen D.P., McAllister C.G., Kelley M.E. (1997) Relationship between immune and behavioral measures in schizophrenia. In: Wieselmann G. (eds) *Current Update in Psychoimmunology. Key Topics in Brain Research*. Springer, Vienna.
115. Noack M, Miossec P. Th17 and regulatory T cell balance in autoimmune and inflammatory diseases. *Autoimmun Rev*. junho de 2014;13(6):668–77.
116. Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini F, et al. Inflammaging and anti-inflammaging: A systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev*. 2007;128(1):92–105.
117. Schmitt V, Rink L, Uciechowski P. The Th17/Treg balance is disturbed during aging. *Exp Gerontol*. dezembro de 2013;48(12):1379–86.
118. Corsi-Zuelli F, Loureiro CM, Shuhama R, Fachim HA, Menezes PR, Louzada-Junior P, et al. Cytokine profile in first-episode psychosis, unaffected siblings and community-based controls: the effects of familial liability and childhood maltreatment. *Psychol Med*. maio de 2020;50(7):1139–47.
119. Almeida RD, Manadas BJ, Melo C V, Gomes JR, Mendes CS, Grãos MM, et al. Neuroprotection by BDNF against glutamate-induced apoptotic cell death is mediated by ERK and PI3-kinase pathways. *Cell Death Differ*. outubro de 2005;12(10):1329–43.
120. Lima Giacobbo B, Doorduyn J, Klein HC, Dierckx RAJO, Bromberg E, de Vries EFJ. Brain-Derived Neurotrophic Factor in Brain Disorders: Focus on Neuroinflammation. *Mol Neurobiol*. 2019;56(5):3295–312.
121. Buckley PF, Pillai A, Howell KR. Brain-derived neurotrophic factor: findings in schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*. março de 2011;24(2):122–7.

122. Green MJ, Matheson SL, Shepherd A, Weickert CS, Carr VJ. Brain-derived neurotrophic factor levels in schizophrenia: A systematic review with meta-analysis. *Mol Psychiatry*. 2011;16(9):960–72.
123. Schnydrig S, Korner L, Landweer S, Ernst B, Walker G, Otten U, et al. Peripheral lipopolysaccharide administration transiently affects expression of brain-derived neurotrophic factor, corticotropin and proopiomelanocortin in mouse brain. *Neurosci Lett*. dezembro de 2007;429(1):69–73.
124. Guan Z, Fang J. Peripheral immune activation by lipopolysaccharide decreases neurotrophins in the cortex and hippocampus in rats. *Brain Behav Immun*. 2006;20(1):64–71.
125. Rage F, Silhol M, Tapia-Arancibia L. IL-1beta regulation of BDNF expression in rat cultured hypothalamic neurons depends on the presence of glial cells. *Neurochem Int*. outubro de 2006;49(5):433–41.
126. Fillman SG, Cloonan N, Catts VS, Miller LC, Wong J, McCrossin T, et al. Increased inflammatory markers identified in the dorsolateral prefrontal cortex of individuals with schizophrenia. *Mol Psychiatry*. fevereiro de 2013;18(2):206–14.
127. Doorduyn J, De Vries EFJ, Willemsen ATM, De Groot JC, Dierckx RA, Klein HC. Neuroinflammation in schizophrenia-related psychosis: A PET study. *J Nucl Med*. 2009;50(11):1801–7.
128. Jin Y, Sun LH, Yang W, Cui RJ, Xu SB. The Role of BDNF in the Neuroimmune Axis Regulation of Mood Disorders. *Front Neurol*. 2019;10:515.
129. Wang H, Morishita Y, Miura D, Naranjo JR, Kida S, Zhuo M. Roles of CREB in the regulation of FMRP by group I metabotropic glutamate receptors in cingulate cortex. *Mol Brain*. agosto de 2012;5:27.
130. Das P, Johnston CF, Hossain S. Schizophrenia in a patient with full mutation of Fragile X gene and intellectual disability: a “STEP” towards better understanding. *Psychiatr Genet*. junho de 2020;30(3):83–6.
131. Kim Y-M, Cho S-E, Seo Y-K. The activation of melanogenesis by p-CREB and MITF signaling with extremely low-frequency electromagnetic fields on B16F10 melanoma. *Life Sci*. outubro de 2016;162:25–32.
132. Kim J-H, Hong A-R, Kim Y-H, Yoo H, Kang S-W, Chang SE, et al. JNK suppresses melanogenesis by interfering with CREB-regulated transcription coactivator 3-dependent MITF expression. *Theranostics*. 2020;10(9):4017–29.
133. Ballotti R, Cheli Y, Bertolotto C. The complex relationship between MITF and the immune system: a Melanoma ImmunoTherapy (response) Factor? *Mol Cancer*. 2020;19(1):170.
134. Jubel JM, Barbati ZR, Burger C, Wirtz DC, Schildberg FA. The Role of PD-1 in Acute and Chronic Infection. *Front Immunol*. 2020;11:487.
135. Francisco LM, Sage PT, Sharpe AH. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunol Rev*. julho de 2010;236:219–42.

136. Bardhan K, Anagnostou T, Boussiotis VA. The PD1: PD-L1/2 pathway from discovery to clinical implementation. *Front Immunol.* 2016;7(DEC).
137. Lages CS, Lewkowich I, Sproles A, Wills-Karp M, Chougnnet C. Partial restoration of T-cell function in aged mice by in vitro blockade of the PD-1/PD-L1 pathway. *Aging Cell.* outubro de 2010;9(5):785–98.
138. Henson SM, Macaulay R, Riddell NE, Nunn CJ, Akbar AN. Blockade of PD-1 or p38 MAP kinase signaling enhances senescent human CD8(+) T-cell proliferation by distinct pathways. *Eur J Immunol.* maio de 2015;45(5):1441–51.
139. Huang W-C, Hung M-C. Beyond NF- κ B activation: nuclear functions of I κ B kinase α . *J Biomed Sci.* janeiro de 2013;20(1):3.
140. Diamant G, Dikstein R. Transcriptional control by NF- κ B: elongation in focus. *Biochim Biophys Acta.* setembro de 2013;1829(9):937–45.
141. Balistreri CR, Candore G, Accardi G, Colonna-Romano G, Lio D. NF- κ B pathway activators as potential ageing biomarkers: targets for new therapeutic strategies. *Immun Ageing.* junho de 2013;10(1):24.
142. Salminen A, Kauppinen A, Kaarniranta K. Emerging role of NF- κ B signaling in the induction of senescence-associated secretory phenotype (SASP). *Cell Signal.* abril de 2012;24(4):835–45.
143. Vergès B. Clinical interest of PPARs ligands. *Diabetes Metab.* fevereiro de 2004;30(1):7–12.
144. Kersten S, Desvergne B, Wahli W. Roles of PPARs in health and disease. *Nature.* maio de 2000;405(6785):421–4.
145. Deng M, Dai W, Yu VZ, Tao L, Lung ML. Cyldromatosis Lysine 63 Deubiquitinase (CYLD) Regulates NF- κ B Signaling Pathway and Modulates Fibroblast and Endothelial Cells Recruitment in Nasopharyngeal Carcinoma. *Cancers (Basel).* julho de 2020;12(7).
146. Wright A, Reiley WW, Chang M, Jin W, Lee AJ, Zhang M, et al. Regulation of early wave of germ cell apoptosis and spermatogenesis by deubiquitinating enzyme CYLD. *Dev Cell.* novembro de 2007;13(5):705–16.
147. Trompouki E, Hatzivassiliou E, Tschritzis T, Farmer H, Ashworth A, Mosialos G. CYLD is a deubiquitinating enzyme that negatively regulates NF- κ B activation by TNFR family members. *Nature.* agosto de 2003;424(6950):793–6.
148. Brummelkamp TR, Nijman SMB, Dirac AMG, Bernards R. Loss of the cyldromatosis tumour suppressor inhibits apoptosis by activating NF- κ B. *Nature.* agosto de 2003;424(6950):797–801.
149. Munk R, Panda AC, Grammatikakis I, Gorospe M, Abdelmohsen K. Chapter Four - Senescence-Associated MicroRNAs. In: Galluzzi L, Vitale I, organizadores. *MiRNAs in Aging and Cancer.* Academic Press; 2017. p. 177–205. (International Review of Cell and Molecular Biology; vol. 334).
150. Sugimoto K, Ogawa A, Mizoguchi E, Shimomura Y, Andoh A, Bhan AK, et al. IL-22

- ameliorates intestinal inflammation in a mouse model of ulcerative colitis. *J Clin Invest.* fevereiro de 2008;118(2):534–44.
151. Bosco N, Noti M. The aging gut microbiome and its impact on host immunity. *Genes Immun.* 2021;
 152. Ragonnaud E, Biragyn A. Gut microbiota as the key controllers of “healthy” aging of elderly people. *Immun Ageing.* 2021;18(1):2.
 153. Dinan TG, Cryan JF. Gut microbiota: a missing link in psychiatry. *World Psychiatry.* fevereiro de 2020;19(1):111–2.
 154. Severance EG, Alaedini A, Yang S, Halling M, Gressitt KL, Stallings CR, et al. Gastrointestinal inflammation and associated immune activation in schizophrenia. *Schizophr Res.* junho de 2012;138(1):48–53.
 155. Shen Y, Xu J, Li Z, Huang Y, Yuan Y, Wang J, et al. Analysis of gut microbiota diversity and auxiliary diagnosis as a biomarker in patients with schizophrenia: A cross-sectional study. *Schizophr Res.* julho de 2018;197:470–7.
 156. Peng L, Li Z-R, Green RS, Holzman IR, Lin J. Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *J Nutr.* setembro de 2009;139(9):1619–25.
 157. Boengler K, Hilfiker-Kleiner D, Heusch G, Schulz R. Inhibition of permeability transition pore opening by mitochondrial STAT3 and its role in myocardial ischemia/reperfusion. *Basic Res Cardiol.* novembro de 2010;105(6):771–85.
 158. Qi Q-R, Yang Z-M. Regulation and function of signal transducer and activator of transcription 3. *World J Biol Chem.* maio de 2014;5(2):231–9.
 159. Wegrzyn J, Potla R, Chwae Y-J, Sepuri NB V, Zhang Q, Koeck T, et al. Function of mitochondrial Stat3 in cellular respiration. *Science.* fevereiro de 2009;323(5915):793–7.
 160. Dodson M, Darley-Usmar V, Zhang J. Cellular metabolic and autophagic pathways: traffic control by redox signaling. *Free Radic Biol Med.* outubro de 2013;63:207–21.
 161. Koga M, Serritella A V, Sawa A, Sedlak TW. Implications for reactive oxygen species in schizophrenia pathogenesis. *Schizophr Res.* setembro de 2016;176(1):52–71.
 162. Santos AL, Sinha S, Lindner AB. The Good, the Bad, and the Ugly of ROS: New Insights on Aging and Aging-Related Diseases from Eukaryotic and Prokaryotic Model Organisms. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:1941285.
 163. Cao Y, Wang J, Tian H, Fu G-H. Mitochondrial ROS accumulation inhibiting JAK2/STAT3 pathway is a critical modulator of CYT997-induced autophagy and apoptosis in gastric cancer. *J Exp Clin Cancer Res.* 2020;39(1):119.
 164. Kim C, Lee S-G, Yang WM, Arfuso F, Um J-Y, Kumar AP, et al. Formononetin-induced oxidative stress abrogates the activation of STAT3/5 signaling axis and suppresses the tumor growth in multiple myeloma preclinical model. *Cancer Lett.* setembro de 2018;431:123–41.

165. Liu B, Yu S. Amentoflavone suppresses hepatocellular carcinoma by repressing hexokinase 2 expression through inhibiting JAK2/STAT3 signaling. *Biomed Pharmacother.* novembro de 2018;107:243–53.
166. Okusaga OO. Accelerated aging in schizophrenia patients: the potential role of oxidative stress. *Aging Dis.* agosto de 2014;5(4):256–62.
167. Upthegrove R, Manzanares-Teson N, Barnes NM. Cytokine function in medication-naive first episode psychosis: A systematic review and meta-analysis. *Schizophr Res.* 2014;155(1–3):101–8.
168. Debnath M, Berk M. Th17 pathway-mediated immunopathogenesis of schizophrenia: mechanisms and implications. *Schizophr Bull.* novembro de 2014;40(6):1412–21.
169. Balasa R, Barcutean L, Balasa A, Motataianu A, Roman-Filip C, Manu D. The action of TH17 cells on blood brain barrier in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Hum Immunol.* maio de 2020;81(5):237–43.
170. Cipollini V, Anrather J, Orzi F, Iadecola C. Th17 and Cognitive Impairment: Possible Mechanisms of Action. *Front Neuroanat.* 2019;13:95.
171. Tserel L, Kolde R, Limbach M, Tretyakov K, Kasela S, Kisand K, et al. Age-related profiling of DNA methylation in CD8+ T cells reveals changes in immune response and transcriptional regulator genes. *Sci Rep.* agosto de 2015;5:13107.
172. Ucar D, Márquez EJ, Chung C-H, Marches R, Rossi RJ, Uyar A, et al. The chromatin accessibility signature of human immune aging stems from CD8(+) T cells. *J Exp Med.* outubro de 2017;214(10):3123–44.
173. Yi J, Luo J. SIRT1 and p53, effect on cancer, senescence and beyond. *Biochim Biophys Acta.* agosto de 2010;1804(8):1684–9.
174. Ong ALC, Ramasamy TS. Role of Sirtuin1-p53 regulatory axis in aging, cancer and cellular reprogramming. *Ageing Res Rev.* maio de 2018;43:64–80.
175. Luo J, Nikolaev AY, Imai S, Chen D, Su F, Shiloh A, et al. Negative control of p53 by Sir2alpha promotes cell survival under stress. *Cell.* outubro de 2001;107(2):137–48.
176. Zilfou JT, Lowe SW. Tumor suppressive functions of p53. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* novembro de 2009;1(5):a001883.
177. Tran HN, Singh HP, Guo W, Cambier L, Riggan L, Shackelford GM, et al. Reciprocal Induction of MDM2 and MYCN in Neural and Neuroendocrine Cancers. *Front Oncol.* 2020;10:563156.
178. Matijasevic Z, Krzywicka-Racka A, Sluder G, Jones SN. MdmX regulates transformation and chromosomal stability in p53-deficient cells. *Cell Cycle.* outubro de 2008;7(19):2967–73.
179. Grönroos E, Terentiev AA, Punga T, Ericsson J. YY1 inhibits the activation of the p53 tumor suppressor in response to genotoxic stress. *Proc Natl Acad Sci U S A.* agosto de 2004;101(33):12165–70.
180. Rowland BD, Bernards R, Peeper DS. The KLF4 tumour suppressor is a transcriptional

- repressor of p53 that acts as a context-dependent oncogene. *Nat Cell Biol.* novembro de 2005;7(11):1074–82.
181. Fischer M, Quaas M, Steiner L, Engeland K. The p53-p21-DREAM-CDE/CHR pathway regulates G2/M cell cycle genes. *Nucleic Acids Res.* janeiro de 2016;44(1):164–74.
 182. Xiao B-D, Zhao Y-J, Jia X-Y, Wu J, Wang Y-G, Huang F. Multifaceted p21 in carcinogenesis, stemness of tumor and tumor therapy. *World J Stem Cells.* junho de 2020;12(6):481–7.
 183. Jin X, Ding D, Yan Y, Li H, Wang B, Ma L, et al. Phosphorylated RB Promotes Cancer Immunity by Inhibiting NF- κ B Activation and PD-L1 Expression. *Mol Cell.* janeiro de 2019;73(1):22-35.e6.
 184. Sherr CJ, Roberts JM. Living with or without cyclins and cyclin-dependent kinases. *Genes Dev.* novembro de 2004;18(22):2699–711.
 185. Thwaites MJ, Cecchini MJ, Dick FA. Analyzing RB and E2F during the G1-S transition. *Methods Mol Biol.* 2014;1170:449–61.
 186. Aubrey BJ, Kelly GL, Janic A, Herold MJ, Strasser A. How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression? *Cell Death Differ.* janeiro de 2018;25(1):104–13.
 187. Zhang L-N, Li J-Y, Xu W. A review of the role of Puma, Noxa and Bim in the tumorigenesis, therapy and drug resistance of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Gene Ther.* janeiro de 2013;20(1):1–7.
 188. Ren D, Tu H-C, Kim H, Wang GX, Bean GR, Takeuchi O, et al. BID, BIM, and PUMA are essential for activation of the BAX- and BAK-dependent cell death program. *Science.* dezembro de 2010;330(6009):1390–3.
 189. Certo M, Del Gaizo Moore V, Nishino M, Wei G, Korsmeyer S, Armstrong SA, et al. Mitochondria primed by death signals determine cellular addiction to antiapoptotic BCL-2 family members. *Cancer Cell.* maio de 2006;9(5):351–65.
 190. Eleftheriadis T, Pissas G, Liakopoulos V, Stefanidis I. Cytochrome c as a Potentially Clinical Useful Marker of Mitochondrial and Cellular Damage. *Front Immunol.* 2016;7:279.
 191. Aydın H, Tekin YK, Erşan S, Yavuz H, Erşan EE. The apoptotic paradox in schizophrenia. *Cumhur Med J.* 2019;8(June):256–62.
 192. Jarskog LF, Gilmore JH, Selinger ES, Lieberman JA. Cortical bcl-2 protein expression and apoptotic regulation in schizophrenia. *Biol Psychiatry.* outubro de 2000;48(7):641–50.
 193. Beyazyüz M, Küfeciler T, Bulut L, Ünsal C, Albayrak Y, Akyol ES, et al. Increased serum levels of apoptosis in deficit syndrome schizophrenia patients: a preliminary study. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2016;12:1261–8.
 194. Tan VP, Miyamoto S. HK2/hexokinase-II integrates glycolysis and autophagy to confer cellular protection. *Autophagy.* 2015;11(6):963–4.

195. Green DR, Galluzzi L, Kroemer G. Mitochondria and the autophagy-inflammation-cell death axis in organismal aging. *Science*. agosto de 2011;333(6046):1109–12.
196. Chelombitko MA. Role of Reactive Oxygen Species in Inflammation: A Minireview. *Moscow Univ Biol Sci Bull*. 2018;73(4):199–202.
197. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018;13:757–72.
198. Salim S. Oxidative stress and psychological disorders. *Curr Neuropharmacol*. março de 2014;12(2):140–7.
199. Tobe EH. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and major depressive disorder. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2013;9:567–73.

ANEXO 1 - FUNÇÕES DAS MOLÉCULAS ENVOLVIDAS NAS VIAS BIOLÓGICAS DISCUTIDAS NA DISSERTAÇÃO

Notch (**A**) é um regulador transcricional expresso como um receptor de superfície celular ligado à membrana(1), o qual atua como um fator importante para o desenvolvimento de células T tímicas(2,3) e permanece sendo crucial após a liberação destas células na periferia(4). A via da Notch baseia-se na sinalização através de ligantes da família DLL e JAG, os quais induzem a clivagem intramembrana do receptor Notch (NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3 ou NOTCH4) e resultam na liberação de um fragmento intracelular ativo denominado domínio Notch Intracelular (NICD)(5). Sendo assim, NICD sofre um processo de clivagem por um complexo γ -secretase e se transloca para o núcleo onde pode recrutar a Proteína de Ligação de Sinal de Recombinação para a Região J de Imunoglobulina Kappa (RBP-J), Coativador Transcricional Mastermind (MAML1–3) e p300 para ativar a transcrição genes específicos através da ligação com o DNA(6).

O BDNF (**B**) é um dos principais fatores neurotróficos, o qual atua em eventos importantes para a sobrevivência, diferenciação e crescimento de células nervosas tanto durante o desenvolvimento quanto na vida adulta(7). O BDNF é inicialmente sintetizado no retículo plasmático como uma pré proteína precursora (pré-proBDNF) e após um processo de clivagem, torna-se proBDNF que é transportado através do complexo de Golgi para a rede trans Golgi (TGN), de onde passa para as vesículas secretoras. Enfim, proBDNF é convertido em BDNF por proteases intracelulares e extracelulares, e sua forma madura se liga aos receptores de tirosina cinase (Trk) ativando diferentes cascatas e suas respostas celulares correspondentes(8,9).

A consequência da ligação do receptor Trk com BDNF inclui a ativação de Ras que passa por uma fosforilação e recruta RAF, o qual ativa as proteínas cinases de especificidade dupla MEK1 e MEK2(10) responsáveis pela fosforilação de ERK1 e ERK2(11). As ERKs, quando ativadas, translocam-se para o núcleo onde podem fosforilar fatores de transcrição, regulando assim a expressão de genes específicos(12) que atuam em diversas funções como metabolismo, crescimento, síntese de proteínas e apoptose(13). Sendo assim, forma-se a via de sinalização Ras / Raf / MEK / ERK, a qual engloba a cascata MAPK cuja função baseia-se na conversão de moléculas extracelulares em sinais intracelulares para regular a proliferação, diferenciação e sobrevivência celular(11).

A IL-18 (C) é uma citocina pró-inflamatória que pertence à família de ligantes 1L-1(12). Além de estar envolvida na ativação e diferenciação de várias populações de células T, a IL-18 pode atuar tanto na regulação das respostas Th1 quanto em respostas do tipo Th2(14). Em humanos, a superprodução de IL-18 pode estar relacionada a uma resposta inflamatória exagerada(15), ou seja, o aumento da gravidade de uma doença pode estar associado igualmente ao aumento dessa interleucina(16). A sinalização da IL-18 ocorre através da ligação com a cadeia de seu receptor intracelular chamado Fator de Diferenciação Mieloide 88 (MyD88), o que leva a fosforilação das Cinases Associadas ao Receptor de Interleucina-1 (IRAKs) juntamente ao TRAF6 e conseqüentemente, a ativação do Complexo I κ B Cinase (IKK) α e β (17,18).

Juntamente ao TGF- β , TRAF6 também mostrou-se capaz de mediar a ativação de Fosfoinosítídeo 3-cinase (PI3K) (D)(19), a qual recruta Akt inativo do citosol para a membrana plasmática onde o mesmo torna-se ativo através de uma fosforilação dupla e então, fosforila mTOR e suas moléculas de sinalização(20). A mTOR é uma serina / treonina cinase conservada, a qual inclui o complexo mTOR 1 e o complexo mTOR 2, os quais funcionam como reguladores centrais do metabolismo celular(21). Evidências destacam um papel crítico da sinalização de mTOR tanto no sistema imunológico inato quanto no adaptativo(22) e que atuando em conjunto com PI3K / Proteína Cinase B (Akt), torna-se possível formar uma via que controla muitos processos celulares, incluindo crescimento, proliferação, metabolismo, apoptose e migração(23).

A via PI3K / Akt possui como alvo GSK-3, proteína codificada por GSK-3 α e GSK-3 β (24), a qual está envolvida em uma ampla gama de patologias como diabetes, alguns tipos de câncer, doenças inflamatórias, neurodegenerativas(25) e psiquiátricas(26,27). Entretanto, apesar da ativação de Akt trazer o aumento na fosforilação de GSK-3 β resultando em sua inativação(28), sabe-se que a sinalização PI3K / Akt / GSK-3 β desempenha um papel importante em outras vias associadas à neuroplasticidade e migração celular(29). Além disso, sua inibição também destacou-se como essencial para o fortalecimento da atividade de CREB(30), a qual também sofre fosforilação por ERK1/2 (E)(31), e atua como um regulador chave na plasticidade neuronal(30), redução de NF- κ B, indução da sobrevivência de macrófagos e promoção da regulação de linfócitos T e B(32).

A literatura traz indícios que CREB contribui para a regulação da proteína FMRP através de receptores metabotrópicos de glutamato(33). FMRP é codificada pelo gene FMR1(34), e sua perda está relacionada à Síndrome do X Frágil, causa geneticamente herdada mais comum de deficiência intelectual e muito relacionada ao autismo(35). Além disso, CREB

também promove a ativação do fator de transcrição MITF(36,37), que de acordo com a literatura relaciona-se ao melanoma através de sua isoforma M especificamente expressa na linhagem de melanócitos(38). Porém, outras isoformas deste fator de transcrição são expressas em diferentes tipos de celulares que podem promover diversos processos como proliferação, desdiferenciação, invasão, senescência, e, eventualmente, morte celular(39).

A diminuição da expressão de MITF juntamente ao aumento da secreção de IL-1 α e IL-1 β , podem desencadear a expressão do ligante PD-L1, molécula que contribui para a supressão da função de células T infiltrantes de tumor(40). PD-L1 relaciona-se com a proteína PD1, a qual é membro da família dos receptores CD28, e que ao interagir com seu ligante causa inibição das vias PI3K / Akt / mTOR e Ras / MAPK / Erk e conseqüentemente, leva à regulação negativa da glicólise, do metabolismo de aminoácidos e aumento da oxidação de ácidos graxos em células T(41). Além disso, a via de sinalização da PD1/PD-L1 também está relacionada à inflamação, estabelecimento da homeostase imunológica(42,43) e de uma maneira pouco explorada, com o processo de senescência(44).

Dentro de PI3K/ Akt / mTOR, AKT e mTOR (**F**) são capazes de promover a ativação do complexo IKK, um complexo enzimático que está envolvido na propagação da resposta celular à inflamação. A família IKK é composta por duas subunidades catalíticas (IKK- α , IKK- β) e uma subunidade regulatória NEMO ou IKK γ (45,46). IKK pode ser ativado por diferentes estímulos, incluindo citocinas, fatores de crescimento, mitógenos, componentes microbianos e agentes de estresse(47). Após sua ativação, IKK fosforila a molécula I κ B α em duas serinas N-terminais e, assim, desencadeia sua degradação que resulta na translocação nuclear de NF- κ B(48). NF- κ B representa uma família de fatores de transcrição que regulam uma grande variedade de genes envolvidos em diferentes processos de resposta imune e inflamatória(49). A família é composta por cinco membros: NF- κ B1 (também denominado p50), NF- κ B2 (também denominado p52) e as proteínas RelA (também denominado p65), RelB e c-Rel. O p50 e o p52 podem interagir com as proteínas para formar todas as combinações possíveis de homo e heterodímero. O dímero mais comum é o heterodímero RelA (p65) / NF- κ B1 (p50), o qual é translocado para o núcleo, resultando na expressão de genes alvo(50,51).

NF- κ B pode ser modulado por diferentes mecanismos, como por exemplo, Receptores Ativados por Proliferadores de Peroxissoma (PPARs) (**G**). PPARs atuam exercendo efeitos anti-inflamatórios que interferem na regulação transcricional das respostas inflamatórias(52). Até o momento, três subtipos de PPAR foram identificados: PPAR α , PPAR δ e PPAR γ (53). Além disso, PPARs modulam a sinalização de NF- κ B principalmente pela inibição da degradação de I κ B α , redução da translocação nuclear de RelA (p65), diminuição da ligação de

RelA ao DNA e conseqüentemente, a repressão da transcrição de citocinas pró-inflamatórias(54). Além de PPARs, o gene supressor de tumor **CYLD (H)** também atua como um regulador negativo na sinalização de NF- κ B através da desubiquitinação de seus fatores de sinalização, incluindo TRAF2, TRAF6, RIP1 e NEMO(55–57).

Além disso, NF- κ B também é antagonizado por moléculas reguladoras da atividade metabólica em resposta ao estresse celular, como as sirtuínas(58). As sirtuínas são uma família de histona desacetilases de classe III, que em mamíferos, possuem sete membros (SIRT1-SIRT7)(59) e entre eles, SIRT1 (**I**) é a mais estudada(60). A SIRT1 mantém uma relação é antagonica com NF- κ B, de modo que NF- κ B conduz um fenótipo pró-inflamatório com metabolismo glicolítico, enquanto SIRT1 suporta a respiração oxidativa e respostas anti-inflamatórias, aumentando a resolução da inflamação. No segundo caso, o efeito anti-inflamatório de SIRT1 atua através do mecanismo de desacetilação da subunidade RelA / p65 ou indiretamente por indução de complexos transcricionais repressivos(58).

SIRT1 (**J**) é responsável pela desacetilação do gene supressor tumoral p53(61), o qual funciona como um regulador chave do ciclo celular e conseqüentemente, está envolvido em processos como autofagia, apoptose, senescência e reparo do DNA(62). Evidências indicam que SIRT1 regula a localização subcelular de p53, impedindo a sua translocação nuclear. Isso, por sua vez, promove o acúmulo citosólico de p53 e sua passagem para as mitocôndrias(63). Além disso, SIRT1 também interage de maneira específica através da desacetilação de p53 diminuindo sua atividade transcricional e reduzindo a expressão de proteínas relacionadas, como p21 e o Modulador de Apoptose Regulado por p53 (PUMA)(64).

Normalmente, p53 é mantida em um nível baixo através da ubiquitinação mediada por MDM2(63), um regulador negativo que participa de sua degradação e que de acordo com a literatura atua em conjunto com moléculas como a oncoproteína MYCN(65) e a sua homóloga MDM4 (ou MDMX)(66). Além disso, o fator de transcrição YY1 também interage com MDM2 provendo o complexo p53/ MDM2 e conseqüentemente, o aumento da ubiquitinação de p53 (**K**)(67). MDM2 também possui efeito agonístico de NF- κ B durante a inflamação, onde liga-se a sinalização NF- κ B/ p53, promovendo NF- κ B e bloqueando p53 (**L**). Sendo assim, age como um regulador de p53, bem como de sinalização de NF- κ B dependendo do contexto, podendo influenciar tanto como uma ferramenta pró-inflamatória e pró-mitogênica quanto anti-inflamatória e pró-apoptótica(68).

A p53 também é uma molécula importante no ciclo celular(62), onde pode atuar indiretamente nas transições de G1 para S e G2 para mitose, fases que são reguladas pela ativação e inativação da família de CDKs (**M**)(69). As ciclinas Ds (D1, D2 e D3) são as

primeiras ciclinas que detectam os sinais mitogênicos e, conseqüentemente, ativam CDK4/6 durante a fase G1. Da mesma forma, a ativação de CDK2 pela ciclina E (E1 e E2) pode levar à transição G1 / S(70). A fase G1 também conta com a presença da proteína RB do Retinoblastoma, um supressor de tumor que regula uma série de atividades celulares cruciais, incluindo resposta a danos no DNA, ativação de checkpoint e diferenciação. Sendo assim, RB age através de sua hiperfosforilação pelo complexo Cyclin D e CDK4/6 resultando na liberação de fatores E2F, o que estimula genes envolvidos na indução da entrada na fase S (**N**)(71,72). Durante essa fase, a degradação e substituição das proteínas ciclina E pela ciclina A leva à transição para mitose e, finalmente, na fase G2 o nível de ciclina B aumenta e no final da fase M diminui, ativando CDK1 que desencadeia o fim do ciclo(70).

Ao longo desse processo, a presença de danos ao DNA resulta na ativação da Proteína Relacionada à Rad3 (ATR), uma cinase de sinalização responsável pela fosforilação e ativação do ponto de verificação Checkpoint Cinase 1 (CHK1). Sendo assim, a sinalização de ATR e CHK1 busca minimizar o estresse genotóxico através da degradação da fosfatase CDC25A, impedindo a transição S / G2 prematura através da desfosforilação e ativação da cinase CDK2 (**O**)(73). O dano ao DNA também promove a atividade da G2 Checkpoint Cinase (WEE1), a qual é regulada positivamente para promover a parada do ciclo celular no ponto de verificação intra-S ou G2 / M (**P**)(74,75). Portanto, WEE1 regula a atividade de ambas as cinases CDK1 e CDK2 promovendo o reparo do material genético antes da entrada na mitose, o que permite que as células evitem a apoptose induzida ou a propagação de mutações para células-filhas(76).

O ciclo celular pode ser regulado através da ativação e supressão de genes pelo fator de transcrição KLF4(77). Após o dano ao DNA, KLF4 estimula o inibidor de CDKs denominado p21 (**Q**)(78), o qual também atua em múltiplas funções celulares, incluindo a progressão G1 / S, crescimento celular, dano ao material genético e *stemness*(79). Curiosamente, a capacidade de p53 para ativar o promotor p21 é dependente de KLF4 e, portanto, as duas proteínas atuam de maneira associada para regular a expressão de p21(80).

Na mitocôndria, p53 demonstra regular a expressão da família BCL-2 (**R**)(81), a qual tem como membros BAD, BAX, PUMA, NOXA e BID que possuem características pró-apoptóticas, mas também BCL-2, MC-L1 e BCL-XL que ao contrário dos anteriores, possuem características anti-apoptóticas. Sabe-se que o equilíbrio entre as proteínas pró e anti-apoptóticas determina a sensibilidade das células aos estímulos de morte celular(82). Sendo assim, na presença desses estímulos juntamente com o aumento de p53, ocorre uma ativação de proteínas pró-apoptóticas (BAD, BAX, PUMA, NOXA ou BID), as quais além de induzir uma maior suscetibilidade à apoptose, também são capazes de ligar-se a proteínas anti-apoptóticas

(BCL-2, BCL-XL e MCL-1) e inibir sua atividade(83,84). Alguns ativadores diretos de apoptose como BID e BIM também se ligam e ativam os efetores BAK e BAX(85), que consequentemente causam MOMP. Sendo assim, MOMP acarreta na liberação de citocromo c e outros fatores que formam um complexo proteico (apoptossomo), o qual ativa a cascata de cisteína proteases específicas do aspartato (caspases) e resulta em apoptose(83,86). Além disso, MOMP apresenta um papel associado à perda progressiva da função mitocondrial(87), sendo relacionado aos níveis elevados de ROS, diminuição do potencial de membrana mitocondrial e danificação do DNA(88).

A produção aumentada de ROS pode representar uma ameaça às células(89). Portanto, umas das estratégias que as mitocôndrias utilizam para não elevar o nível de estresse oxidativo é o mecanismo de mitofagia(90). A mitofagia é um processo pelo qual as mitocôndrias danificadas são removidas seletivamente da célula(90) e caso haja uma falha nesse sistema, ocasionando o acúmulo de mitocôndrias danificadas, pode-se ter como consequência um aumento de ROS e indução de morte celular(91). Sendo assim, a literatura já observou proteínas que auxiliam nessa questão, como Proteína 3 de Interação BCL2 (BNIP3) / BNIP3L(92) e até HKs(93).

A HKs são moléculas que catalisam a primeira etapa no metabolismo da glicose. Portanto, catalisam a fosforilação da glicose em glicose-6-fosfato (G6P), promovendo e mantendo um gradiente de concentração que facilita a entrada da glicose nas células. Porém, HKs também apresentam-se relacionadas ao estímulo da autofagia(94), onde ao detectar a depleção de glicose, ligam-se a mTORC1 inibindo-o e consequentemente, aumentam o processo de degradação de componentes celulares(93).

Além disso, as mitocôndrias contam com a presença de STAT3, o qual possui um impacto na inibição da abertura do poro causado pela MOMP(95) e liga-se aos complexos da cadeia respiratória mantendo a integridade mitocondrial(96). Entretanto, STAT3 é comumente relacionado a via de sinalização JAK / STAT (**S**), que representa uma cadeia de interações entre proteínas que após ativadas, dimerizam STAT3 para que o mesmo seja capaz de translocar-se para o núcleo onde pode modular a expressão de genes envolvidos em processos como imunidade, divisão celular e formação tumoral(97). Curiosamente, STAT3 também age na proteção intestinal juntamente com a secreção de IL-22, influenciando na homeostase das células epiteliais, cicatrização de feridas da mucosa e a produção de muco(98–100).

A via de sinalização dependente de β -catenina (**T**) é desencadeada pela ligação da Wnt a Proteínas Relacionadas ao Receptor de Lipoproteína de Baixa Densidade (LRP)-5/6 e Frizzled (FZD), o que induz Disheveled (DVL), causando a agregação do complexo AXIN, GSK3 β ,

Caseína Cinase 1 (CK1) e a Supressora de Tumor de Polipose Adenomatosa Coli (APC) ao receptor(101). Posteriormente, a fosforilação e inibição de GSK3 β asseguram uma elevação da concentração de β -catenina citosólica, a qual migra para o núcleo e se acumula, interagindo com o Fator de Células T (TCF) / Fator de Ligação Potencializador Linfóide (LEF) e coativadores, como a Proteína CLL / Linfoma de Células B 9 (BCL9) (U)(102). Sendo assim, BCL9 age no aumento da atividade transcricional mediada por β -catenina e consequentemente, gera uma maior proliferação celular, migração, invasão e o potencial metastático das células tumorais(103). Além disso, a sinalização Wnt também conta com o gene de Cutícula Nua 1 (NKD1) como um alvo obrigatório durante o desenvolvimento dos vertebrados(104,105), o qual possui a função de interagir com DVL e atuar como um regulador negativo da via Wnt / β -catenina(106).

A família TCF/LEF (TCF1/TCF7, LEF1, TCF3/TCF7L1 e TCF4/TCF7L2), demonstra regular a expressão de genes específicos como c-myc, fator de transcrição relacionado ao Fator de Transcrição 2 Relacionado à Execução (RUNX2) e o Osterix (OSX)(107,108). Dentre eles, RUNX2 é conhecido como um fator de transcrição chave na osteogênese, sendo necessário para a maturação dos condrócitos e diferenciação dos osteoblastos durante o desenvolvimento do esqueleto(109,110). Já TCF7, gene codificador da proteína TCF1, atua como um efetor da sinalização Wnt/ β -catenina(111) e sendo assim, sua sinalização em conjunto é relatada como uma via importante na regulação do desenvolvimento, diferenciação e sobrevivência de células T(112). Curiosamente, TCF7 também é um dos genes alvo de Notch a ser regulado positivamente durante o desenvolvimento inicial de células T(113), atuando durante os estágios de diferenciação como a transição de Duplo Negativo (DN) para Duplo Positivo (DP), Seleção Positiva e Seleção Negativa (SP)(114).

REFERÊNCIAS

1. Steinbuck MP, Winandy S. A Review of Notch Processing With New Insights Into Ligand-Independent Notch Signaling in T-Cells. *Front Immunol.* 2018;9:1230.
2. Allman D, Punt JA, Izon DJ, Aster JC, Pear WS. An invitation to T and more: notch signaling in lymphopoiesis. *Cell.* abril de 2002;109 Suppl:S1-11.
3. Radtke F, Wilson A, Ernst B, MacDonald HR. The role of Notch signaling during hematopoietic lineage commitment. *Immunol Rev.* setembro de 2002;187:65–74.
4. Amsen D, Helbig C, Backer RA. Notch in T Cell Differentiation: All Things Considered. *Trends Immunol.* dezembro de 2015;36(12):802–14.

5. Andersson ER, Sandberg R, Lendahl U. Notch signaling: simplicity in design, versatility in function. *Development*. setembro de 2011;138(17):3593–612.
6. Tindemans I, Peeters MJW, Hendriks RW. Notch Signaling in T Helper Cell Subsets: Instructor or Unbiased Amplifier? *Front Immunol*. 2017;8:419.
7. Huang EJ, Reichardt LF. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci*. 2001;24:677–736.
8. Cunha C, Brambilla R, Thomas KL. A simple role for BDNF in learning and memory? *Front Mol Neurosci*. 2010;3:1.
9. Lu B. Pro-region of neurotrophins: role in synaptic modulation. *Neuron*. agosto de 2003;39(5):735–8.
10. Yoon S, Seger R. The extracellular signal-regulated kinase: multiple substrates regulate diverse cellular functions. *Growth Factors*. março de 2006;24(1):21–44.
11. Yang S, Liu G. Targeting the Ras/Raf/MEK/ERK pathway in hepatocellular carcinoma. *Oncol Lett*. março de 2017;13(3):1041–7.
12. Dinarello CA, Novick D, Kim S, Kaplanski G. Interleukin-18 and IL-18 binding protein. *Front Immunol*. outubro de 2013;4:289.
13. Hemmings BA, Restuccia DF. PI3K-PKB/Akt pathway. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. setembro de 2012;4(9):a011189.
14. Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, Okamura H. Interleukin-18 regulates both Th1 and Th2 responses. *Annu Rev Immunol*. 2001;19:423–74.
15. Hirooka Y, Nozaki Y. Interleukin-18 in Inflammatory Kidney Disease. *Front Med*. 2021;8:639103.
16. Satış H, Özger HS, Aysert Yıldız P, Hızıl K, Gulbahar Ö, Erbaş G, et al. Prognostic value of interleukin-18 and its association with other inflammatory markers and disease severity in COVID-19. *Cytokine*. janeiro de 2021;137:155302.
17. Rex DAB, Agarwal N, Prasad TSK, Kandasamy RK, Subbannayya Y, Pinto SM. A comprehensive pathway map of IL-18-mediated signalling. *J Cell Commun Signal*. junho de 2020;14(2):257–66.
18. Walsh MC, Lee J, Choi Y. Tumor necrosis factor receptor- associated factor 6 (TRAF6) regulation of development, function, and homeostasis of the immune system. *Immunol Rev*. julho de 2015;266(1):72–92.
19. Hamidi A, Song J, Thakur N, Itoh S, Marcusson A, Bergh A, et al. TGF- β promotes PI3K-AKT signaling and prostate cancer cell migration through the TRAF6-mediated ubiquitylation of p85 α . *Sci Signal*. julho de 2017;10(486).

20. Mitra A, Raychaudhuri SK, Raychaudhuri SP. IL-22 induced cell proliferation is regulated by PI3K/Akt/mTOR signaling cascade. *Cytokine*. outubro de 2012;60(1):38–42.
21. Zoncu R, Efeyan A, Sabatini DM. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol*. janeiro de 2011;12(1):21–35.
22. Weichhart T, Hengstschläger M, Linke M. Regulation of innate immune cell function by mTOR. *Nat Rev Immunol*. outubro de 2015;15(10):599–614.
23. Xu F, Na L, Li Y, Chen L. Roles of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours. *Cell Biosci*. 2020;10:54.
24. Hermida MA, Dinesh Kumar J, Leslie NR. GSK3 and its interactions with the PI3K/AKT/mTOR signalling network. *Adv Biol Regul*. agosto de 2017;65:5–15.
25. Maqbool M, Hoda N. GSK3 Inhibitors in the Therapeutic Development of Diabetes, Cancer and Neurodegeneration: Past, Present and Future. *Curr Pharm Des*. novembro de 2017;23(29):4332–50.
26. Kitagishi Y, Kobayashi M, Kikuta K, Matsuda S. Roles of PI3K/AKT/GSK3/mTOR Pathway in Cell Signaling of Mental Illnesses. *Depress Res Treat*. 2012;2012:752563.
27. Weng Y-T, Chien T, Kuan I-I, Chern Y. The TRAX, DISC1, and GSK3 complex in mental disorders and therapeutic interventions. *J Biomed Sci*. 2018;25(1):71.
28. Matsuda S, Ikeda Y, Murakami M, Nakagawa Y, Tsuji A, Kitagishi Y. Roles of PI3K/AKT/GSK3 Pathway Involved in Psychiatric Illnesses. *Dis (Basel, Switzerland)*. fevereiro de 2019;7(1).
29. Jope RS, Yuskaitis CJ, Beurel E. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): inflammation, diseases, and therapeutics. *Neurochem Res*. 2007;32(4–5):577–95.
30. Qiao J, Rong L, Wang Z, Zhang M. Involvement of Akt/GSK3 β /CREB signaling pathway on chronic omethoate induced depressive-like behavior and improvement effects of combined lithium chloride and astaxanthin treatment. *Neurosci Lett*. maio de 2017;649:55–61.
31. Li J, Li X, Bi H, Li B. The MEK/ERK/CREB signaling pathway is involved in atrazine induced hippocampal neurotoxicity in Sprague Dawley rats. *Ecotoxicol Environ Saf*. abril de 2019;170:673–81.
32. Wen AY, Sakamoto KM, Miller LS. The role of the transcription factor CREB in immune function. *J Immunol*. dezembro de 2010;185(11):6413–9.
33. Wang H, Morishita Y, Miura D, Naranjo JR, Kida S, Zhuo M. Roles of CREB in the regulation of FMRP by group I metabotropic glutamate receptors in cingulate cortex. *Mol Brain*. agosto de 2012;5:27.

34. Santoro MR, Bray SM, Warren ST. Molecular mechanisms of fragile X syndrome: a twenty-year perspective. *Annu Rev Pathol.* 2012;7:219–45.
35. Kaufmann WE, Kidd SA, Andrews HF, Budimirovic DB, Esler A, Haas-Givler B, et al. Autism Spectrum Disorder in Fragile X Syndrome: Cooccurring Conditions and Current Treatment. *Pediatrics.* junho de 2017;139(Suppl 3):S194–206.
36. Kim Y-M, Cho S-E, Seo Y-K. The activation of melanogenesis by p-CREB and MITF signaling with extremely low-frequency electromagnetic fields on B16F10 melanoma. *Life Sci.* outubro de 2016;162:25–32.
37. Kim J-H, Hong A-R, Kim Y-H, Yoo H, Kang S-W, Chang SE, et al. JNK suppresses melanogenesis by interfering with CREB-regulated transcription coactivator 3-dependent MITF expression. *Theranostics.* 2020;10(9):4017–29.
38. Hartman ML, Czyz M. MITF in melanoma: mechanisms behind its expression and activity. *Cell Mol Life Sci.* abril de 2015;72(7):1249–60.
39. Goding CR, Arnheiter H. MITF-the first 25 years. *Genes Dev.* agosto de 2019;33(15–16):983–1007.
40. Khalili JS, Liu S, Rodríguez-Cruz TG, Whittington M, Wardell S, Liu C, et al. Oncogenic BRAF(V600E) promotes stromal cell-mediated immunosuppression via induction of interleukin-1 in melanoma. *Clin cancer Res an Off J Am Assoc Cancer Res.* outubro de 2012;18(19):5329–40.
41. Bardhan K, Anagnostou T, Boussiotis VA. The PD1: PD-L1/2 pathway from discovery to clinical implementation. *Front Immunol.* 2016;7(DEC).
42. Canavan M, Floudas A, Veale DJ, Fearon U. The PD-1:PD-L1 axis in Inflammatory Arthritis. *BMC Rheumatol.* janeiro de 2021;5(1):1.
43. McDermott DF, Atkins MB. PD-1 as a potential target in cancer therapy. *Cancer Med.* outubro de 2013;2(5):662–73.
44. Lages CS, Lewkowich I, Sproles A, Wills-Karp M, Chougnet C. Partial restoration of T-cell function in aged mice by in vitro blockade of the PD-1/PD-L1 pathway. *Aging Cell.* outubro de 2010;9(5):785–98.
45. Senegas A, Gautheron J, Maurin AGD, Courtois G. IKK-related genetic diseases: probing NF- κ B functions in humans and other matters. *Cell Mol Life Sci.* abril de 2015;72(7):1275–87.
46. Dan HC, Cooper MJ, Cogswell PC, Duncan JA, Ting JP-Y, Baldwin AS. Akt-dependent regulation of NF- κ B is controlled by mTOR and Raptor in association with IKK. *Genes Dev.* junho de 2008;22(11):1490–500.
47. Israël A. The IKK complex, a central regulator of NF- κ B activation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* março de 2010;2(3):a000158.

48. Beinke S, Ley SC. Functions of NF-kappaB1 and NF-kappaB2 in immune cell biology. *Biochem J.* setembro de 2004;382(Pt 2):393–409.
49. Oeckinghaus A, Ghosh S. The NF-kappaB family of transcription factors and its regulation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* outubro de 2009;1(4):a000034.
50. Taniguchi K, Karin M. NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nat Rev Immunol.* maio de 2018;18(5):309–24.
51. Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol.* 1998;16:225–60.
52. Remels AH V, Langen RCJ, Gosker HR, Russell AP, Spaapen F, Voncken JW, et al. PPAR γ inhibits NF- κ B-dependent transcriptional activation in skeletal muscle. *Am J Physiol Metab.* 2009;297(1):E174–83.
53. Stienstra R, Duval C, Müller M, Kersten S. PPARs, Obesity, and Inflammation. *PPAR Res.* 2007;2007:95974.
54. Youssef J, Badr M. Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors in Inflammation Control. *J Biomed Biotechnol.* 2004;2004(3):156–66.
55. Brummelkamp TR, Nijman SMB, Dirac AMG, Bernards R. Loss of the cylindromatosis tumour suppressor inhibits apoptosis by activating NF-kappaB. *Nature.* agosto de 2003;424(6950):797–801.
56. Trompouki E, Hatzivassiliou E, Tschirritzis T, Farmer H, Ashworth A, Mosialos G. CYLD is a deubiquitinating enzyme that negatively regulates NF-kappaB activation by TNFR family members. *Nature.* agosto de 2003;424(6950):793–6.
57. Deng M, Dai W, Yu VZ, Tao L, Lung ML. Cylindromatosis Lysine 63 Deubiquitinase (CYLD) Regulates NF- κ B Signaling Pathway and Modulates Fibroblast and Endothelial Cells Recruitment in Nasopharyngeal Carcinoma. *Cancers (Basel).* julho de 2020;12(7).
58. Kauppinen A, Suuronen T, Ojala J, Kaarniranta K, Salminen A. Antagonistic crosstalk between NF- κ B and SIRT1 in the regulation of inflammation and metabolic disorders. *Cell Signal.* outubro de 2013;25(10):1939–48.
59. Frye RA. Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic Sir2-like proteins. *Biochem Biophys Res Commun.* julho de 2000;273(2):793–8.
60. de Gregorio E, Colell A, Morales A, Marí M. Relevance of SIRT1-NF- κ B Axis as Therapeutic Target to Ameliorate Inflammation in Liver Disease. *Int J Mol Sci.* maio de 2020;21(11).
61. Lee JT, Gu W. SIRT1: Regulator of p53 Deacetylation. *Genes Cancer.* março de 2013;4(3–4):112–7.

62. Zilfou JT, Lowe SW. Tumor suppressive functions of p53. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* novembro de 2009;1(5):a001883.
63. Yi J, Luo J. SIRT1 and p53, effect on cancer, senescence and beyond. *Biochim Biophys Acta.* agosto de 2010;1804(8):1684–9.
64. Ong ALC, Ramasamy TS. Role of Sirtuin1-p53 regulatory axis in aging, cancer and cellular reprogramming. *Ageing Res Rev.* maio de 2018;43:64–80.
65. Tran HN, Singh HP, Guo W, Cambier L, Riggan L, Shackelford GM, et al. Reciprocal Induction of MDM2 and MYCN in Neural and Neuroendocrine Cancers. *Front Oncol.* 2020;10:563156.
66. Matijasevic Z, Krzywicka-Racka A, Sluder G, Jones SN. MdmX regulates transformation and chromosomal stability in p53-deficient cells. *Cell Cycle.* outubro de 2008;7(19):2967–73.
67. Grönroos E, Terentiev AA, Punga T, Ericsson J. YY1 inhibits the activation of the p53 tumor suppressor in response to genotoxic stress. *Proc Natl Acad Sci U S A.* agosto de 2004;101(33):12165–70.
68. Thomasova D, Mulay SR, Bruns H, Anders H-J. p53-independent roles of MDM2 in NF- κ B signaling: implications for cancer therapy, wound healing, and autoimmune diseases. *Neoplasia.* dezembro de 2012;14(12):1097–101.
69. Karimian A, Ahmadi Y, Yousefi B. Multiple functions of p21 in cell cycle, apoptosis and transcriptional regulation after DNA damage. *DNA Repair (Amst).* junho de 2016;42:63–71.
70. Hydbring P, Malumbres M, Sicinski P. Non-canonical functions of cell cycle cyclins and cyclin-dependent kinases. *Nat Rev Mol Cell Biol.* maio de 2016;17(5):280–92.
71. Sherr CJ, McCormick F. The RB and p53 pathways in cancer. *Cancer Cell.* agosto de 2002;2(2):103–12.
72. Thwaites MJ, Cecchini MJ, Dick FA. Analyzing RB and E2F during the G1-S transition. *Methods Mol Biol.* 2014;1170:449–61.
73. Sørensen CS, Syljuåsen RG, Falck J, Schroeder T, Rönstrand L, Khanna KK, et al. Chk1 regulates the S phase checkpoint by coupling the physiological turnover and ionizing radiation-induced accelerated proteolysis of Cdc25A. *Cancer Cell.* março de 2003;3(3):247–58.
74. Perry JA, Kornbluth S. Cdc25 and Wee1: analogous opposites? *Cell Div.* maio de 2007;2:12.
75. Matheson CJ, Backos DS, Reigan P. Targeting WEE1 Kinase in Cancer. *Trends Pharmacol Sci.* outubro de 2016;37(10):872–81.

76. Garcia TB, Fosmire SP, Porter CC. Increased activity of both CDK1 and CDK2 is necessary for the combinatorial activity of WEE1 inhibition and cytarabine. *Leuk Res.* janeiro de 2018;64:30–3.
77. Rowland BD, Bernards R, Peeper DS. The KLF4 tumour suppressor is a transcriptional repressor of p53 that acts as a context-dependent oncogene. *Nat Cell Biol.* novembro de 2005;7(11):1074–82.
78. Zhang W, Geiman DE, Shields JM, Dang DT, Mahatan CS, Kaestner KH, et al. The gut-enriched Kruppel-like factor (Kruppel-like factor 4) mediates the transactivating effect of p53 on the p21WAF1/Cip1 promoter. *J Biol Chem.* junho de 2000;275(24):18391–8.
79. Xiao B-D, Zhao Y-J, Jia X-Y, Wu J, Wang Y-G, Huang F. Multifaceted p21 in carcinogenesis, stemness of tumor and tumor therapy. *World J Stem Cells.* junho de 2020;12(6):481–7.
80. Fischer M, Quaas M, Steiner L, Engeland K. The p53-p21-DREAM-CDE/CHR pathway regulates G2/M cell cycle genes. *Nucleic Acids Res.* janeiro de 2016;44(1):164–74.
81. Chipuk JE, Kuwana T, Bouchier-Hayes L, Droin NM, Newmeyer DD, Schuler M, et al. Direct activation of Bax by p53 mediates mitochondrial membrane permeabilization and apoptosis. *Science.* fevereiro de 2004;303(5660):1010–4.
82. Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science.* agosto de 1998;281(5381):1322–6.
83. Aubrey BJ, Kelly GL, Janic A, Herold MJ, Strasser A. How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression? *Cell Death Differ.* janeiro de 2018;25(1):104–13.
84. Zhang L-N, Li J-Y, Xu W. A review of the role of Puma, Noxa and Bim in the tumorigenesis, therapy and drug resistance of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Gene Ther.* janeiro de 2013;20(1):1–7.
85. Ren D, Tu H-C, Kim H, Wang GX, Bean GR, Takeuchi O, et al. BID, BIM, and PUMA are essential for activation of the BAX- and BAK-dependent cell death program. *Science.* dezembro de 2010;330(6009):1390–3.
86. Certo M, Del Gaizo Moore V, Nishino M, Wei G, Korsmeyer S, Armstrong SA, et al. Mitochondria primed by death signals determine cellular addiction to antiapoptotic BCL-2 family members. *Cancer Cell.* maio de 2006;9(5):351–65.
87. Kushnareva Y, Andreyev AY, Kuwana T, Newmeyer DD. Bax activation initiates the assembly of a multimeric catalyst that facilitates Bax pore formation in mitochondrial outer membranes. *PLoS Biol.* 2012;10(9):e1001394.
88. Treulen F, Uribe P, Boguen R, Villegas J V. Mitochondrial outer membrane permeabilization increases reactive oxygen species production and decreases mean sperm

velocity but is not associated with DNA fragmentation in human sperm. *Mol Hum Reprod.* fevereiro de 2016;22(2):83–92.

89. Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. Polle A, organizador. *J Bot.* 2012;2012:217037.

90. Esteban-Martínez L, Boya P. BNIP3L/NIX-dependent mitophagy regulates cell differentiation via metabolic reprogramming. *Autophagy.* 2018;14(5):915–7.

91. Green DR, Galluzzi L, Kroemer G. Mitochondria and the autophagy-inflammation-cell death axis in organismal aging. *Science.* agosto de 2011;333(6046):1109–12.

92. O’Sullivan TE, Johnson LR, Kang HH, Sun JC. BNIP3- and BNIP3L-Mediated Mitophagy Promotes the Generation of Natural Killer Cell Memory. *Immunity.* agosto de 2015;43(2):331–42.

93. Tan VP, Miyamoto S. HK2/hexokinase-II integrates glycolysis and autophagy to confer cellular protection. *Autophagy.* 2015;11(6):963–4.

94. Robey RB, Hay N. Mitochondrial hexokinases, novel mediators of the antiapoptotic effects of growth factors and Akt. *Oncogene.* agosto de 2006;25(34):4683–96.

95. Boengler K, Hilfiker-Kleiner D, Heusch G, Schulz R. Inhibition of permeability transition pore opening by mitochondrial STAT3 and its role in myocardial ischemia/reperfusion. *Basic Res Cardiol.* novembro de 2010;105(6):771–85.

96. Qi Q-R, Yang Z-M. Regulation and function of signal transducer and activator of transcription 3. *World J Biol Chem.* maio de 2014;5(2):231–9.

97. Johnson DE, O’Keefe RA, Grandis JR. Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* abril de 2018;15(4):234–48.

98. Takatori H, Kanno Y, Watford WT, Tato CM, Weiss G, Ivanov II, et al. Lymphoid tissue inducer-like cells are an innate source of IL-17 and IL-22. *J Exp Med.* janeiro de 2009;206(1):35–41.

99. Sugimoto K, Ogawa A, Mizoguchi E, Shimomura Y, Andoh A, Bhan AK, et al. IL-22 ameliorates intestinal inflammation in a mouse model of ulcerative colitis. *J Clin Invest.* fevereiro de 2008;118(2):534–44.

100. Pickert G, Neufert C, Leppkes M, Zheng Y, Wittkopf N, Warntjen M, et al. STAT3 links IL-22 signaling in intestinal epithelial cells to mucosal wound healing. *J Exp Med.* julho de 2009;206(7):1465–72.

101. MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell.* julho de 2009;17(1):9–26.

102. Zhang Y, Wang X. Targeting the Wnt/ β -catenin signaling pathway in cancer. *J Hematol Oncol*. dezembro de 2020;13(1):165.
103. Mani M, Carrasco DE, Zhang Y, Takada K, Gatt ME, Dutta-Simmons J, et al. BCL9 promotes tumor progression by conferring enhanced proliferative, metastatic, and angiogenic properties to cancer cells. *Cancer Res*. outubro de 2009;69(19):7577–86.
104. Angonin D, Van Raay TJ. Nkd1 functions as a passive antagonist of Wnt signaling. *PLoS One*. 2013;8(8):e74666.
105. Van Raay TJ, Coffey RJ, Solnica-Krezel L. Zebrafish Naked1 and Naked2 antagonize both canonical and non-canonical Wnt signaling. *Dev Biol*. setembro de 2007;309(2):151–68.
106. Katoh M. Molecular cloning, gene structure, and expression analyses of NKD1 and NKD2. *Int J Oncol*. novembro de 2001;19(5):963–9.
107. Li Z, Xu Z, Duan C, Liu W, Sun J, Han B. Role of TCF/LEF Transcription Factors in Bone Development and Osteogenesis. *Int J Med Sci*. 2018;15(12):1415–22.
108. Waterman ML. Lymphoid enhancer factor/T cell factor expression in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2004;23(1–2):41–52.
109. Zhang M, Grote C, Wang J. Chapter 9 - Epigenetic mechanisms underlying the pathogenesis of osteoarthritis and their clinical relevance. In: Sharma S, organizador. *Prognostic Epigenetics*. Academic Press; 2019. p. 245–68. (Translational Epigenetics; vol. 15).
110. Yoshida CA, Furuichi T, Fujita T, Fukuyama R, Kanatani N, Kobayashi S, et al. Core-binding factor beta interacts with Runx2 and is required for skeletal development. *Nat Genet*. dezembro de 2002;32(4):633–8.
111. Arce L, Yokoyama NN, Waterman ML. Diversity of LEF/TCF action in development and disease. *Oncogene*. dezembro de 2006;25(57):7492–504.
112. Ma J, Wang R, Fang X, Sun Z. β -catenin/TCF-1 pathway in T cell development and differentiation. *J neuroimmune Pharmacol Off J Soc NeuroImmune Pharmacol*. dezembro de 2012;7(4):750–62.
113. Weber BN, Chi AW-S, Chavez A, Yashiro-Ohtani Y, Yang Q, Shestova O, et al. A critical role for TCF-1 in T-lineage specification and differentiation. *Nature*. agosto de 2011;476(7358):63–8.
114. Zhu Y, Wang W, Wang X. Roles of transcriptional factor 7 in production of inflammatory factors for lung diseases. *J Transl Med*. 2015;13(1):273.