



UNIVERSIDAD DE GRANADA

**Facultad de Medicina
Departamento de Psiquiatría**

Identificación de marcadores de estrés oxidativo en la depresión y el trastorno bipolar: estudio de metaanálisis

Tesis Doctoral

Sara Jiménez Fernández

Granada, 2017

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autora: Sara Jiménez Fernández
ISBN: 978-84-9163-638-0
URI: <http://hdl.handle.net/10481/48645>

Identificación de marcadores de estrés oxidativo en la depresión y el trastorno bipolar: estudio de metaanálisis

**Memoria para optar al grado de Doctor
en el programa de Medicina Clínica y Salud Pública
presentada por**

Sara Jiménez Fernández

Licenciada en Medicina, Especialista en Psiquiatría
Facultad de Medicina

Dirigida por

Dr. Manuel Gurpegui Fernández de Legaria

Catedrático de Psiquiatría
Unicrsidad de Granada

Dr. Christoph U. Correl

Professor of Psychiatry and Molecular Medicine
Hofstra Northwell School of Medicine
Hempstead, New York, USA

Investigator, Center for Psychiatric Neuroscience
Feinstein Institute for Medical Research
Manhasset, New York, USA

Medical Director, Recognition and Prevention (RAP) Program
The Zucker Hillside Hospital, Department of Psychiatry
Glen Oaks, New York, USA



UNIVERSIDAD
DE GRANADA

D. Manuel Gurpegui Fernández de Legaria, Catedrático de Psiquiatría de la
Universidad de Granada,

CERTIFICA:

que Dña. Sara Jiménez Fernández, Licenciada en Medicina, ha
realizado bajo mi dirección el presente trabajo, titulado
*“Identificación de marcadores de estrés oxidativo en la depresión y el
trastorno bipolar: estudio de metaanálisis”*, que constituye la
memoria para optar al Grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Revisado dicho trabajo, quedo conforme para su presentación para
ser juzgado por el Tribunal correspondiente.

Granada, a 22 de mayo de 2017

Fdo.: Dr. Manuel Gurpegui

D. Christoph U. Correll, Profesor de Psiquiatría y Medicina Molecular de la Escuela de Medicina de Hofstra Northwell, Universidad de Hofstra Hempstead, Nueva York,

CERTIFICA:

que Dña. Sara Jiménez Fernández, Licenciada en Medicina, ha realizado bajo mi dirección el presente trabajo, titulado *“Identificación de marcadores de estrés oxidativo en la depresión y el trastorno bipolar: estudio de metaanálisis”*, que constituye la memoria para optar al Grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Revisado dicho trabajo, quedo conforme para su presentación para ser juzgado por el Tribunal correspondiente.

Hempstead, Nueva York, a 22 de mayo de 2017



Fdo.: Dr. Christoph U. Correll

A Daniel y a nuestros hijos

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi más profundo agradecimiento a mis directores, sin los que este trabajo habría sido imposible. El Prof. Manuel Gurpegui Fernández de Legaria, quien ha despertado en mí el interés por la investigación., por la confianza depositada en mí, por su disponibilidad, por la supervisión minuciosa del trabajo y por sus sabios consejos. Y al Prof. Christoph U. Correll, quien a pesar de la distancia siempre ha estado dentro del proyecto y ha conseguido hacer fácil lo que en ocasiones parecía complicadísimo.

También me siento enormemente agradecida al Dr. Daniel Garrote Rojas, por su apoyo incondicional y su ayuda por mantener la ilusión en los momentos de duda; y por su colaboración en la doble extracción y en la comprobación y el manejo de los datos.

A mis compañeros de la Unidad de Salud Mental Infanto-Juvenil del Complejo Hospitalario de Jaén, en especial a Mabel Rodríguez Natal y a Isabel Martínez Reyes, por su apoyo y confianza.

A todos los autores de trabajos científicos que han contestado a mis peticiones y aclaraciones por correo electrónico. Y a mis pacientes, que me han llevado a amar la Psiquiatría y que tanto contribuyen a lo que soy.

A mis padres, Francisco y Cecilia, por enseñarme a amar la vida, la familia y el trabajo. A Cristina y Daniel, gracias por hacerme sentir como una hija. A mi hermano Juanma, a Cristina y a Bruno por todos los buenos momentos y por vuestro apoyo para sacar este proyecto adelante. Y de nuevo a mi marido, Daniel, y a nuestros hijos, Cayetana y Daniel; gracias por vuestra paciencia y por vuestro cariño.

I. ÍNDICE

i. ÍNDICE DE ABREVIATURAS	17
ii. RESUMEN/ABSTRACT	21
1. INTRODUCCIÓN	29
1.1. Breve introducción histórica sobre los radicales libres	31
1.2. Los radicales libres	33
1.2.1. La síntesis de los radicales libres y su función en el organismo	36
1.3. Los antioxidantes	38
1.3.1. Los antioxidantes enzimáticos	40
1.3.2. Los antioxidantes no enzimáticos	42
1.4. El estrés oxidativo	49
1.4.1. Consecuencias del estrés oxidativo	50
1.4.2. La necrosis y la apoptosis celular	50
1.4.3. La comunicación intracelular	53
1.4.4. El daño causado por el estrés oxidativo	56
1.4.5. Los mecanismos de reparación	60
1.5. El estrés oxidativo y la inflamación	65
1.5.1. Las citoquinas	67
1.6. Los biomarcadores	69
1.7. El estrés oxidativo y el daño cerebral	73
1.7.1. Neurodesarrollo, neurodegeneración y estrés oxidativo	77
1.7.2. El estrés oxidativo en la depresión	80
1.7.3. El estrés oxidativo en el trastorno bipolar	84
1.7. El metaanálisis	89
2. JUSTIFICACIÓN	99
3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	105

4. MÉTODO	109
4.1. Formulación de la pregunta de la investigación	111
4.2. Selección de los criterios de elegibilidad	111
4.3. Localización de los estudios y estrategia de búsqueda	112
4.4. Selección de estudios	113
4.5. Valoración de la calidad de los estudios seleccionados	114
4.6. Extracción de los datos	115
4.7. Análisis estadístico de los datos	118
5. RESULTADOS	121
5.1. Estudio 1 (Depresión, antes y después del tratamiento)	125
5.2. Estudio 2 (Trastorno bipolar, antes y después del tratamiento)	143
5.3. Estudio 3 (Depresión unipolar vs. depresión bipolar)	187
6. DISCUSIÓN	207
6.1. Hallazgos principales	209
6.2. Comparación de los resultados obtenidos con los de otros metaanálisis	212
6.3. El tratamiento farmacológico	214
6.4. La depresión unipolar y la depresión bipolar	215
6.5. Factores de confusión	216
6.6. Fortalezas y limitaciones	219
6.7. Futuras líneas de investigación	223
7. CONCLUSIONES	225
8. BIBLIOGRAFÍA	229
9. ANEXOS	279
Anexo 1. Artículo publicado en <i>Journal of Clinical Psychiatry</i> .	281

i. ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADN	Acido Desoxirribonucleico
AIF	<i>Apoptosis Inducing Factor</i> (Factor inductor de apoptosis)
ARE	<i>Antioxidant Response Element</i>
BDNF	<i>Brain-derived neurotrophic factor</i>
Car•	Radicales intermedios de la vitamina A
CAT	Catalasa
CMH	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
CUC	Christoph U. Correll
DAMPs	<i>Damage-Associated Molecular Pattern</i>
DE	Desviación Estándar
DG	Daniel Garrote
DHA	Ácido docosahexaenoico
DSM	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i> (Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales)
EA	Efectos Aleatorios
EF	Efectos Fijos
EPA	Ácido eicosapentaenoico
GHGPx	Fosfolipido hidroperóxido Glutation-Peroxidasa
GSH	Glutation
GSH-t	Glutation Transferasa
GPx	Glutation Peroxidasa
GS•	Radicales tiólicos
GSSG	Glutation disulfuro
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i> (Lipoproteína de elevada densidad)
HDRS	<i>Hamilton Depression Rating Scale</i>
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
HOO•	Radical hidroperóxilo

IC	Intervalo de Confianza
IDO	Indolamina 2-3-dioxigenasa
IL	Interleuquina
IMC	Índice de Masa Corporal
ISRS	Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina
LCAT	<i>Lecitin Cholesterol Acil Transferasa</i>
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i> (Lipoproteínas de baja densidad)
MAO	Monoamina Oxidasa
MDA	Malondialdehído
MSR	Metionina Sulfoxido Reductasa
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido
NCAM	<i>Neural cell adhesion molecule</i> (Molécula de adhesión celular)
NHE	4-hidroxi-2-nonenal
NO•	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintetasa
O ₂	Óxígeno
O ₂ •	Radical superóxido
•OH	Radicales hidroxilo
8OHdG	8-hidroxi-2-deoxiguanosina
ONOO-	Peroxinitrito
OR	<i>Odds ratio</i>
PAMPs	<i>Pathogen Associated Molecular Patterns</i>
PCR	Proteína C reactiva
PKC	Proteína Kinasa C
PPP	Ruta de las pentosas fosfato
PRR	<i>Pattern Recognition Receptors</i>
PUFA	Ácido graso poliinsaturado
RDI	Razón de densidad de incidencia
RO ₂ •	Radicales peróxido

ROOH	Hidroperóxidos lipídicos
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i> (Especies reactivas)
RR	Riesgo Relativo
RSE	Resonancia de Spin Electrónico
-SH	Grupos tiólicos
SJ-F	Sara Jiménez-Fernández
SMD	<i>Standart mean deviation</i> (Desviación media estandarizada)
SOD/CuZnSOD	Superóxido dismutasa
STROBE	<i>Strengthening The Reporting of Observational studies in Epidemiology</i>
TBARS	<i>Thiobarbituric acid reactive substances</i>
TAC	<i>Total Antioxidant Capacity</i> (Capacidad antioxidante total)
TLR	<i>Toll Like Receptors</i> (Receptores tipo toll)
TNF	Factor de necrosis tumoral
α -Toc•	Radical tocoferilo
TRX	Tiorridoxina
TRYCATs	Productos intermedios del triptófano
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i> (Lipoproteínas de muy baja densidad)
XOR	Xantina oxidorreductasa
YMRS	<i>Youth Mania Rating Scale</i>

ii. RESUMEN

Objetivo

El objetivo fue estudiar el estrés oxidativo en la depresión y en el trastorno bipolar, así como el posible efecto de los distintos psicofármacos. Para ello se evalúan, mediante metaanálisis, dos marcadores de daño oxidativo de lípidos (MDA y TBARS) y los antioxidantes ácido úrico y GSH y las enzimas antioxidantes SOD, CAT, GPx, GSH-t.

El trabajo se compone tres estudios: a) comparar a pacientes afectos de depresión con voluntarios sanos antes y después del tratamiento con antidepresivos; b) comparar a pacientes con trastorno bipolar y voluntarios sanos, antes y después del tratamiento con psicofármacos; c) comparar a pacientes con depresión unipolar y pacientes con depresión bipolar con voluntarios sanos.

Método

Se seleccionaron todos los artículos (sin restricción por idioma) encontrados en las bases de datos online MEDLINE/PubMed, Cochrane Library, Controlled Trial, Scopus, TripDatabase, Fistera y Galenicom. Los términos usados incluían: *oxidative stress*, *antioxidant**, *nitrosative stress*, *nitrative stress*, *nitro-oxidative stress*, *free radical**, el nombre de cada uno de los marcadores de estrés oxidativo y antioxidantes, y depresión/trastorno bipolar y los trastornos relacionados.

La búsqueda fue restringida hasta la fecha del 31/12/2013 en el primer estudio, mientras que en los otros dos estudios la fecha se extendió hasta el 31/01/2017. De los artículos seleccionados se extrajo la media y desviación estándar (DS) de cada uno de los parámetros de estrés oxidativo analizados. La extracción de datos fue realizada por dos investigadores de modo independiente.

Resultados

Finalmente se incluyeron 29 estudios en el primer estudio, 37 en el segundo estudio y 34 en el tercero. La calidad global de los mismos, evaluada según los criterios STROBE (von Elm *et al.*, 2007), fue media.

En los pacientes con depresión, comparados con individuos voluntarios sanos, se encontró un aumento de la concentración total de MDA (8 estudios; $n = 916$; SMD = 1.34; 95% IC, 0.57 a 2.11; $P < 0.001$), un aumento de la actividad de la enzima SOD (11 estudios; $n = 902$; SMD = 0.62; 95% IC, 0.07 a 1.17; $P = 0.028$) y un descenso de los antioxidantes ácido úrico (4 estudios; $n = 512$; SMD = -0.64; 95% IC, -1.22 a -0.06; $P = 0.030$) y zinc (13 estudios; $n = 2.002$; SMD = -0.66; 95% IC, -0.98 a -0.34; $P < 0.0001$). Tras el tratamiento con antidepresivos, disminuyó la concentración de MDA (4 estudios; $n = 194$; SMD = -1.45; 95% IC, -2.43 A -0.47; $P = 0.004$) y aumentó la concentración de ácido úrico (3 estudios; $n = 212$; SMD = 0.76; 95% IC, 0.03 a 1.49; $P = 0.040$) y de zinc (3 estudios; $n = 65$; SMD = 1.22; 95% IC 0.40 a 2.04; $P = 0.004$).

En los pacientes con trastorno bipolar, comparados con individuos voluntarios sanos, se observó un incremento de la concentración total de TBARS (12 estudios; $n = 723$; SMD = 1.01; 95% IC 0.24 a 1.71; $P < 0.0001$) y MDA (6 estudios; $n = 298$; SMD = 0.81; 95% CI 0.05 a 1.56; $P=0.04$), y un incremento del antioxidante ácido úrico (9 estudios; $n = 533$; SMD = 0.48; 95 %CI 0.20 a 1.11; $P < 0.0001$) y de la actividad de las enzimas antioxidants CAT (8 estudios; $n = 346$; SMD = 1.36; 95% CI 0.25 a 2.48; $P = 0.02$) y GSH-t (3 estudios; $n = 214$; SMD = 2.49; 95% IC 0.58 a 4.39; $P=0.01$). En el análisis de subgrupos se observó que, comparados con voluntarios sanos, los pacientes con mania (5 estudios; $n = 143$; SMD = 1.87; 95% IC 1.07 a 2.68; $P<0.0001$) y con depresion bipolar (5 estudios; $n = 161$; SMD = 0.92; 95% IC 0.12 a 1.72; $P = 0.02$) presentaban mayores niveles de TBARS, con similar concentración entre ellos. Y la concentración de ácido úrico fue mayor en pacientes con mania (4 estudios; $n = 129$; SMD = 1.11; 95% IC 0.71 a 1.50; $P < 0.0001$) y eutimia (3 estudios; $n = 87$; SMD = 0.37; 95% IC 0.09 a 0.65; $P = 0.009$), también con similar concentración entre ambos subgrupos. En los pacientes con mania sin

tratamiento farmacológico se encontró un aumento significativo de la enzima SOD (4 estudios; $n = 86$; $SMD = 1.23$; 95% IC 0.21 a 2.26; $P = 0.02$) y un descenso de la enzima GPx, comparados con voluntarios sanos (3 estudios; $n = 68$; $SMD = -1.06$; 95% IC 1.39 a -0.72; $P < 0.0001$). Tras el tratamiento farmacológico, no se observó cambio significativo de la actividad de las enzimas SOD y GPx.

En el tercer estudio se compararon pacientes con depresión unipolar, pacientes con depresión bipolar y voluntarios sanos. La concentración de TBARS, significativamente elevada, fue similar en ambos trastornos ($P = 0.15$), al igual que la concentración de ácido úrico ($P = 0.15$) y las enzimas antioxidantes SOD ($P = 0.87$), CAT ($P = 0.28$) y GPx ($P = 0.09$).

Conclusiones

En la depresión y en el trastorno bipolar se produce un estado oxidativo, que queda reflejado por alteraciones de los distintos productos de daño oxidativo y de los antioxidantes. Tras el tratamiento con antidepresivos mejoran las alteraciones encontradas en pacientes con depresión, pero no se observa mejoría en los parámetros estudiados en pacientes con trastorno bipolar. Por último, se observó que las alteraciones halladas en los pacientes con depresión unipolar y depresión bipolar eran similares.

ABSTRACT

Objective

The aim was to study oxidative stress in unipolar depression and bipolar disorder, as well as the possible effect of psychotropic drugs. For this purpose, two markers of oxidative damage to lipids (MDA and TBARS), the antioxidants uric acid and GSH and the antioxidants enzymes SOD, CAT, GPx and GSH-t were evaluated by means of meta-analysis.

The whole work includes three studies: a) comparison of patients suffering from depression with healthy volunteers, before and after treatment with antidepressant drugs; b) comparison of patients suffering from bipolar disorder with healthy volunteers, before and after treatment with different psychotropic drugs; and c) comparison of unipolar depression and bipolar depression with healthy volunteers and with each other.

Methods

We conducted an electronic database search, without language restriction, of MEDLINE/PubMed, Cochrane Library, Controlled Trial, Scopus, TripDatabase, Fistera y Galenicom, using the following search terms: *oxidative stress*, *antioxidant**, *nitrosative stress*, *nitrate stress*, *nitro-oxidative stress*, *free radical**, the name of each of the oxidative stress markers and of the antioxidants, and depression/ bipolar disorder and related terms.

The search was restricted until 31/12/2013 for the first study, whereas in the subsequent 2 studies the data was extended until 31/01/2017. Included were studies reporting data on the selected markers of (i.e., oxidative damage to lipids (MDA and TBARS), the antioxidants uric acid and GSH and the antioxidants enzymes SOD, CAT, GPx and GSH-t) in patients diagnosed with unipolar depression or bipolar disorder compared to healthy controls. Out of the eligible studies, we

recorded the mean and the standard deviation of every analyzed parameter. Additionally, study, patient and treatment parameters, as well as the global quality of the studies, using STROBE criteria (von Elm *et al.*, 2007), were recorded. Data extraction was performed independently by two investigators.

Results

Altogether, 29 studies were included in the first part of our work, 37 in the second and 34 in the third. The global quality of the meta-analyzed studies was average.

Among patients with depression, in comparison with healthy volunteers, we found an increase of MDA total concentration (8 studies; n=916; SMD=1.34; 95% IC, 0.57 to 2.11; P<0.001), an increase of activity of the enzyme SOD (11 studies; n=902; SMD=0.62; 95% IC, 0.07 to 1.17; P=0.028) and a decrease of the antioxidants uric acid (4 studies; n=512; SMD=-0.64; 95% IC, -1.22 to -0.06; P=0.030) and zinc (13 studies; n=2002; SMD=-0.66; 95% IC, -0.98 to -0.34; P<0.0001). After treatment with antidepressants, we found a decrease of the oxidative stress marker MDA (4 studies; n=194; SMD=-1.45; 95% IC, -2.43 to -0.47; P=0.004) and an increase of the antioxidants uric acid (3 studies; n=212; SMD=0.76; 95% IC, 0.03 to 1.49; P=0.040) and zinc (3 studies; n=65; SMD=1.22; 95% IC, 0.40 to 2.04; P=0.004).

Among patients with bipolar disorder, in comparison with healthy volunteers, we found an increase in the total concentration of the oxidative stress markers TBARS (12 studies; n=723; SMD=1.01; 95% IC, 0.24 to 1.71; P<0.0001) and MDA (6 studies; n=298; SMD= 0.81; 95% CI, 0.05 to 1.56; P=0.04). However, different from the study in unipolar depression, antioxidant levels were increased compared to controls. This was true for uric acid (9 studies; n=533; SMD=0.48; 95 % CI, 0.20 to 1.11; P<0.0001) and the activity of the antioxidant enzymes CAT (8 studies; n=346; SMD=1.36; 95% CI, 0.25 to 2.48; P=0.02) and GSH-t (3 studies; n=214; SMD=2.49; 95% IC, 0.58 to 4.39; P=0.01). In subgroup analyses and compared with healthy volunteers, we observed that patients with mania (5 studies; n=143; SMD=1.87; 95% IC, 1.07 to 2.68; P<0.0001) and patients with bipolar depression (5 studies; n=161; SMD=0.92; 95% IC, 0.12 to 1.72; P=0.02) showed significantly higher (and similar) levels of TBARS. Similarly, the uric acid concentration was higher than in controls (and similar) in patients with mania (4 studies; n=129; SMD=1.11; 95%

IC, 0.71 to 1.50; $P < 0.0001$) and in patients in euthymia (3 studies; $n = 87$; $SMD = 0.37$; 95% IC, 0.09 to 0.65; $P = 0.009$). Among patients with mania without pharmacological treatment, again in comparison with healthy volunteers, we found a significant increase of the enzyme SOD (4 studies; $n = 86$; $SMD = 1.23$; 95% IC, 0.21 to 2.26; $P = 0.02$) and a decrease of the enzyme GPx (3 studies; $n = 68$; $SMD = -1.06$; 95% IC, 1.39 to -0.72 ; $P < 0.0001$). However, after pharmacological treatment, we found no significant change in the activity of the enzymes SOD y GPx.

In our third study, in which we compared patients with unipolar depression, patients with bipolar depression and healthy volunteers, the concentration of TBARS was significantly higher in both types of depression (unipolar depression: $p = 0.02$); bipolar depression: $p = 0.02$), which did not differ from each other ($P = 0.15$). Conversely, patients with unipolar and bipolar depression did not differ significantly from each other compared to healthy controls regarding uric acid ($P = 0.15$) as well as in the antioxidant enzymes SOD ($P = 0.87$), CAT ($P = 0.28$) and GPx ($P = 0.09$).

Conclusions

In both unipolar depression and bipolar disorder, there is an oxidative state imbalance that is reflected overall by increased oxidative damage products and decreased levels of antioxidants. Improvement is observed in depression after antidepressant treatment, but not in bipolar disorder after treatment with antipsychotic and/or mood stabilizing drugs. Finally, unipolar and bipolar depression did not differ in the examined oxidative stress parameters.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. BREVE INTRODUCCIÓN HISTÓRICA SOBRE LOS RADICALES LIBRES

Todos los organismos necesitan oxígeno para poder obtener energía que obtienen gracias a la cadena transportadora de electrones mitocondrial. A pesar de ser necesario, el oxígeno es muy tóxico para la vida de los organismos aerobios, es por ello que requieren de un adecuado sistema antioxidante para sobrevivir (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp 1-5).

Rebecca Gerschman propone en 1954, en una publicación en la revista *Science*, que los efectos tóxicos del oxígeno son causados por los radicales libres del oxígeno (Gerschman *et al.*, 1954). Sin embargo, inicialmente su teoría no consiguió el aval de la mayoría de la comunidad científica, a la que le costó aceptar el hecho de que los radicales libres, habitualmente producidos por radiaciones ionizantes, podían ser también formados en el organismo durante el proceso de la respiración celular. Por otro lado, criticaban también el método científico empleado por Gerschman en sus investigaciones por ser excesivamente especulativo (Cornejo, 2008). A pesar del mal recibimiento, la teoría abrió un gran campo de investigaciones, que terminaron por consolidarla y demostrar su implicación en el daño celular.

Solo dos años más tarde de la descripción de la teoría de los radicales libres, Harman propuso la implicación de estos en el envejecimiento celular (Harman, 1956) y, en 1969, McCord y Fridovich llevaron a cabo un descubrimiento decisivo, el de la enzima antioxidante superóxido dismutasa (McCord y Fridovich, 1969), que supuso la validación de la teoría de los radicales libres. Otro hito importante en el desarrollo de la teoría fue la descripción del papel de la especie radical $\bullet\text{OH}$ como activador de la guanilato-ciclasa y de la formación del segundo mensajero GMPc (Mittal y Murad, 1977). Gracias a este último descubrimiento se pudo describir el importante papel de los radicales libres en el desarrollo de mecanismos adaptativos descartando así el papel dañino que clásicamente les era asignado (Valko *et al.*, 2007).

Los antioxidantes se encargan de eliminar los radicales libres derivados del oxígeno y del nitrógeno y establecen un estrecho equilibrio, que en numerosas ocasiones puede verse alterado, con lo que aparece entonces un exceso de estos agentes tóxicos. Esta situación se conoce con el nombre de estrés oxidativo y da como resultado el daño oxidativo. El término “estrés oxidativo” adquirió inmediatamente interés científico y clínico, porque abría la puerta al diseño de posibles estrategias de intervención con vitaminas y otros compuestos antioxidantes, cuando la enfermedad se produce por un déficit de los mismos (Boveris, 2005). Desde entonces no ha dejado de crecer el interés de la comunidad científica por el estrés oxidativo, debido a su implicación en un gran número de enfermedades (Tabla 1.1).

Tabla 1. Diferentes estados patológicos con implicación del estrés oxidativo

Daño inflamatorio/inmune	Sistema cardiovascular
Glomerulonefritis	Aterosclerosis
Vasculitis	Toxicidad de adriamicina
Artritis reumatoidea	Enfermedad de Keshan (Se)
Síndromes autoinmunes	Síndrome metabólico
Lupus	Disfunción endotelial
Isquemia-reperfusion	Riñón
Post-infarto de miocardio	Síndrome nefrótico autoinmune
Post-shock cerebro-vascular	Nefrotoxicidad de Pb, Cd y Hg
Revascularización cardíaca	Hipertensión renal (SRA)
Transplante de órganos	Alcoholismo
Cerebro - SNC	Hepatopatía alcohólica
Hiperoxia	Miopatía alcohólica
Enfermedad de Parkinson	Neuropatía alcohólica
Enfermedad de Alzheimer	Ojos
Esclerosis múltiple	Cataratas
Sobrecarga de hierro/cobre	Fibroplasia retrolental
Hemocromatosis	Degeneración macular
Talasemia, multitransfusiones	Piel
Enfermedad de Wilson	Irradiación solar (porfiria)
Shock séptico y similares	Envejecimiento
Síndrome de inflamación sistémica	Envejecimiento normal
Shock séptico	Envejecimiento acelerado
Falla multiorgánica (MOF)	Progeria
Pulmón	Eritrocitos
Hiperoxia	Toxicidad de Pb
Toxicidad de paraquat y bleomicina	Toxicidad a la fenilhidrazina
Enfisema (ARDS, fumadores)	Fotooxidación de protoporfirinas
Tracto gastrointestinal	Malaria
Daño hepático por endotoxinas	Anemia de Fanconi
Hepatotoxicidad de hidrocarburos halogenados	Daño por radiaciones
Hepatopatía alcohólica	Exposiciones accidentales
Isquemia-reperusión del intestino	Radioterapia

(Tabla tomada de Boveris, 2005)

1.2. LOS RADICALES LIBRES

Los radicales libres son una especie química altamente reactiva, debido a que poseen uno o más electrones desapareados en sus órbitas (Halliwell y Gutteridge, 2007 p.p 30-77). Se producen de tres modos diferentes: a) por la escisión homolítica del enlace covalente de una molécula en la que cada fragmento queda con un electrón desapareado, con la consiguiente formación de dos radicales libres; b) por la pérdida de un electrón; y c) por la adición de un electrón.

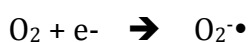
Es importante diferenciar entre las especies reactivas de oxígeno (*Reactive Oxygen Species*, ROS) y los radicales libres. Las primeras incluyen a todas las especies derivadas de oxígeno, posean o no radicalidad, mientras que entre los radicales libres no se incluyen todas las ROS (Halliwell y Gutteridge; 2007 p. 22). A continuación se describe la síntesis de las principales ROS, aunque en la Tabla 2.1 aparece una lista más extensa.

Tabla 2. Especies reactivas de oxígeno y nitrógeno

Name	Structure	Category	E^0 [V]
ROS			
Singlet oxygene	$^1\text{O}_2$	Two-electron, non radical	$^1\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$
Superoxide radical anion	$\text{O}_2^{\bullet-}$	One-electron, free radical	$\text{O}_2^{\bullet-}, 2\text{H}^+/\text{H}_2\text{O}_2$
Hydroperoxyl radical	$\text{HO}_2^{\bullet}$	One-electron, freeradical	$\text{HO}_2^{\bullet}, \text{H}^+/\text{H}_2\text{O}_2$
Hydrogen peroxide	H_2O_2	Two-electron, non radical	$\text{H}_2\text{O}_2, 2\text{H}^+/\text{H}_2\text{O}$
Hydroxyl radical	$\text{HO}^{\bullet}$	One-electron, free radical	$\text{HO}^{\bullet}, \text{H}^+/\text{H}_2\text{O}$
Hydroxyl anion	OH^-	Two-electron, non radical	nd
Peroxyl radical	$\text{ROO}^{\bullet}$	One-electron, free radical	$\text{ROO}^{\bullet}, \text{H}^+/\text{ROOH}$
Lipid peroxyradical	$\text{LOO}^{\bullet}$	One-electron, free radical	nd
Hypochlorous acid	HOCl	Two-electron, non radical	$\text{HOCl}, \text{H}^+/\text{Cl}^-, \text{H}_2\text{O}$
Hypobromous acid	HOBr	Two-electron, non radical	$\text{HOBr}, \text{H}^+/\text{Br}^-, \text{H}_2\text{O}$
Hypothiocyanous acid	HOSCN	Two-electron, non radical	$\text{HOSCN}, \text{H}^+/\text{SCN}^-, \text{H}_2\text{O}$
RNS			
Nitric oxide	$\text{NO}^{\bullet}$	One-electron, free radical	$\text{NO}^{\bullet}/\text{NO}^-$
Nitrogen dioxide	$\text{NO}_2^{\bullet}$	One-electron, free radical	$\text{NO}_2^{\bullet}/\text{NO}_2$
Peroxynitrite	ONOO^-	Two-electron, non radical	$\text{ONOOH}, \text{H}^+/\text{NO}_2^-, \text{H}_2\text{O}$
Nitrite	NO_2^-	Two-electron, non radical	nd
Nitrate	NO_3^-	Two-electron, non radical	nd
Nitronium ion	NO_2^+	Two-electron, non radical	nd

(Tabla elaborada a partir de Monicewski *et al.*, 2015)

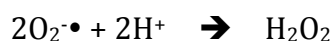
El **oxígeno (O₂)** posee dos electrones desapareados en su órbita más externa, pero ambos poseen el mismo número cuántico de spin, lo que confiere estabilidad a la molécula. Sin embargo, es capaz de oxidarse con mucha facilidad al aceptar un electrón (como sucede, por ejemplo, durante los procesos de auto-oxidación o por la salida de electrones de la cadena transportadora durante los procesos de respiración celular), lo que convierte al oxígeno en una molécula inestable, el **radical superóxido (O₂[•])**. Este radical es considerado la primera especie reactiva del oxígeno y tiene la capacidad de interaccionar con otras moléculas para formar ROS “secundarias”.



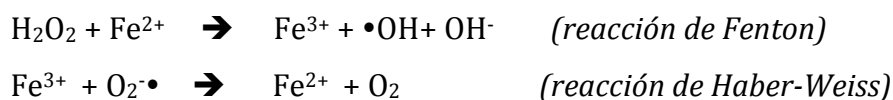
El principal lugar de producción de radical superóxido es la mitocondria (Cadenas y Sies, 1998) en la que diversas enzimas catalizan esta reacción; por ejemplo la triptófano dioxigenasa, la xantina oxidasa, la flavin deshidrogenasa o las enzimas peroxidases (McCord y Fridovich, 1968).

Por sí mismo, el radical superóxido (O₂[•]) carece de reactividad suficiente como para atacar a distintas macromoléculas, aunque cuando se encuentra a elevada concentración adquiere la capacidad de causar daño a moléculas importantes. La forma protonada del O₂[•], el **radical hidroperóxilo (HOO[•])**, tiene una importante capacidad reactiva. Por sí mismo, este radical libre es capaz de iniciar la peroxidación de los ácidos grasos de membranas celulares aunque afortunadamente su concentración a pH fisiológico es muy baja.

La unión de dos moléculas superóxido (O₂[•]), por medio de una reacción de dismutación (más rápida a pH ácido) o por la ganancia de un segundo electrón y dos protones (H⁺), dan lugar a **peróxido de hidrógeno (H₂O₂)**. Diversas enzimas, como son la urato oxidasa, la D-amino oxidasa y la gliocolato oxidasa, se encargan de esta reacción bioquímica.



El peróxido de hidrógeno no es propiamente un radical libre, sino que es mas bien una molécula estable que puede atravesar las membranas celulares e inactivar enzimas por oxidación de grupos tiólicos (-SH) esenciales. La consideramos como una ROS con alta capacidad dañina, porque puede ser fuente de **radicales hidroxilo ($\bullet\text{OH}$)** en presencia trazas de catalizadores metálicos como el hierro o el cobre, mediante la reacción de Fenton (reacción que puede perpetuarse siempre que haya un agente que capaz de reciclar el Fe^{3+} mediante la reacción de Haber-Weiss). La concentración de hierro o de cobre en condiciones normales es baja lo que evita la síntesis masiva de radicales libres. Solo en las situaciones de exceso de $\text{O}_2\bullet$ el organismo libera Fe de las moléculas que lo contienen.



A pesar de la baja reactividad del H_2O_2 , la elevada capacidad de difusión, la disponibilidad de iones de metales de transición o la formación por radiación UV (por fisión homolítica) influyen en la mayor o menor toxicidad del H_2O_2 y en la propagación del daño oxidativo (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp. 30-77).

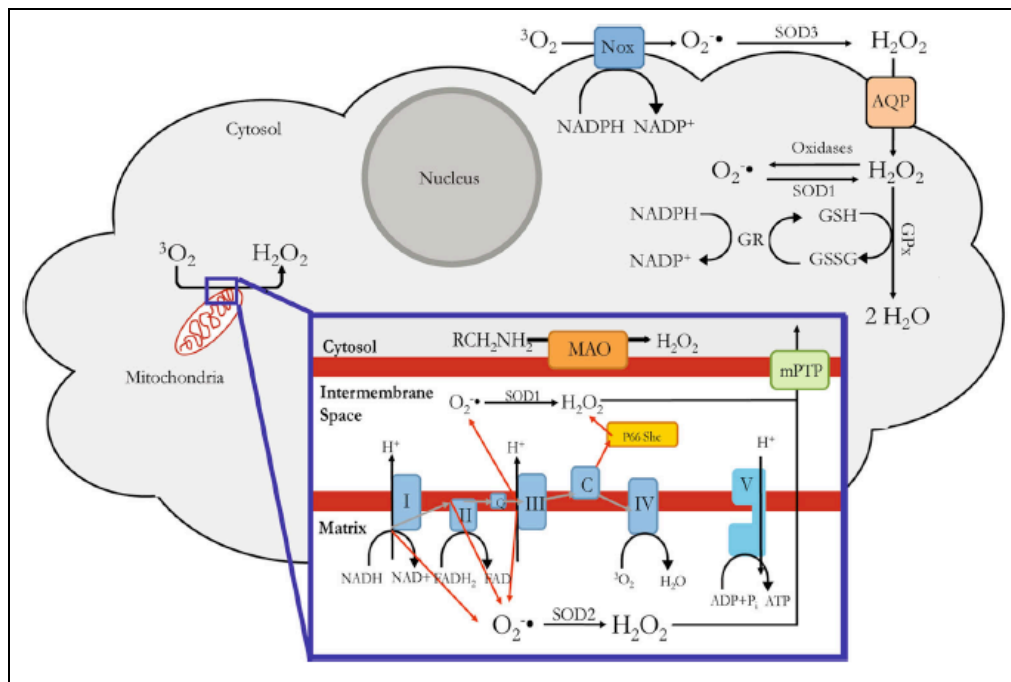
El radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) es el radical libre más agresivo (Halliwell, 2012) capaz de reaccionar inespecíficamente con cualquier molécula que se encuentre próxima a su lugar de formación. Es esta característica, la que impide su difusión a largas distancias (Pryor, 1986).

Entre las especies reactivas del nitrógeno se encuentra el radical libre óxido nítrico ($\text{NO}\bullet$), que es sintetizado por la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS). Por sí mismo posee baja reactividad y funciona como mensajero; por ejemplo, es capaz de ejercer funciones de neurotransmisor, interviene en la plasticidad celular, influye como regulador del tono vascular (Hobbs *et al.*, 1999) y modula el sistema inmunitario (Bergendi *et al.*, 1999).

Durante el estallido respiratorio de las reacciones inflamatorias, las células del sistema inmune producen grandes cantidades de $O_2^{\bullet}$ y $NO^{\bullet}$. Bajo estas condiciones, ambas moléculas pueden interaccionar y dar lugar a **peroxinitrito ($ONOO^-$)**, que al no poseer un electrón desapareado en su órbita no es realmente un radical libre, pero a pH fisiológico es un poderoso oxidante y nitrante (Pacher *et al.*, 2007), capaz de dar lugar a agentes citotóxicos con propiedades de oxidación, hidroxilación y nitración de los lípidos, las proteínas y el ADN (Halliwell *et al.*, 1999).



Figura 1. Principales especies reactivas derivadas del oxígeno y su vía de síntesis



(Figura tomada de Di Dalmazi *et al.*, 2016)

1.2.1. La síntesis de los radicales libres y su función en el organismo

Los radicales libres se producen de modo constante en todos los tejidos del organismo, por medio de reacciones de transferencia de electrones en el interior de la mitocondria. En esta reacción en cadena se emplea el 80% del oxígeno

consumido por el organismo (Halliwell, 2006). Inusualmente los radicales libres se pueden formar bajo otras circunstancias, como puede ser la exposición a radiaciones ionizantes (situación de fisión); o la síntesis puede incrementarse en situaciones de intoxicación, en las que la producción satura la capacidad antioxidante del organismo, con la consiguiente ruptura de membranas celulares y daño tisular. Su síntesis puede ser errónea, como sucede con la mayor fuente de producción de radicales libres, que procede de la pérdida de electrones en la cadena mitocondrial transportadora de electrones o durante los procesos de auto-oxidación molecular, que se potencian en presencia de metales de transición (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp 30-77). Sin embargo, en la mayoría de ocasiones la síntesis de radicales libres es adaptativa, con una función beneficiosa para el organismo (Halliwell, 2001).

Entre las funciones de los radicales libres, destacan:

- a) Mediar en procesos enzimáticos de catálisis, como con la enzima ribonucleótido reductasa, en los que dejan de actuar como radicales libres y actúan como catalíticos (Grootveld y Halliwell, 1986).
- b) Actuar como barrera defensiva frente a agentes externos durante los procesos de fagocitosis (Babior, 1999). En el interior de las vesículas fagocíticas y de las membranas celulares se forman grandes cantidades de superóxido gracias a la acción de la enzima NADPH oxidasa (que se transformará en H_2O_2).
- c) Actuar como mensajeros intra y extracelulares (Halliwell y Gutteridge, 2007 p.p 183-195) en los procesos de señalización celular. De este modo, transmiten la información del exterior al interior celular, y actúan como iniciadores, transmisores o modificadores de la respuesta celular por medio de la activación de distintos factores de transcripción (Poli *et al.*, 2004). Por ejemplo, el H_2O_2 puede actuar en algunas células como segundo mensajero al activar el factor de transcripción NF- κ B (Hobbs *et al.*, 1999).

- d) Intervenir en importantes procesos fisiológicos. El $O_2^{\cdot-}$ está implicado en el mantenimiento del potencial de membrana (Scott y Rabito, 1984), en la adhesión celular, en la que destacan los procesos de agregación plaquetaria, (Handin *et al.* 1977), en la embriogénesis (Albelda *et al.*, 1994) y en la muerte celular programada (apoptosis).

1.3. LOS ANTIOXIDANTES

Entre los mecanismos que el organismo posee para defenderse contra el daño causado por los radicales libres se encuentran: a) la prevención del estado oxidativo; b) los mecanismos de reparación del daño causado por los radicales libres; c) las barreras físicas; y d) los antioxidantes.

Los distintos mecanismos antioxidantes y las barreras físicas no poseen una efectividad total, como se deduce del hecho de que en el organismo sano se encuentran productos de degradación de ADN, proteínas y lípidos (Sakano *et al.*, 2009; Campos *et al.*, 2011). Por lo tanto, podríamos decir que los antioxidantes controlan la concentración de radicales libres en concentraciones no patológicas, más que conseguir su completa eliminación. Este equilibrio es necesario porque muchas especies reactivas desempeñan un papel importante en el funcionamiento celular; por ejemplo intervienen en la activación de distintas enzimas o como factores de transcripción por medio de reacciones de fosforilación/desfosforilación (Halliwell y Gutteridge, 2007; p. 188).

Denominamos **antioxidante** a aquella sustancia que cuando está presente a baja concentración, comparada con el **sustrato** oxidable, inhibe o retrasa la oxidación del sustrato. Entre los antioxidantes, podemos distinguir los que previenen la generación de radicales libres de los encargados de eliminar los radicales libres formados (Cotgreave *et al.*, 1988). Estos últimos se categorizan en dos grandes grupos: los antioxidantes enzimáticos y los antioxidantes no enzimáticos.

3.1. Antioxidantes enzimáticos

Superóxido dismutasa (SOD)

La CuZnSOD se encuentra mayoritariamente en el citosol celular y en menor medida en los peroxisomas, en los lisosomas, en las membranas mitocondriales y en el núcleo celular. Hay otro tipo, la MnSOD, llamada comúnmente SOD2, que se localiza en la matriz mitocondrial y es más sensible a la desnaturalización por calor y por diversos reactivos. Existe una tercera, forma de SOD que se encuentra en el exterior de las células y que puede minimizar el paso de $O_2^{\bullet-}$ y $NO^{\bullet}$ al interior celular.

La principal función de la enzima SOD en el organismo humano es catalizar de un modo muy eficiente la dismutación del radical $O_2^{\bullet-}$ en condiciones de pH fisiológico, dando lugar a la síntesis de H_2O_2 y O_2 .

Catalasa (CAT), glutathion peroxidasa (GPx) y peroxirredoxina

Controlan la concentración de H_2O_2 en el interior celular y poseen papeles complementarios. La CAT se localiza en los peroxisomas celulares e interviene directamente en la descomposición del H_2O_2 , mientras que la enzima GPx elimina el H_2O_2 por medio de la oxidación de otro sustrato intermedio, el glutatión reducido. La peroxirredoxina reduce el H_2O_2 y otros peróxidos orgánicos.

De las tres enzimas, la CAT es la más importante ante elevadas concentraciones de H_2O_2 , mientras que la GPx elimina de modo constante bajas concentraciones fisiológicas de H_2O_2 . La peroxirredoxina actúa de un modo más lento que la GPx; sin embargo, elevadas concentraciones de aquella enzima en forma inactiva se encuentran en el interior celular, listas para activarse ante situaciones de estrés oxidativo compensando así su lentitud de acción (Halliwell y Gutteridge; 2007 pp. 105-125).

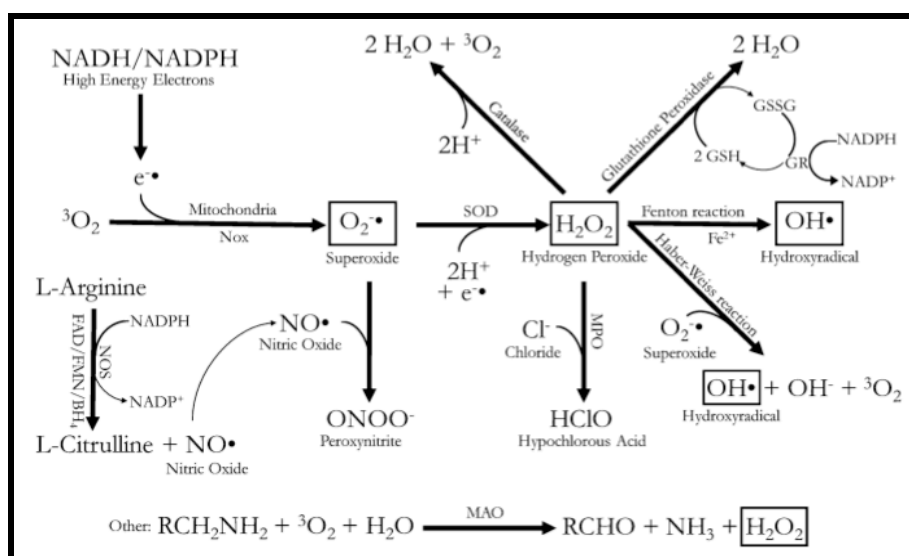
Glutación reductasa (GR)

Cuando en el interior celular la tasa de glutatión oxidado es alta, la enzima GR se encarga de su reducción a glutatión, haciendo uso de NADPH, que actúa como donador de e⁻.



La principal fuente de NADPH es la ruta de las pentosas fosfato (PPP), en la cual la glucosa se transforma en ribosa (importante fuente para la síntesis de aminoácidos) y con lo que se obtiene NADPH. La acción de la enzima GR disminuye la tasa NADPH/ NADP⁺, señal que activa la ruta PPP y genera más NADPH, de modo que se interrelacionan ambos procesos.

Figura. 2 La síntesis de radicales libres y su eliminación por los antioxidantes



(Figura tomada de Di Dalmzi *et al.*, 2016)

Glutación-S-transferasa (GST)

Los agentes xenobióticos son eliminados mediante el glutatión, a través de una reacción catabolizada por la GST. Sin embargo, el producto resultante continúa

siendo tóxico. El hígado contiene importantes cantidades de GST y por vía biliar se excreta una gran parte del el GSH conjugado.



3.2. Antioxidantes no enzimáticos

Glutación (GSH)

El GSH desempeña diversas acciones:

- a) Actúa como sustrato de las enzimas GPx y la dehidroascorbato reductasa y es capaz de eliminar diversos radicales libres y otros productos orgánicos inestables tras su transformación a formas más estables; durante este proceso se producen radicales tiólicos (GS•) menos reactivos que el •OH, pero que tiene una importante función en procesos de señalización celular (Thannickal y Fanburg, 2000).
- b) Interviene en la eliminación de xenobioticos como se acaba de ver.
- c) Ejerce de cofactor, por ejemplo, durante el proceso de síntesis de las hormonas tiroideas.
- d) Interviene en la comunicación intracelular por *gap junctions*.
- e) Tiene un papel importante en el paso transmembrana de amino ácidos y síntesis del ADN.
- f) Es capaz de regenerar los antioxidantes más importantes, que son las vitaminas C y E (Meister, 1994).

Debido a que se encuentra en elevada concentración en el organismo, la relación entre glutatión y su forma oxidada (GSSG), la tasa GSSG/2GSH, es la principal mantenedora del equilibrio redox celular, a pesar de que existen otras parejas redox en la célula que contribuyen a este equilibrio (como NAD⁺/NADH). En estado de estrés oxidativo, se eleva la concentración de GSSG y el cociente GSH/GSSG se altera, lo que es un buen indicador del estado oxidativo celular (Nogueira *et al.*, 2004). Se entiende como equilibrio redox la concentración de e- existente en los

diferentes orgánulos celulares, cuya oscilación determina el funcionamiento celular (Schafer y Buettner, 2001).

Se sintetiza en el citoplasma de todas las células animales (principalmente en el hígado) donde se halla en elevada concentración, que es menor en el núcleo celular donde mantiene el equilibrio de los grupos sulfidrilos necesarios para la reparación y expresión del ADN (Valko *et al.*, 2007) y también está presente en el interior de las mitocondrias. Es el principal antioxidante soluble de estos tres compartimentos (Valko *et al.*, 2007).

La síntesis de GSH se realiza, por medio de la enzima ligasa glutamato-cisteína (YGCS), a partir de L-glutamato y L-cisteína que las células extraen de los fluidos extracelulares a partir de la metionina o del glutamato. El hígado sintetiza elevadas cantidades de GSH que son liberadas al plasma. Pero las células de los mamíferos carecen de capacidad para introducirlo en su interior, del mismo modo que tampoco puede ser absorbido en el tracto gastrointestinal.

Tiorridoxina (TRX)

Junto con el GSH son los dos antioxidantes más importantes encargados de mantener el equilibrio redox en el interior celular (Valko *et al.*, 2007). Actúa como agente reductor de proteínas mediante el intercambio tiol-disulfuro y actúa con distintas enzimas como la ribonucleótido reductasa (que repara los residuos de metionina de proteínas dañados por el estrés oxidativo), desempeñando de este modo su poder antioxidante. La forma oxidada se reduce mediante la tiorredoxina reductasa dependiente de NADPH, que guarda similitud con GSH (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp. 121-123).

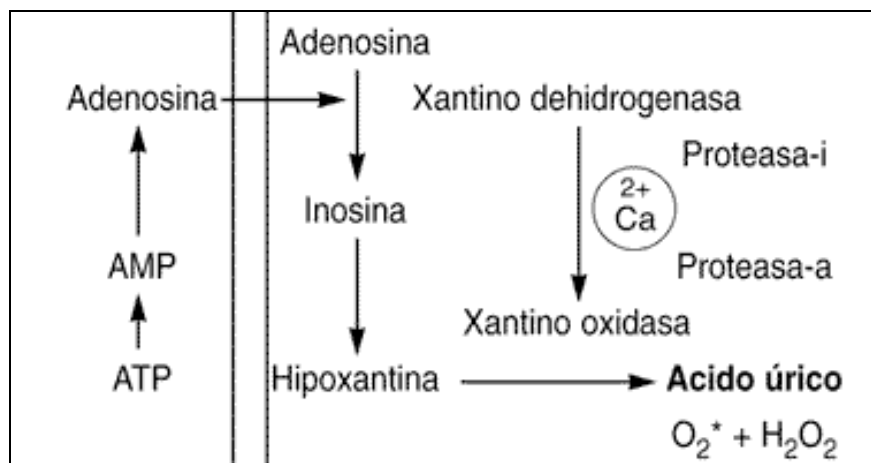
Ácido úrico

Se forma mediante el ciclo catalítico de las purinas, por intervención de la enzima xantina oxidoreductasa (XOR). Se acumula principalmente en el plasma, pero también se encuentra en otros fluidos corporales (saliva, leche, líquido sinovial...)

y en el interior de las células. De hecho su salida masiva de células muertas ayuda a activar la respuesta inmune (Martinon *et al.*, 2006). A pH fisiológico la mayor parte del ácido úrico se ioniza en urato, cuya solubilidad es limitada; y cuando se encuentra en exceso cristaliza y origina gota.

Es un potente antioxidante. Mediante su oxidación con especies reactivas es capaz de evitar con $\text{ONOO}^\bullet$ la nitración de proteínas y actúa como quelante de iones metálicos. Sin embargo, en este proceso se forman radicales urato, que se eliminan por su reducción con ácido ascórbico, con diversos flavonoides o a través de su reacción con $\text{O}_2^{\bullet-}$, que regenera urato y O_2 (Santus *et al.*, 2001).

Figura 3. El ciclo del ácido úrico



(Figura tomada de Martínez *et al.*, 2001)

Bilirrubina

El 80% de la bilirrubina procede del metabolismo de la hemoglobina, presente en los hematíes han alcanzado su plenitud vital en el retículo endoplasmático de las células del bazo, del hígado y de la médula ósea. El resto de la bilirrubina proviene de los grupos hemo de otras proteínas, como la mioglobina, la catalasa o los citocromos.

La bilirrubina no conjugada o indirecta es insoluble y va unida a la albúmina. De esta forma la bilirrubina no entra en otros órganos que no sean el hígado, en el que

se introduce en los hepatocitos tras la disociación del complejo albúmina-bilirrubina. En el citoplasma de los hepatocitos se une a proteínas, principalmente a GSH-t (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp. 152). La bilirrubina actúa como antioxidante de dos modos: mediante su oxidación con especies reactivas transformándose en biliverdina (Sedlack y Zinder 2004) e interfiriendo en la peroxidación lipídica, puesto que es liposoluble (Sedlak *et al.*, 2009).

Álbúmina

La albúmina desempeña numerosas funciones en el organismo y también actúa como antioxidante extracelular. Tiene la capacidad de unir iones y grupos hemo y, además, su grupo cisteína-tiol (-SH) interactúa rápidamente con ONOO^- , $\text{NO}_2^\bullet$, $\text{CO}_3^{\bullet-}$, $\text{RO}_2^\bullet$, $\text{RO}^\bullet$ y, en menor medida, con H_2O_2 (Halliwell y Gutteridge, 2007; p. 148).

Coenzima Q

Forma parte esencial de la cadena transportadora de e- mitocondrial, donde se somete constantemente a reacciones de oxidación y reducción, formando un producto intermedio reactivo, la ubisemiquinona. *In vitro*, la forma reducida, el ubiquinol, puede inhibir la peroxidación de ácidos grasos y eliminar radicales sulfuro, sin embargo *in vivo* su capacidad antioxidante es controvertida (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp. 155).

Ácido ascórbico (vitamina C)

A diferencia de las plantas y de ciertos animales, el organismo humano necesita obtener ácido ascórbico a partir de la dieta. Tras su absorción intestinal por gradiente de Na^+ , la vitamina C pasa al plasma, medio en el que viaja hasta llegar a las células, en las que se introduce por medio de transportadores de glucosa.

Se han descrito numerosas funciones de la vitamina C:

- a) Es cofactor de diversas enzimas como las implicadas en la síntesis del colágeno y de la enzima dopamina- β -hidroxilasa que interviene en la síntesis de noradrenalina a partir de dopamina. El déficit de esta vitamina causa escorbuto.
- b) Es un antioxidante que actúa como agente reductor. Interacciona con $O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$, radicales $GS^{\bullet}$ y con el ácido hipocloroso; y además es sustrato de la enzima ascarbato peroxidasa, encargada de eliminar H_2O_2 . Durante este proceso de reducción-oxidación se produce semidehidroascorbato y dehidroascorbato, moléculas con poca capacidad reactiva pero que, en presencia de hierro o de cobre, favorecen la síntesis de $\bullet OH$ y se convierten en pro-oxidantes (Halliwell, 1999). En esta situación, en los fluidos biológicos, el ácido úrico da estabilidad a la molécula mediante su unión a iones hierro y cobre (Sevanian *et al.*, 1990).
- c) Es regenerador de α -tocoferol (Niki *et al.*, 1995).
- d) Estimula el sistema inmune (Bendich, 1990).

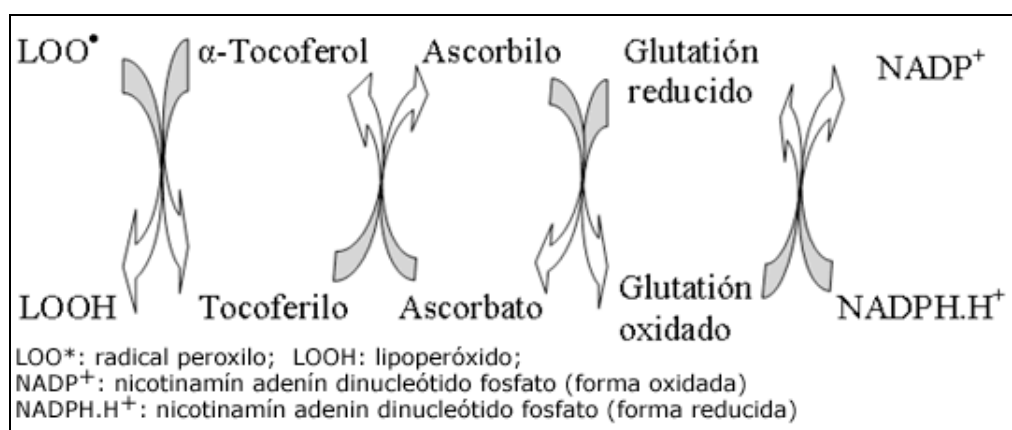
α -tocoferol (vitamina E)

Es una vitamina liposoluble que procede de la dieta. En el intestino se absorbe como quilomicrones, que en su mayor parte son utilizados por el hígado para sintetizar VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*), que se secreta al plasma. Por lo tanto, las lipoproteínas VLDL distribuyen el α -tocoferol por el organismo.

La célula adquiere la vitamina E de los quilomicrones, VLDL, LDL (*Low Density Lipoprotein*) y de otras lipoproteínas del torrente sanguíneo. Pasan al interior de las organelas celulares por medio de transportadores intracelulares de proteínas y se localiza en las membranas (especialmente en la mitocondrial), donde ejerce su principal acción antioxidante. El α -tocoferol inhibe la peroxidación lipídica, debido a su capacidad de eliminar radicales peróxido ($RO_2^{\bullet}$), antes de que reaccionen con

los ácidos grasos adyacentes o con proteínas de membrana. En este proceso se forma radical tocoferilo ($\alpha\text{-Toc}\bullet$), capaz de interactuar con $\text{RO}_2\bullet$ para formar un producto que carece de capacidad reactiva.

Figura 4. Regeneración del α -tocoferol mediante el ácido ascórbico



(Figura tomada de Céspedes y Castillo, 2008)

Carotenos

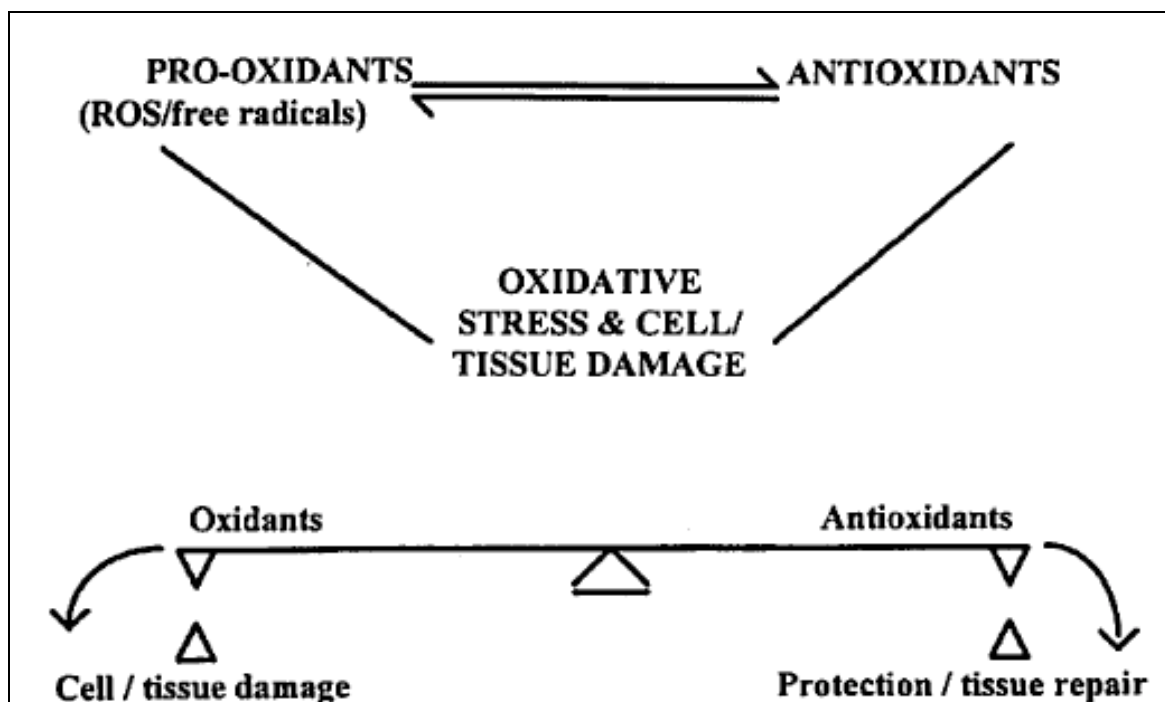
Los carotenos son precursores de la vitamina A (tal transformación tiene lugar en la mucosa del intestino delgado). Se proceden de la dieta y su absorción en el tracto intestinal es incompleta y dependiente del resto de alimentos ingeridos y del modo de preparación de los mismos.

Son hidrofóbicos e insolubles en agua, debido a lo cual se absorben como quilomicrones y se distribuyen por el plasma a los tejidos, igual que hace el α -tocoferol. En estudios *in vitro*, la vitamina A puede eliminar algunos radicales libres mediante la transferencia de e^- , aunque en estudios *in vivo* los datos son contradictorios (Koekkoek y Zanten, 2016). En este proceso de eliminación de especies reactivas, se forman radicales intermedios ($\text{Car}\bullet$) que se estabilizan por la deslocalización de un e^- a partir del O_2 o por la interacción con otro radical libre. Sin embargo, los productos intermediarios también pueden propagar la peroxidación lipídica en situaciones de elevada concentración de O_2 (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp. 174-179).

1.4. EL ESTRÉS OXIDATIVO

Cuando hablamos de estrés oxidativo, nos referimos a aquella situación en que la capacidad del organismo para producir radicales libres es mayor a la que poseen para frenarla o para reparar las biomoléculas dañadas (Halliwell y Gutteridge, 2007; p. 187). Esta circunstancia se produce cuando se da alguna de las siguientes situaciones: a) producción excesiva de radicales libres (exposición excesiva a O_2 ; determinadas toxinas; o situaciones naturales de síntesis excesiva como en la enfermedades inflamatorias crónicas); b) capacidad antioxidante insuficiente; c) liberación de metales de transición; y d) una combinación de cualquiera de los mecanismos señalados (Halliwell, 2012).

Figura 5. Esquema del estrés oxidativo



(Figura tomada de Chapple, 1997)

1.4.1. Consecuencias del estrés oxidativo

En función de la severidad del estrés oxidativo y del tipo celular alterado, la célula puede responder de diferentes modos (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp. 188-191):

- a) Se activa la proliferación celular. Este efecto ha sido observado en células en cultivo donde bajas concentraciones de radicales libres estimulan la proliferación celular (Pani *et al.*, 2000). Este proceso podría estar implicado en los procesos de aterosclerosis, de angiogénesis y de fibrosis.
- b) Se adapta. Hay un incremento de los distintos mecanismos defensivos celulares, como las enzimas antioxidantes.
- c) Se produce un daño celular. Los radicales atacan distintos componentes celulares y se produce un daño en la estructura celular (los radicales libres atacan las moléculas de ADN, los lípidos y/o las proteínas).
- d) La senescencia. Una elevada concentración de radicales libres desencadena la entrada en la senescencia, un estado de supervivencia sin duplicación celular.
- e) La muerte celular. Ante el daño celular causado por el ataque de los radicales libres, en la célula se producen tres situaciones: se activan los mecanismos de reparación; se entra en el estado de senescencia, de supervivencia con las lesiones y sus consecuencias; y, cuando el daño es muy importante e implica al ADN, se activa la apoptosis celular.

1.4.2. La apoptosis y necrosis celular

La necrosis es un fenómeno pasivo, sin gasto de energía en su inicio. Se caracteriza por una alteración de los orgánulos, la aparición de edema citoplasmático y la pérdida de integridad de la membrana plasmática hasta producirse su ruptura. En ese momento hay una liberación del contenido celular y una afectación de las células adyacentes. Además el material liberado intracelular es quimioatrayente, por lo que se desencadena un proceso de inflamación (Vega, 2014; pp. 140-141).

La apoptosis o “muerte celular programada” es un mecanismo activo y fundamental para mantener la homeostasis celular. Su puesta en marcha implica la activación de la vía intrínseca, dependiente de ROS y/o la vía extrínseca (Vega, 2014; pp. 141-144).

Durante la apoptosis se producen una serie de eventos sincronizados: la activación de caspasas, el colapso del citoesqueleto, la contracción y condensación de la cromatina y la ruptura del núcleo. Estos eventos terminan en la fragmentación de la célula y la formación de cuerpos apoptóticos. Estos cuerpos apoptóticos son fagocitados por las células adyacentes y los macrófagos del medio extracelular, sin desencadenar un proceso inflamatorio acompañante. El reconocimiento por macrófagos y células adyacentes se realiza gracias a la presencia de señales tipo fosfatidil-serina en su superficie (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp. 199-207).

La apoptosis se activa por medio de diversos mecanismos distintos, pero depende fundamentalmente de la activación de las proteínas de la familia de las caspasas. La unión de ligandos a receptores extracelulares de muerte, termina en la activación de las caspasas. Estos ligandos incluyen a miembros de la familia TNF, cuya unión con el receptor genera una modificación en la parte citoplasmática del mismo, que termina en la activación de las caspasas. Hay caspasas encargadas de iniciar y efectuar la apoptosis, entre estas se incluyen la caspasa encargada de fragmentar el DNA, enzimas que remodelan el citoesqueleto o activan otras proteínas que contribuyen al proceso.

El daño en la mitocondria es otro mecanismo desencadenante de la apoptosis. Este daño conlleva un aumento de permeabilidad de la membrana mitocondrial y la liberación de su contenido al citoplasma celular, que termina en la activación de las caspasas. Entre el contenido mitocondrial liberado destacan el citocromo C, el factor inductor de apoptosis (AIF) y la proteína SMAC (activadora de caspasas). Las proteínas de la familia Bcl-2 regulan el potencial de membrana de la mitocondria. Son capaces de inducir o inhibir canales iónicos y alterar de este modo el potencial de membrana. Por último, la alteración del potencial de membrana desencadena la liberación de los factores proapoptóticos del interior mitocondrial. La mitocondria

también contiene factores inhibidores de la apoptosis, como Bcl-2; y el equilibrio entre los mismos controla el desencadenamiento de la apoptosis por parte de la mitocondria (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp. 199-207).

Un tercer agente capaz de activar la apoptosis es la perforina liberada por las células *natural killers*, agente cuya introducción en la célula activa las caspasas y las proteínas proapoptóticas mitocondriales (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp. 199-207).

El estrés oxidativo puede modular el proceso de activación de las caspasas. La elevada concentración de $O_2^{\bullet-}$, que se acompaña de elevación del pH citosólico, detiene la activación de las mismas, mientras que el H_2O_2 activa el proceso, al causar daño en la mitocondria y descender en el pH citosólico. Este cambio en el pH celular está producido por la interacción de los radicales libres con los mecanismos reguladores del potencial de membrana (Hampton *et al.*, 1998). Por lo tanto, estamos ante un estrecho equilibrio (Teoh *et al.*, 2005).

En ocasiones, también el estado oxidativo celular también puede desencadenar la apoptosis. Los radicales libres alteran la permeabilidad de la membrana mitocondrial, lo que favorece la liberación de los agentes proapoptóticos. En condiciones de estrés oxidativo, la proteína p66 citosólica puede migrar al interior mitocondrial y estimular la síntesis de radicales libres, a través de su interacción con el citocromo C (Giorgio *et al.*, 2005), aunque este mecanismo de acción de p66 no se ha comprobado todavía (Andreyev *et al.*, 2015).

Por lo tanto, el estrés oxidativo puede contribuir a la muerte celular y los antioxidantes enlentecen el proceso. Por el contrario, cuando en la célula hay una baja concentración de GSH, se activa la enzima esfingomielinasa, que hidroliza los esfingolípidos de la membrana y libera ceramida. Este lípido que es capaz de activar diversos mediadores del proceso de apoptosis celular (Singh *et al.*, 1998).

A pesar de todo, se puede afirmar además que los ROS son esenciales para otras funciones además de la apoptosis. En función de la línea celular, o bien

desencadenan la apoptosis o bien tienen una acción antiapoptótica y estimulan la proliferación celular (Sesti *et al.*, 2012).

1.4.3. La comunicación intracelular

Las células disponen de importantes sensores que detectan radicales libres y estimulan la síntesis de factores de transcripción (AP-1, Nrf2, CREB, HSF1, NF-κB, entre otros), que determinan la expresión de genes requeridos para la desintoxicación de las moléculas oxidadas, para la reparación de moléculas dañadas y para el mantenimiento de la homeostasis celular (Kurutas, 2016).

Nrf2

La activación del factor de transcripción Nrf2 aumenta la síntesis de enzimas antioxidantes y de enzimas con actividad de desintoxicación, mediante su unión a regiones ARE (*Antioxidant Response Element*) del ADN. Recientemente se ha podido observar que en la activación de estas regiones moduladoras del promotor, junto a Nrf2, otras proteínas, como PKC y fosfatidil-inositol-3-kinasa, juegan también un papel importante (Kurutas, 2016) .

Se puede decir que Nrf2 es uno de los principales mecanismos de reducción del estrés oxidativo y de la inflamación crónica, aunque en ocasiones no suficiente. Se necesita el incremento de la acción de Nrf2, que produce un aumento de enzimas antioxidantes, junto al aumento de antioxidantes extraídos de la dieta (Kurutas, 2016).

La proteína Nrf2 está inhibida por su unión a la proteína citosólica Keap 1 (sensor del estado oxidativo celular) que en condiciones de homeostasis secuestra y anclara al factor de transcripción al citoplasma, e incluso puede promover su degradación por el proteosoma (McMahon *et al.*, 2003). Sin embargo, en condiciones de estrés oxidativo y de elevadas concentraciones de compuestos electrofílicos, Keap 1 es

oxidado y se disocia de Nrf2, que pasa al interior del núcleo y allí activa la síntesis de enzimas antioxidantes y proteínas desintoxicantes (Nguyen *et al.*, 2005).

NF- κ B

Es un dímero proteico que activa la transcripción de múltiples genes responsables de la respuesta inflamatoria, de la proliferación, de la supervivencia celular y de la apoptosis (Lawrence *et al.*, 2005; Kurutas, 2016). Entre los genes sintetizados se encuentra la enzima antioxidante SOD2 (Kamata *et al.*, 2005).

En condiciones normales, la proteína NF- κ B está secuestrada en el citoplasma por la unión con la proteína inhibitoria I- κ B. Diversos estímulos activan la disociación de esta unión y la activación de NF- κ B. I- κ B, una vez libre, es ubiquitinado y degradado por el proteosoma; y la activación de NF- κ B será la señal para su resíntesis.

Los radicales libres actúan como segundos mensajeros de casi todos los estímulos que activan de la proteína NF- κ B. Por ello, la sobreexpresión de determinadas enzimas como GPx o la adición de distintos antioxidantes pueden inhibir la proteína. Por ejemplo, N-acetil-cisteína aumenta la concentración de GSH e inhibe la proteína NF- κ B (Hayakawa *et al.*, 2003).

Después de su activación, NF- κ B se une al DNA, proceso que puede ser detenido por el exceso de radicales libres.

AP-1

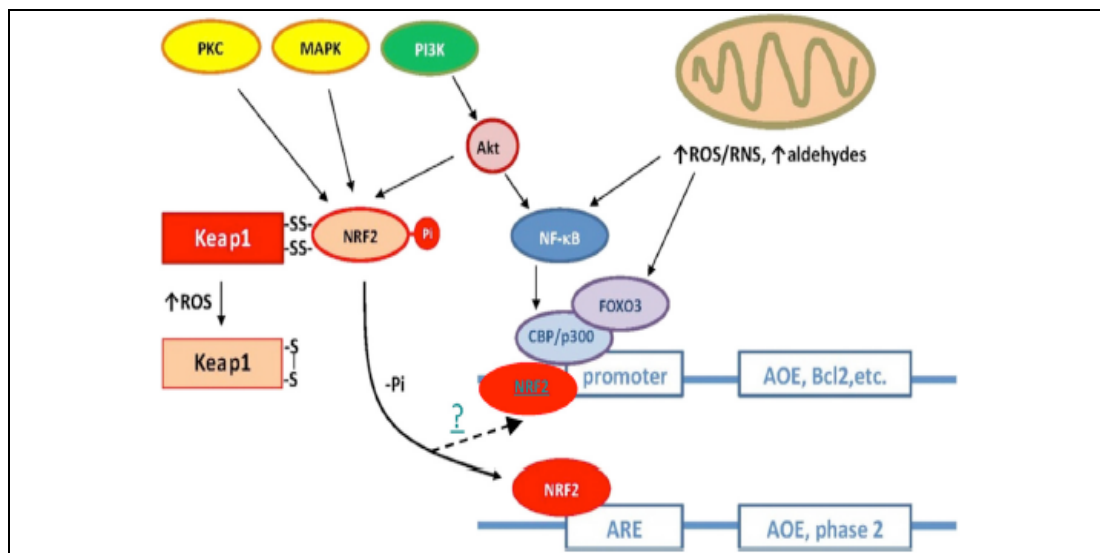
AP-1 es un heterodímero formado por los productos de 2 proto-oncogenes c-fos/c-jun. Regula diferentes procesos celulares, como la proliferación, la apoptosis, la supervivencia y la diferenciación celular, y modula la expresión génica de distintos genes relacionados con la respuesta inflamatoria (Karin *et al.*, 1997).

Su activación se regula a nivel transcripcional, post-transcripcional (actuando sobre dianas citoplasmáticas) y postduccional (mediante estabilización del ADN

mensajero) mediante la fosforilación de sus subunidades en condiciones de estrés oxidativo gracias a la acción de las proteínas-quinasas MAPK. Se inhibe cuando existe una elevada concentración de agentes reductores en el interior celular (Pavlovic *et al.*, 2002). La unión de AP-1 al dominio de ADN también está regulada por un mecanismo redox. La oxidación de residuos cisteína de Jun y Fox disminuye la unión de AP-1 al ADN, que sin embargo puede ser compensada por la proteína reparadora de ADN Ref-1, que funciona conjuntamente con el antioxidante tioredoxina (Shaulian y Karin, 2002).

Los tres mecanismos descritos funcionan de modo coordinado. Cuando en el organismo se produce un estado oxidativo de intensidad moderada, se activan únicamente NF- κ B, AP-1 y el sistema de kinasas MAPK con lo que se contrarresta este incremento de radicales libres. Cuando la intensidad del estado oxidativo celular es mayor, el daño celular se minimiza a través de la activación de la vía Nrf2/Keap-1 (Kurutas, 2016).

Figura 6. Mecanismo de señalización intracelular



(Figura extraída de Kurutas, 2016)

p53

También denominado “supresor celular”, p53 protege las células de la génesis tumoral gracias a su función de iniciación de la apoptosis, cuando se produce un daño celular importante. En situación de estrés oxidativo de intensidad baja, la concentración de p53 también está reducida, señal que induce la expresión de genes antioxidantes. Sin embargo, la elevada concentración de p53 favorece la expresión de genes prooxidantes y media los procesos apoptosis celular (Sablina *et al.*, 2005).

1.4.4. El daño causado por el estrés oxidativo

En situaciones de estrés oxidativo, los radicales libres se encuentran en suficiente concentración como para atacar diferentes componentes del organismo.

Lípidos

El principal constituyente de las membrana de las células y de los orgánulos son los lípidos y las proteínas; ambas moléculas desempeñan funciones de gran importancia para el mantenimiento de la homeostasis celular. Entre los lípidos, los fosfolípidos, los esfingolípidos y el colesterol son los principales constituyentes de la membrana plásmática, mientras que en la membrana mitocondrial hay también concentraciones importantes de cardiolipina. En la membrana plasmática, hay también cadenas glucídicas unidas a los lípidos y a las proteínas.

La peroxidación lipídica se inicia por oxidación de los lípidos de cadena larga (PUFA, formados por una cadena carbonada unida a un ácido carboxílico) por especies reactivas del exterior celular. En función de la especie reactiva que interacciona con los estos ácidos grasos, se producen reacciones de oxidación, de halogenación y/o de nitrificación.

A partir de esta primera reacción se forman radicales carbono, que en condiciones de elevada concentración de O_2 dan lugar radicales peroxil ($ROO\bullet$). Ambas moléculas (inestables) reaccionan a su vez con otros ácidos grasos hasta formar hidroperóxidos lipídicos ($ROOH$), que se descomponen en otros radicales libres y aldehídos. Estos últimos; extienden fácilmente el daño hacia otras partes de la célula(Esterbauer y Zollner, 1989).

La peroxidación lipídica también puede iniciarse a partir de $OH\bullet$ del exterior celular, que ataca la parte hidrofílica de los fosfolípidos, las proteínas de membrana y las cadenas glucídicas (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp. 236-243).

La peroxidación lipídica afecta a la fluidez de la membrana y el daño a las proteínas genera la inactivación de enzimas y de canales iónicos. De este modo, la membrana pierde su función de filtro y pasan distintas sustancias que generalmente se encuentran en muy baja concentración en el interior celular.

Los productos más estudiados, derivados de la peroxidación lipídica, son los isoprostanos, los productos derivados de la oxidación del colesterol y los productos de descomposición de los peróxidos (por calor o interacción con metales de transición), como son el malondialdehído (MDA) y el 4-hidroxi-2-nonenal (HNE). MDA y HNE pueden interaccionar y dañar las proteínas y el ADN (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp. 255-257).

ADN

El ADN puede sufrir daño directo por el ataque de radicales libres sobre las purinas, las pirimidinas (dando lugar por ejemplo a 8 hidroxiguanina) o las bases de desoxirribosa (8-hidroxi-2-deoxiguanosina, 8OHdG). Pero también puede sufrir daño de modo indirecto; este procede de los errores generados en la duplicación del ADN, cuando al inicio de la replicación distintas alteraciones en la cadena de ADN no han sido sustituidas. Las polimerasas reemplazan las moléculas dañadas del ADN, pero su funcionamiento no es perfecto y su actuación conlleva una aumentada tasa de mutaciones y alteraciones en la doble hélice; por ejemplo, los

residuos de 8-nitroguanina y 8-OH-guanina, formados por acción de los radicales libres sobre las bases nitrogenadas, pueden generar la aparición de transversiones (sustitución de una purina, citosina o timina; por una pirimidina, guanina o adenina) en la molécula de ADN (Halliwell y Gutteridge, 2007; p. 230).

Figura 7. Moléculas producidas a consecuencia del daño oxidativo

Table 1. Consequences of ROS/RNS at a Cellular Level and the Molecules to Measure Them	
Damaged Targets	Parameters That Indirectly Allow Quantification of ROS/RNS
Fatty acids	MDA and TBARS Omega-3 fatty acids 8-iso-Prostaglandin F2α 4HNE
Proteins	Nitrotyrosine
DNA	8-OHdG
Molecules of Origin	Determination of Autoimmune Reactions Against Neopeptides
Fatty acids	IgG antibodies against oxidized LDL IgM against OSEs (phosphatidylinositol and oleic, palmitic, and myristic acid)
Proteins	IgM against NSEs (NO-tyrosine, NO-tryptophan, and NO-albumin)
Abbreviations: DNA = deoxyribonucleic acid; 8-OHdG = 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; 4HNE = 4-hydroxynonenal; IgG = immunoglobulin G; IgM = immunoglobulin M; LDL = low-density lipoprotein, MDA = malondialdehyde; NSEs = nitrosative-specific epitopes; OSEs = oxidative-specific epitopes; ROS/RNS = reactive oxygen species/ reactive nitrogen species; TBARS = thiobarbituric acid reactive substances.	

(Figura tomada de Jiménez-Fernández *et al.*, 2015)

Los productos de la degradación de los ácidos grasos (MDA, HNE) generan mutaciones al introducirse en el interior de la doble hélice de ADN; tienden a acumularse en determinados puntos, generalmente en aquellos donde los radicales libres o para las enzimas de reparación tienen mayor acceso para (Moraes *et al.*, 1990).

El ADN es bastante estable, pero puede sufrir, espontánea pero lentamente, reacciones de descomposición que son aceleradas por el estado oxidativo. No todos los radicales libres pueden dañar el ADN. En condiciones normales O₂•⁻, NO•, H₂O₂ y los peróxidos no reaccionan de modo significativo con las bases nitrogenadas o con la desoxirribosa, aunque O₂•⁻ y NO• pueden reaccionar con los

radicales que se han formado tras la interacción del ADN con ROS más agresivos (Halliwell y Gutteridge, 2007; p. 222).

El ADN mitocondrial también puede sufrir el daño de los radicales libres. De hecho, es más susceptible que el ADN nuclear por su proximidad con la fuente generadora de ROS, y debido a que no está protegido por histonas (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp. 229-230). Además, los mecanismos de reparación del ADN mitocondrial son menos rápidos que los del ADN nuclear, por lo que el estrés oxidativo podría contribuir a la acumulación de mutaciones y deleciones a nivel del ADN mitocondrial, que se producen con la edad. Como sucede con el ADN nuclear, las mutaciones se acumulan en puntos de mayor acceso y se considera que determinadas bases oxidadas impiden el funcionamiento de la enzima DNA polimerasa, con la consiguiente génesis de deleciones, o bien que la oxidación de la propia enzima polimerasa disminuye su capacidad para actuar con precisión (Graziewicz *et al.*, 2002).

Proteínas

Las proteínas pueden ser atacadas directamente por ROS y bien por los productos de degradación de los lípidos. Como consecuencia, se altera el funcionamiento de distintos receptores, anticuerpos, proteínas de transducción y de transporte, y de distintas enzimas. En condiciones fisiológicas, $O_2^{\bullet-}$, $NO^{\bullet}$, H_2O_2 , interaccionan mínimamente con las proteínas, pero H_2O_2 sí que puede oxidar fácilmente grupos $-SH$ (y, por ejemplo, activar las caspasas, que poseen un grupo $-SH$).

Los radicales libres pueden atacar a los diferentes aminoácidos y dan lugar a productos de carbonilación, de nitrificación de proteínas o de unión cruzada proteína-proteína. En ocasiones, el daño ocasionado en la proteína es reversible, pero en otras muchas el daño es irreversible (como cuando se alteran las cadenas de carbono), y en ese caso la proteína debe ser destruída o reemplazada. Mediante técnicas de proteómica se ha podido observar que muy pocas proteínas se encuentran dañadas en condiciones de estrés oxidativo (Halliwell y Gutteridge, 2007; p. 261).

Como ya se ha dicho, el daño en determinadas proteínas puede alterar el metabolismo iónico, lo que tiene consecuencias devastadoras para el funcionamiento celular. Los radicales libres atacan y alteran las proteínas formadoras de los canales transportadores de iones (Matalon *et al.*, 2003) y las proteínas encargadas de mantener el gradiente celular, como la bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPasa (Chakraborty *et al.*, 2003); y en consecuencia, se altera el volumen celular y se activan diferentes eventos metabólicos. Por ejemplo, la entrada masiva de Ca^{2+} al interior de la célula, cuando debería mantenerse a baja concentración por la oxidación de canales voltaje dependiente o por activación de canales inespecíficos (Halliwell y Gutteridge, 2007, p. 193), conduce a la alteración del citoesqueleto y a la formación de bullosidades en la membrana celular y a activación de la fosfolipasa A_2 . Esta enzima a partir de los fosfolípidos de membrana, sintetiza y libera ácido araquínódico, implicado en la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos y en la activación de endonucleasas (que fragmentan el ADN) y de transglutaminasas (que unen proteínas y las hacen resistentes a la proteólisis).

1.4.5. Los mecanismos de reparación

Los sistemas de reparación previenen la acumulación en el interior celular de moléculas dañadas, generadas por las especies reactivas en estado de estrés oxidativo y evitan, el desencadenamiento de la apoptosis celular.

Existe una gran variabilidad entre los distintos individuos en la concentración de productos formados por la oxidación de los ácidos grasos o del ADN. Estas diferencias pueden deberse a características externas, como es la dieta o, pueden ser debidas a variantes genéticas en los mecanismos de eliminación o de reparación de este daño (Fan *et al.*, 1999).

Reparación del ADN

La doble hélice de ADN puede sufrir daño en una única cadena o en ambas hebras; y en función de ello, se pondrán en marcha distintos mecanismos de reparación.

Las lesiones de cadena única

Estos mecanismos de reparación se encargan de eliminar 8OHdG de manera rápida, debido al importante potencial mutagénico de esta molécula (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp. 230-232). Existen distintos modos de hacerlo:

- a) Las células poseen una enzima encargada de revertir la metilación de la guanina (Christmann *et al.*, 2011). También el GSH es capaz de reparar el daño generado en el ADN por medio del ataque de las nuevas especies reactivas formadas tras interacción de los radicales libres con el ADN (Halliwell y Gutteridge, 2007; p. 233).
- b) Las células poseen la proteína MTH1 (*Mut homologue 1*), que reconoce y destruye a la molécula de deoxiguanosina trifosfato oxidada (dGTP) contenida en 8OHdGTP; y también previene su incorporación al ADN durante la replicación (Ishibashi *et al.*, 2003).
- c) Hay dos mecanismos de reparación considerados como los más importantes (Dutta *et al.*, 2015). El primero, denominado reparación por escisión de base (BER), consiste en que una enzima escinde la base nitrogenada del nucleótido dañado y repara el daño ocasionado en ese único nucleótido (Christmann *et al.*, 2003). Un segundo mecanismo es el llamado reparación por escisión de nucleótido (NER), por el cual se reparan los daños ocurridos en cadenas largas y se contribuye a la eliminación de lesiones del ADN (Kuraoka *et al.*, 2000).
- d) Cuando la replicación ya se ha producido, se produce la reparación del mal pareamiento o *mismatch*, que consiste en la corrección de errores de nucleótidos mal apareados pero no dañados (Christmann *et al.*, 2003).

Las lesiones de doble hélice

La célula ha desarrollado dos mecanismos de reparación:

a) La reparación de recombinación homóloga

Requiere la presencia de una secuencia idéntica, de un cromosoma homólogo o una cromatida hermana tras la replicación, que es utilizada como molde. La hebra dañada es completada por una polimerasa. También hay varias proteínas que verifican el proceso y reparan las bases mal apareadas (Spies y Fishel, 2015).

b) La recombinación no homóloga o unión de extremos no homólogos,

Los extremos dañados son directamente ligados sin necesidad de un molde homólogo y, por lo tanto, es un sistema propenso a errores. Hay dos proteínas implicadas en este proceso: la proteína-kinasa ADN dependiente, que reconoce terminaciones de ADN libres y activa las proteínas que se encargan de su reparación; y la proteína Ku, que enlaza la doble hélice (Espejel *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2014)

Reparación de los lípidos

Los lípidos oxidados por los radicales libres pueden ser eliminados por la enzima fosfolípido-hidropéroxido-glutation-péroxidasa, GHGPx (Brigelius-Flohé, 1999), o bien pueden ser separados de la membrana por la fosfolipasa A₂ para posteriormente ser reducidos por una enzima de la familia de la GPx. Los plasmalógenos son fosfolípidos que contienen una colina o una etanolamina y que pueden actuar como antioxidantes de membrana. Las células con bajo contenido en plasmalógenos son más susceptibles al daño generado por las especies reactivas, debido a que estos fosfolípidos detienen la propagación de la peroxidación lipídica tras ser ellos mismos atacados por los radicales libres (Engelmann, 2004).

Por otro lado, la enzima lecitín-colesterol-acil-transferasa (LCAT) que se encuentra en la HDL parece contribuir a la reducción de fosfatidilcolina hidropéroxido a alcohol durante la formación de HDL (Halliwell and Gutteridge, 2007; p. 259).

En último lugar, aunque no por ello menos importante, se encuentran las poliaminas, moléculas de naturaleza policatiónica que podrían proteger la célula de los efectos causados por el estrés oxidativo, al evitar la síntesis de especies reactivas por unión con los metales de transición (Pegg, 2016).

Reparación de las proteínas

Los residuos metionina de la superficie de las proteínas son capaces de eliminar radicales libres tras ser oxidados por la especies reactivas. Se debe a que el producto resultante, los residuos de metionina oxidada, son reciclados por la enzima metionina-sulfoxido-reductasa (MSR) y, de este modo, estos residuos de metionina desempeñan un papel en el mantenimiento del equilibrio redox (Dos Santos *et al.*, 2017).

Cuando el daño producido en varios aminoácidos termina en la alteración de la conformación de la proteína, esta termina degradada en el retículo endoplasmático celular, debido a que su acumulación en el interior celular ocasiona la muerte de la célula. Sin embargo, las proteínas excesivamente oxidadas pueden formar agregados insolubles y de este modo resistir la proteólisis (Halliwell and Gutteridge, 2007; p. 265).

El proteosoma es el mecanismo de mayor relevancia para eliminar las proteínas dañadas, aunque existen varios mecanismos distintos en el interior celular. El proteosoma es un complejo macromolecular que se sitúa en el citoplasma y el núcleo de las células y se encarga de degradar proteínas de un modo selectivo. Las proteínas, para ser eliminadas, tienen que estar asociadas al complejo de señalización de ubiquitina mediante un proceso de ubiquitinación ATP-dependiente (Halliwell, 2001). Un mal funcionamiento de este complejo daría lugar al aumento de residuos proteicos hidrofóbicos en el interior celular, que se conocen como placas amiloideas, muy habituales en numerosas enfermedades neurodegenerativas (Im y Chung, 2016).

1.5. EL ESTRÉS OXIDATIVO Y LA INFLAMACIÓN

La inflamación se produce como una respuesta del organismo a una lesión tisular, bien sea mecánica, química o infecciosa; y depende de la respuesta humoral y celular. Tiene como consecuencia minimizar el daño, adaptar el organismo a circunstancias anormales y restablecer la homeostasis; sin embargo, cuando los mecanismos reguladores/inhibidores son deficientes, se produce una situación de enfermedad inflamatoria crónica (Vega, 2014; p. 50).

En su etapa inicial, ocurren cambios en la microcirculación que permiten el paso de proteínas plasmáticas y leucocitos de la sangre a los tejidos. Estos cambios involucran a distintas moléculas de adhesión, selectinas, integrinas y proteínas de la superfamilia de las inmunoglobulinas, que favorecen la adherencia celular, el rodamiento y la trans migración (Vega, 2014; p. 51). En el lugar de la inflamación se activan las células inflamatorias, principalmente células fagocíticas que inician el estallido respiratorio. En este proceso se consumen grandes cantidades de O₂, a través de la ruta de las pentosa-fostato y se liberan grandes cantidades de radicales libres, que atacan al agente agresor (García Triana *et al.*, 2001). En el lugar de la inflamación también se activan enzimas y otros mediadores químicos, como ecosanoides, factores del complemento y óxido nítrico.

Al inicio del proceso, las células reconocen patrones moleculares PAMPs (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*) y DAMPs (*Damage-Associated Molecular Pattern*) gracias a receptores celulares tipo *Toll* (TLR), receptores intracelulares PRR (*Pattern-Recognition Receptors*) y receptores para compuestos de glicosilación avanzada (*RAGE*) (Bierhaus *et al.*, 2005; Vega, 2014 p. 50) y activan los factores de transcripción NF-κB y AP-1. De este modo, se sintetizan distintos antioxidantes y se estimulan los genes encargados de regular la respuesta inflamatoria (Tabas y Glass; 2013; Vega, 2014,). Concretamente, NF-κB/AP-1 activan y regulan la expresión génica de genes que codifican citoquinas, quemoquinas y moléculas de adhesión e inducen, y también media el fenómeno de tolerancia inmunológica

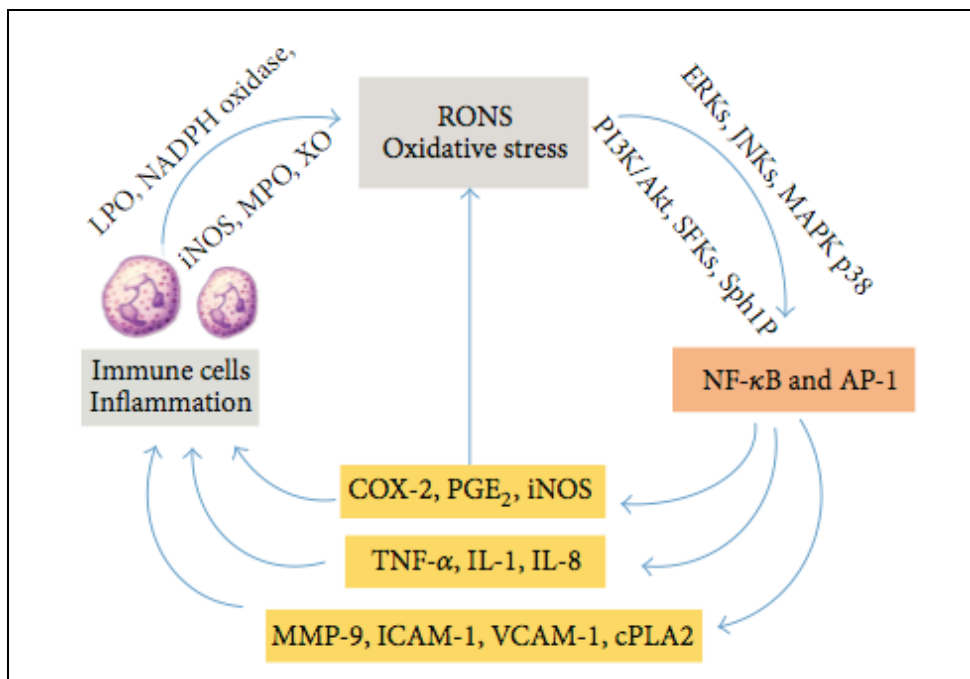
mediada por TNF (Günter *et al.*, 2014). Por otro lado, la activación de receptores TLR y RAGE estimula la producción de ROS que, tras dañar el ADN, promueve el proceso de inflamación, a la vez que favorece la síntesis de mediadores anti-inflamatorios por activación de los factores de transcripción; como resultado, se produce un desequilibrio entre las citoquinas pro y anti-inflamatorias (Lavieri *et al.*, 2014).

Los radicales libres y los productos de degradación por acción de los radicales libres activan de receptores NLR y juegan un papel importante en la activación de inflamasoma (Zhou *et al.*, 2011). El inflasoma es un complejo multiproteico unido a la proteína ASC (*Apoptosis-associated Speck-like protein ontaining a Caspase activation and recruitment domain*) y a la caspasa-I, la cual se activa e induce la síntesis y liberación al torrente sanguíneo de citoquinas pro-inflamatorias (Vega, 2014; p.50). Las especies reactivas también pueden alterar el sistema inmune al interaccionar con las distintas inmunoglobulinas. Por acción directa, las hacen más susceptibles de ser destruidas (Hitchon y El-Gabalawy, 2004). Las lesiones moleculares causadas por radicales libres, dan lugar a nuevos auto-antígenos que exacerban la respuesta inmune (Xie *et al.* 2016), y a distintas moléculas derivadas del daño oxidativo, como son los aldehídos, que pueden inhibir la síntesis de proteínas que intervienen los mecanismos de quimiotaxis y de reconocimiento antigénico (Fleischer, 1983).

Sin embargo, y en contra a lo expuesto hasta ahora, los ROS también pueden ejercer como moduladores del sistema inmune y evitar el desarrollo de enfermedades crónicas (Holmdahl *et al.*, 2016). En el espacio intercelular, la respuesta inflamatoria está regulada por distintos mecanismos redox, debido a que la correcta presentación de antígenos por el CMH-II precisa de un ambiente rico en H₂O₂ (Gardiner *et al.*, 2013).

Se observa de este modo la estrecha interrelación que existe entre el estrés oxidativo y la inflamación. A pesar de que siempre uno aparece antes, indiscutiblemente el siguiente tiene mayor probabilidad de aparecer implicado en el proceso (Biswas, 2016).

Figura 8. Relación entre el estrés oxidativo y el sistema inmune



(Figura tomada de Sallam y Laher, 2016)

1.5.1. Las citoquinas

Son péptidos, proteínas o glicoproteínas producidas *de novo*, tras la activación celular, por casi todas las células del organismo. Funcionan como mediadores solubles de la actividad biológica y desempeñan sus múltiples funciones por medio de receptores celulares y la inducción de cambios en la expresión genética (Vega, 2014; pp. 130-138).

A menudo se producen como respuesta al estrés oxidativo y actúan, en parte, generando una situación de estrés oxidativo en sus células diana. Por ejemplo, algunas citoquinas se sintetizan por activación de NF-κB y este puede activar la síntesis y liberación de citoquinas. Por otro lado, las citoquinas anti-inflamatorias regulan la inflamación y el equilibrio oxidativo celular (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp 218-220). A continuación se tratará brevemente la función de las citoquinas más importantes, por su relación con el estrés oxidativo.

TNF α

Es una citoquina proinflamatoria; por lo tanto, favorece la síntesis y liberación ROS (por activación de células fagocíticas) a la vez que activa iNOS en las células dianas y sus adyacentes. Además, es un importante activador de NF- κ B.

La función de TNF α es controvertida. Por un lado, el aumento de ROS inducido por TNF α podría desencadenar la muerte celular (Hughes *et al.*, 2005), a la vez que ejerce una función protectora al aumentar los niveles de enzimas antioxidantes y de otras proteínas de defensa (Kamata *et al.*, 2005; Lawrence *et al.*, 2005).

Interleuquinas (Halliwell y Gutteridge, 2007, p. 193).

La IL-1 (IL-1 α e IL-1 β) son generalmente proinflamatorias y se sintetizan por distintos tipos celulares (linfocitos, macrófagos, fibroblastos...). Su exceso está implicado en el daño tisular en distintas enfermedades.

La IL-8, es una quimiocina, es decir quimioatrayentes de neutrófilos hacia los tejidos lesionados durante los procesos de inflamación. Producidas por diversos tipos celulares, también están implicadas en las enfermedades inflamatorias crónicas.

La IL-10 suprime la actividad funcional de los macrófagos e inhibe diversas citoquinas proinflamatorias, lo que conlleva una reducción del estado inflamatorio.

1.6. LOS BIOMARCADORES

Según *NIH Biomarkers Definitions Working Group*, un marcador biológico o biomarcador es cualquier característica que puede ser medida y evaluada como función de un proceso biológico normal, patogénico o una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica (Atkinson *et al.*, 2001). Además de ser mensurable, un biomarcador debe poseer un grado suficiente de especificidad-sensibilidad, ser susceptible de análisis estadístico y tener un precio razonable (Sanchez Román *et al.*, 2011).

Los marcadores biológicos tienen su principal uso en evaluación de la eficacia y seguridad en estudios con animales o *in vitro*, aunque también tienen función en la detección y seguimiento del estado de salud, de varios modos: a) como herramienta diagnóstica; b) como estadiaje de enfermedades; c) como indicador de pronóstico; d) como predictor de respuesta terapéutica (Atkinson *et al.*, 2001).

Biomarcadores de estrés oxidativo

Para determinar los radicales libres se dispone únicamente de la resonancia de spin electrónico (RSE), que analiza muestras que contienen un electrón libre en su órbita. Por lo tanto, se detectan especies radicales, moléculas orgánicas y iones de metales de transición. Indirectamente también se pueden determinar los radicales libres, a partir de la huella que estos dejan en el organismo, por medio de los biomarcadores de estrés oxidativo. Estos permiten investigar los efectos de los antioxidantes u otros agentes en el estado oxidativo, a partir de moléculas orgánicas, y hacer predicciones sobre el efecto de los mismos en distintas enfermedades en las que el estrés oxidativo juega un papel relevante (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp. 268-269). Debido a que el estudio de radicales libres mediante RSE tiene aplicaciones limitadas en el estudio de enfermedades, han proliferado las investigaciones centradas en el estudio de los efectos de estos radicales sobre distintas moléculas orgánicas.

Las características de los biomarcadores de estrés oxidativo han sido descritas minuciosamente por Halliwell en su libro monográfico sobre radicales libres (Halliwell y Gutteridge, 2007 pp. 268-269):

1. Criterio fundamental: el biomarcador debe ser capaz de predecir el desarrollo de una enfermedad.
2. Criterio técnico:
 - a) Debe determinar, al menos una parte, del daño oxidativo *in vivo*.
 - b) Para su determinación es necesario usar tecnología validada.
 - c) El coeficiente de variación entre distintas evaluaciones de la misma muestra debe ser pequeño (comparado con la variabilidad entre sujetos o la debida a la manipulación).
 - d) La dieta no debe actuar como factor de confusión.
 - e) Debe mostrarse estable durante la extracción y almacenaje de las muestras.
 - f) Debe ser medido en muestras biológicas fáciles de extraer.

Los biomarcadores de estrés oxidativo aumentan en paralelo al daño oxidativo en diversas enfermedades. Esta correlación es mínima cuando se trata de tejidos sanos, debido a la existencia de un equilibrio entre el daño oxidativo y los mecanismos de reparación.

Entre los biomarcadores de estrés oxidativo que actualmente son objeto de estudio se encuentran enzimas antioxidantes y antioxidantes endógenos no enzimáticos. Destaca la alantoína, que proviene de la oxidación del urato por radicales libres, cuyo uso clínico es prometedor, por la posibilidad de ser determinada en sangre y orina (Halliwell y Whiteman, 2004).

También son objeto de estudio los productos generados por el daño oxidativo (derivados de lípidos, de proteínas y de ADN). El 8OHdG se ha estudiado como marcador de daño en el ADN, pero su uso tiene importantes inconvenientes, tales

como poder oxidarse por interacción con otras especies reactivas. Junto a 8OHdG, se forman también otros productos cuya síntesis está regulada por el estado oxidativo celular. Por lo tanto sería más adecuado determinar simultáneamente esos distintos productos (Halliwell y Gutteridge, 2007 pp. 309-310).

Con respecto a los productos finales del daño de lípidos, se estudian principalmente los aldehídos MDA y HNE, el producto formado en el test TBA (TBARS) y los isoprostanos. Ninguno de ellos es un biomarcador ideal, puesto que entre sus desventajas está el que la concentración de isoprostanos puede verse afectada por la dieta; y la concentración de aldehídos, disminuida por su interacción con las proteínas (Halliwell y Gutteridge, 2007; pp. 319-322). A la hora de elegir, Halliwell opta por la medición de MDA y HNE, entre otras cosas por disponibilidad y bajo coste de la técnica de medición (Halliwell y Gutteridge, 2007; p. 330).

Por último, con respecto a proteínas, no existe ningún aminoácido oxidado que pueda ser estudiado; de hecho, los aminoácidos oxidados proceden a veces de la dieta. Sí se ha desarrollado la técnica de valoración de la carbonilación total de proteínas, aunque existe una importante variabilidad de la técnica entre laboratorios (Halliwell y Gutteridge, 2007; p. 330).

El estudio de biomarcadores en las enfermedades mentales se basa en la necesidad de poder realizar un diagnóstico precoz, monitorización el tratamiento y prevenir las recaídas. Desgraciadamente tal estudio se encuentra todavía en una etapa inicial (Lopresti *et al.*, 2014). En el caso de la depresión, ninguno de los biomarcadores de estrés oxidativo hasta ahora estudiados tiene la suficiente sensibilidad y especificidad para ser usado por sí sólo (Lopresti *et al.*, 2014).

Estudios recientes sí han empezando a ofrecer resultados satisfactorios con el marcador inflamatorio proteína C reactiva (PCR). Como recogen Lopresti *et al.* (2014) en una reciente revisión, este marcador inflamatorio se asocia a aumento del riesgo de hospitalización (Wium-Andersen *et al.*, 2013) y del riesgo de desarrollar un primer episodio depresivo en mujeres (Pasco *et al.*, 2010). Cuando la PCR es mayor de 3mg/L se asocia con un aumento del riesgo de depresión

recurrente en varones (Liukkonen *et al.*, 2006); y el incremento de la PCR junto al descenso de IL-6 se asocia con un mayor riesgo de presentar síntomas depresivos (Valkova *et al.*, 2013).

Con respecto al trastorno bipolar, diferentes estudios han encontrado alteraciones en distintos marcadores inflamatorios y de estrés oxidativo, principalmente durante las fases activas de manía o de depresión. Estos marcadores podrán guiar el desarrollo de nuevos enfoques diagnósticos y terapéuticos (Frey *et al.*, 2013). Aunque en el momento actual ninguno de ellos puede guiar la práctica clínica, sí conducen a implementar la neuroprotección como adyuvante del tratamiento y del control sintomático (Berger *et al.*, 2003).

1.7. EL ESTRÉS OXIDATIVO Y EL DAÑO CEREBRAL

El estrés oxidativo está íntimamente relacionado con las enfermedades neurodegenerativas, debido a que el cerebro es un órgano especialmente sensible a la acción de los radicales libres. El cerebro es tan vulnerable por las siguientes razones (Halliwell and Gutteridge, 2007; pp. 570-590):

a) El consumo de oxígeno

A pesar de su pequeño tamaño, el cerebro consume un 20% del oxígeno total del organismo, debido a que las neuronas necesitan grandes cantidades de energía para mantener el potencial de membrana, sintetizar y almacenar neurotransmisores y para mantener el su función neurosecretores.

b) La exotoxicidad

La alteración del metabolismo energético en el cerebro conlleva la liberación masiva de glutamato (proceso denominado excitotoxicidad), que tras unirse a su receptor produce un incremento de los niveles de Ca^{2+} y Na^{+} intracelular. El excesivo Ca^{+} intracelular activa la fosfolipasa A_2 (que hidroliza enlaces ésteres de lípidos), las calpinas (que conducen a la proteólisis) y la oxido nítrico sintetasa. El aumento de ácido araquidónico y de la peroxidación lipídica facilitan la síntesis de prostaglandinas (Phillips and O'Regan, 2004), que se convierten en neurotóxicas si no son eliminadas (Salomon, 2005). Otro importante hecho es que algunos radicales libres inhiben la recaptación de glutamato por inhibición de la enzima glutamina sintetasa (Aksenov *et al.*, 1997), por lo tanto disminuyen su eliminación del espacio sináptico (Mattson and Chan, 2003).

c) La concentración de ácidos grasos poliinsaturados

Las membranas neuronales tienen una elevada concentración de ácidos grasos poliinsaturados que la hacen especialmente sensible a las reacciones

de peroxidación. Los productos de degradación de los ácidos grasos, principalmente HNE, son un importante citotóxico neuronal que incrementan la concentración de Ca^{2+} intracelular, por inhibición de los transportadores de glutamato o por alteración de neurofilamentos proteícos (Ong *et al.*, 2000).

d) La auto-oxidación

Muchos neurotransmisores, como la dopamina, noradrenalina o serotonina sufren procesos de auto-oxidación;. Durante la reacción con O_2 , catalizada por iones de transición, se genera $\text{O}_2^{\bullet}$ y disminuye la concentración de GSH.

e) Las enzimas monoamino oxidasas (MAO)

Durante la oxidación de la dopamina por la MAO A y la MAO B se producen grandes cantidades de H_2O_2 . Estas isoenzimas se encuentran en la superficie externa de la membrana mitocondrial en las neuronas y en las células de la glía.

f) El hierro

En el cerebro hay grandes cantidades de proteínas que contienen hierro (como los citocromos, la ferritina y la tirosina) y aunque la mayor parte del mismo está almacenado como ferritina, el daño tisular produce una liberación masiva de hierro y cobre, que actúan como catalizadores en la síntesis de radicales libres.

g) La hemoglobina

La hemoglobina es un potente neurotóxico en elevadas concentraciones de H_2O_2 (Puppo and Halliwell, 1988) y puede actuar como iniciador o como potenciador de la peroxidación lipídica (Phumala *et al.*, 2003), o bien favorecer la síntesis de $\text{NO}^{\bullet}$, que actúa como potente vasoconstrictor.

h) Los antioxidantes

La concentración de antioxidantes en el cerebro es baja, sobre todo la de la enzima CAT en muchas regiones cerebrales.

i) El sistema inmune cerebral

Una parte de las células glias son microglia, células con capacidad fagocítica que forman parte del sistema inmunitario, y pueden sintetizar elevadas concentraciones de $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , y citoquinas como IL-1, IL-6 y factor NT- α . Las citoquinas son potenciadoras del estado oxidativo y activadoras de iNOS.

j) El citocromo P450

Es un importante generador de e-. Presente en muchas regiones cerebrales, es una importante fuente de radicales libres (Brannan *et al.* 1981). Aunque su acción no es significativa en condiciones normales, se ha observado que la concentración de citocromo CYP2E1, encargado de la eliminación del alcohol y el tabaco y que habitualmente está baja, aumenta en consumidores de estas sustancias (Howard *et al.*, 2002).

k) La barrera hematoencefálica

Los radicales libres, por sí solos o bien por activación de metaloproteinasas, favorecen el paso a través de la barrera hematoencefálica de neurotoxinas, endotoxinas y células inflamatorias (Savaraj *et al.*, 2005).

l) Reparación del ADN

Para la reparación de las lesiones del ADN, las células neuronales disponen de la enzima poli-ADP-ribosa polimerasa 1. Su sobreexpresión conlleva un descenso de NAD^+ , imprescindible para la supervivencia celular.

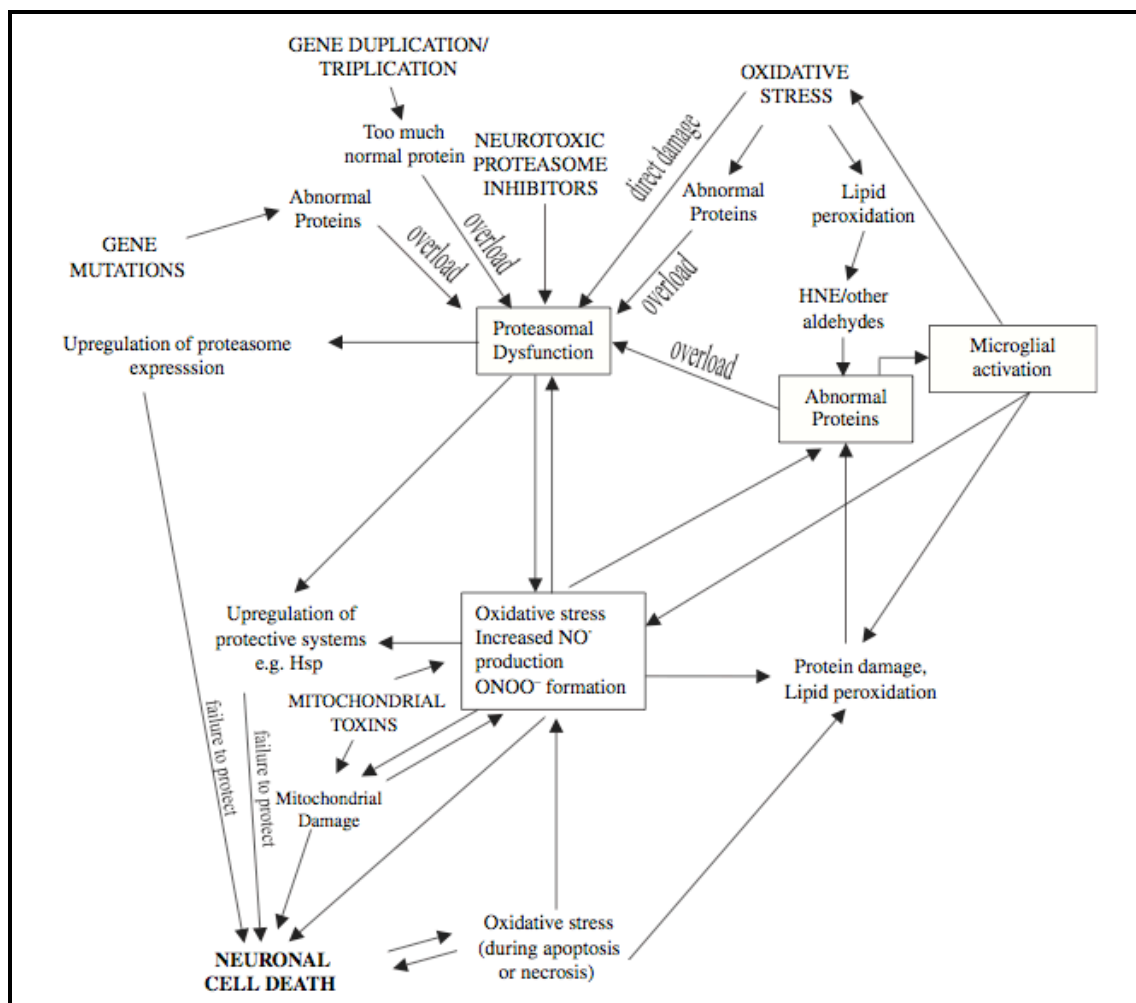
m) Apoptosis

El estrés oxidativo favorece la pérdida de estructura cerebral por apoptosis, proceso que en pequeña medida es necesario para un adecuado desarrollo

cerebral. Sin embargo si la pérdida de soporte cerebral es excesiva, se produce un inadecuado desarrollo cerebral (Sánchez-Carbente *et al.*, 2005).

Estas características hacen al sistema nervioso central especialmente vulnerable a la aparición de enfermedades neurodegenerativas. A pesar de que existen múltiples enfermedades neurodegenerativas, todas comparten las características fisiopatológicas que se resumen en la figura 9.

Figura 9. Daño producido neuronal y estrés oxidativo



(Figura tomada de Halliwell, 2006)

1.7.1. Neurodesarrollo, neurodegeneración y estrés oxidativo

La presencia de eventos traumáticos en la etapa prenatal y durante la infancia predispone al desarrollo de enfermedades neuropsiquiátricas en la edad adulta (Barrigón *et al.*, 2014). Esta relación está sobradamente demostrada en aquellos trastornos que cursan con importantes alteraciones del estado de ánimo (Vrijssen *et al.*, 2014; Upthegrove *et al.*, 2015; Bergink *et al.*, 2016). Estos estímulos estresantes se acompañan de alteraciones del sistema neuroendocrino, cambios neuroquímicos, como el incremento de radicales libres a nivel cerebral, y cambios estructurales (Maes *et al.*, 1993; Schivanove *et al.*, 2014; Nava *et al.*, 2017).

Distintas moléculas actúan como señalizadores celulares a nivel cerebral, mientras que las alteraciones neuroquímicas, secundarias a la presencia de eventos traumáticos, median alteraciones del desarrollo cerebral (Sánchez-Carbente *et al.*, 2005). Estos cambios, aparecidos precozmente durante el desarrollo cerebral, permiten hablar de la teoría del neurodesarrollo de los grandes trastornos mentales (Schivanove *et al.*, 2014). Patrick y Ames (2004) proponen un modelo en el que factores genéticos y el déficit de vitamina D, EPA y DHA (componentes de los ácidos ω -3), en periodos claves del neurodesarrollo, favorecen una activación disfuncional de la serotonina, eje principal del desarrollo de las grandes enfermedades psiquiátricas. Un modelo similar defienden Popoli y sus colaboradores (Musazzi *et al.*, 2016; Rusconi *et al.*, 2016), modelo en el que el estrés y la vulnerabilidad interpersonal serían ejes principales del desarrollo de los grandes trastornos mentales. En modelos animales se ha podido estudiar cómo el desarrollo de la trayectoria cerebral está influenciada por distintos factores ambientales y emocionales que aparecen desde el periodo fetal a la adolescencia (MacRae *et al.*, 2014; Sullivan *et al.*, 2006).

Los pacientes con trastornos neuropsiquiátricos graves (como la esquizofrenia, el trastorno bipolar y la depresión) muestran muchas de las características propias de los trastornos neurodegenerativos, como son los cambios estructurales de la morfología cerebral, los déficit cognitivos y funcionales, la pobre respuesta al tratamiento, la vulnerabilidad a nuevas recaídas y la tendencia a la cronicidad (Dodd *et al.*, 2013). Algunos de estos cambios, como las anomalías estructurales en

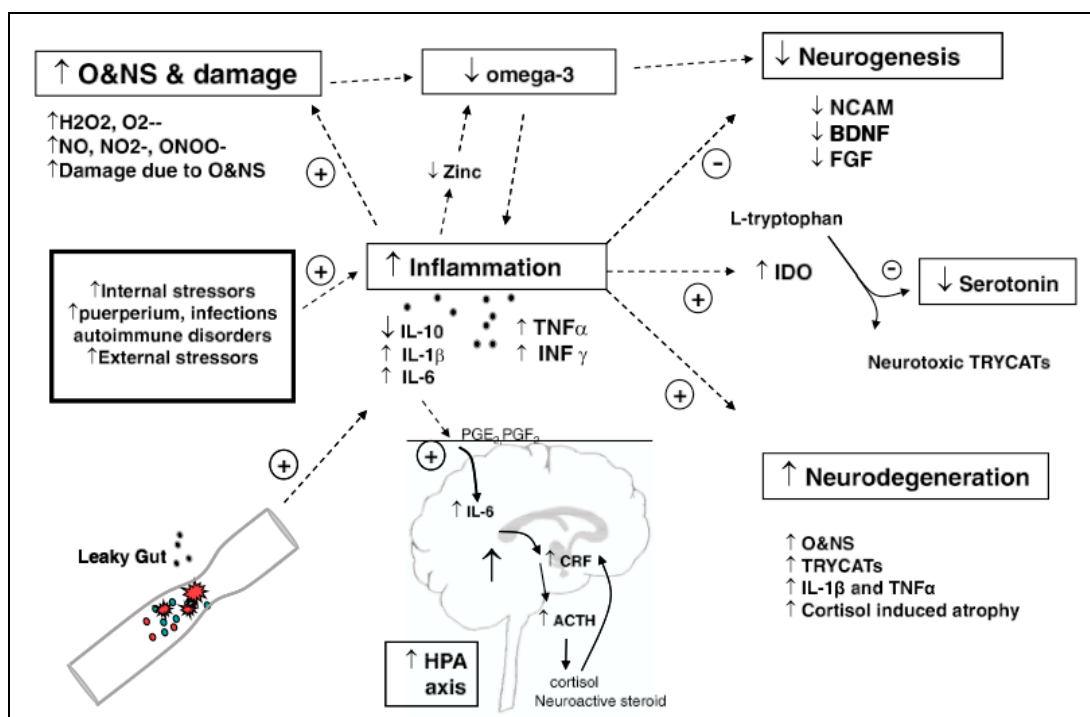
el trastorno bipolar y en la esquizofrenia, pueden observarse incluso antes del inicio de la enfermedad, durante la denominada fase prodrómica (Pantelis *et al.*, 2003; Bora *et al.*, 2010; Bechdolf *et al.*, 2012). Este hecho habla a favor de la presencia de neurotoxicidad en los distintos trastornos psiquiátricos (Kravariti *et al.*, 2005; Dodd *et al.*, 2013).

Las alteraciones del neurodesarrollo y la neurodegeneración están mediadas por alteraciones bioquímicas cerebrales, entre las que juega un papel importante el estrés oxidativo y el daño oxidativo. En una reciente revisión sistemática (Newton *et al.*, 2015), se estudia la asociación entre el funcionamiento cognitivo y el estado oxidativo de pacientes con trastornos psiquiátricos. Concluyen que existe asociación inversa entre el estado oxidativo y los resultados obtenidos en las pruebas que determinan la función ejecutiva. En este estudio señalan dos posibles mecanismos responsables de esta asociación. En primer lugar, la disminución de factores neuroprotectores, como por ejemplo el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), cuyo efecto queda inhibido por reducción de la concentración de GSH (Martínez-Centitabengoa *et al.*, 2012); y en segundo lugar, el daño oxidativo como causante de los déficits, como pueden sugerir la presencia de gliosis a nivel frontal y pre-frontal y la disminución del volumen cerebral en estas regiones (Talarowska *et al.*, 2012), así como las hiperintensidades de la sustancia blanca observadas en estudios de imagen (Olza-Fernández *et al.*, 2012; Bessete *et al.*, 2013). Otros autores han considerado que los fallos cognitivos pueden estar relacionados con alteraciones en la concentración de moléculas de adhesión celular (NCAM), expresadas en la superficie de neuronas y células gliales, que estarían implicadas en múltiples funciones, como la plasticidad, el aprendizaje o la memoria (Sandi y Bisaz, 2007).

En conclusión, podríamos decir que, bajo estas alteraciones estructurales y funcionales de los trastornos neuropsiquiátricos, se encuentran el estado oxidativo, la activación inmune-inflamatoria, la disfunción mitocondrial, la activación de la apoptosis celular y la alteración de los factores de crecimiento. Todo ello favorece la neurodegeneración y la disminución de la neurogénesis (Maes *et al.*, 2009; Beck *et al.*, 2011).

Los psicofármacos tradicionalmente usados y distintos tratamientos con acción anti-inflamatoria actúan como neuroprotectores. Los antipsicóticos, el litio, otros estabilizadores del ánimo y los antidepresivos tienen propiedades antiinflamatorias y antioxidantes e influyen en la apoptosis y en la síntesis de múltiples factores neurotróficos (Maes *et al.*, 1995b; Dodd *et al.*, 2013).

Figura 10. Vías inflamatorias y neurodegenerativas en la depresión



(Figura tomada de Maes *et al.*, 2009)

1.7.2. El estrés oxidativo en la depresión

La depresión se caracteriza por la presencia predominante de sintomatología afectiva (tristeza, decaimiento, irritabilidad, sensación subjetiva de malestar e impotencia frente a las exigencias de la vida) y en mayor o menor grado sintomatología de tipo cognitivo, volitivo o somático, durante al menos dos semanas y que conlleva un importante deterioro en el funcionamiento.

Actualmente, la depresión es la enfermedad mental mas frecuente en el mundo, con una prevalencia anual del 5.6%; es también muy incapacitante, pues llegó a ser la segunda causa de discapacidad durante el año 2010 (Ferrari *et al.*, 2010).

La depresión es una enfermedad sistémica (Jiménez-Fernández *et al.*, 2015) que se asocia con la activación de la inflamación y del sistema inmune (Maes *et al.*, 1991) y con una desregulación del sistema neuroendocrino (Kronfol *et al.*, 1986; Castilla-Cortázar *et al.*, 1998; Danese *et al.*, 2008), con especial afectación de los glucocorticoides (Maes *et al.*, 1995). Sin embargo, se investigan otros mecanismos fisiopatológicos subyacentes en la depresión, entre los cuales destacan las vías del estrés oxidativo. Esto se debe al hecho de que estas alteraciones se han encontrado también en otros trastornos psiquiátricos y a que los actuales tratamientos para la depresión [los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS)], consiguen generalmente sólo una respuesta parcial (Maes *et al.*, 2009).

En la depresión existe un estado inflamatorio que queda reflejado por el aumento de citoquinas proinflamatorias y de radicales libres (Danese *et al.*, 2008; Haapakoski *et al.*, 2015; Palta *et al.*, 2015), los cuales generan daños importantes a nivel cerebral (Figura 10).

En el cerebro de pacientes con depresión hay menor biodisponibilidad de L-triptófano, debido a que las citoquinas proinflamatorias activan la enzima indolamina 2-3-dioxigenasa (IDO), que induce la transformación del triptófano a TRYCATs. Estos metabolitos intermedios, TRYCATs, tienen un impotante potencial neurotóxico y pro-oxidante; pero además, como consecuencia de degradación de triptófano, hay una menor biodisponibilidad de serotonina, N-acetil serotonina y melatonina (Maes *et al.*, 2009; Moylan *et al.*, 2014). Por otro lado, la enzima MAO, al degradar la dopamina genera importantes concentraciones de radicales libres que contribuyen al estado oxidativo celular, que se une al proceso inflamatorio que aparece en la depresión. También se ha observado que los pacientes con depresión presentan un aumento de permeabilidad intestinal y translocación bacteriana (Maes *et al.*, 2008), que genera un estado inflamatorio crónico y una respuesta autoinmune contra los nuevos epítomos formados a partir de los radicales libres

(Maes *et al.*, 2007). Además, como consecuencia de este estado oxidativo se produce daño a distintos niveles celulares, que pueden desencadenar la apoptosis. Hay una disminución de la concentración de factores neurotróficos, como BDNF, y así como un aumento de la concentración de glutamato por disminución de su entrada a los astrocitos. Esta elevada concentración de glutamato desencadena el proceso de exotoxicidad previamente señalado (sección 1.7.1).

Todas estas circunstancias fomentan la disminución de la neurogénesis y el aumento de la neurodegeneración (Maes *et al.*, 2009; Berk *et al.*, 2014). A pesar de que la depresión y el trastorno bipolar son trastornos diferentes, muchas de estas alteraciones bioquímicas subyacentes en la depresión, están presentes también en el trastorno bipolar.

Esta serie de alteraciones bioquímicas parecen tener un correlato morfológico. Recientemente, en distintos estudios de metaanálisis se ha observado que los pacientes con depresión, comparados con el grupo de voluntarios sanos, presentan anomalías en el circuito cortico-estriado-palido-talámico y menor volumen de sustancia gris en la zona rostral del cortex cingulado anterior (Bora *et al.*, 2011, Bora *et al.*, 2012).

Además de la mayor comprensión fisiopatológica de la depresión, el estudio de estos parámetros inflamatorios y de estrés oxidativo puede ser útil en la detección y cuantificación del estado patológico, e incluso de la respuesta al tratamiento farmacológico. Entre todos los biomarcadores, los más estudiados han sido recogidos en la siguiente tabla realizada por Lopresti *et al.* (2014)

Tabla 3. Biomarcadores de inflamación, respuesta inmune y estrés oxidativo

Biomarcadores de inflamación y respuesta inmune	
Proteína C reactiva (PCR)	Proteína de fase aguda que aumenta durante los procesos inflamatorios
Citoquinas	Secretadas por células del sistema inmune, son proteínas, péptidos y glicoproteínas que modulan la respuesta inmune
Neopterina	Secretada por macrófagos en situaciones de inflamación (principalmente infecciones)
Velocidad de sedimentación globular (VSG)	Es un marcador inespecífico de inflamación y determina la velocidad con la que sedimentan los eritrocitos
Metabolitos del triptófano por activación de IDO (TRYCATs)	La respuesta inmune activa la enzima IDO (indolamina-2,3-dioxigenasa) que degrada el triptófano en productos englobados con el nombre de TRYCATs
Biomarcadores de estrés oxidativo y antioxidantes	
MDA	Producto de degradación de los lípidos de las membranas por los radicales libres
8OHdG	Producto tras la reparación del ADN que estima el daño ocurrido en ADN por radicales libres
Isoprostanos	Compuestos similares a prostaglandinas que se producen por peroxidación no enzimática del ácido araquinódico
SOD	Enzima antioxidante que cataliza la dismutación del superóxido
GPx	Cataliza la reducción de hidroperóxidos por el glutatión, fundamentalmente los de formación endógena
GR	Enzima que reduce el glutatión oxidado para formar glutatión
GSH reducido	Determina el estado del glutatión celular

(Tabla elaborada a partir de Lopresti *et al.*, 2014)

Metaanálisis publicados sobre estrés oxidativo en la depresión

En los últimos años se han publicados varios estudios de metaanálisis sobre distintos parámetros de estrés oxidativo en pacientes con depresión, en comparación a voluntarios sanos. Al comienzo de la elaboración del presente trabajo, de los metaanálisis expuestos a continuación (cinco), sólo dos habían sido publicados (Swardfager *et al.*, 2013 y Palta *et al.*, 2014). Esta es una breve revisión sobre los resultados de todos ellos.

No cabe duda de que los pacientes con depresión presentan un estado oxidativo, como refleja el incremento de productos de daño oxidativo en general (Palta *et al.*, 2014), y en concreto de los lípidos –MDA, peróxidos e isoprostanos– (Black *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2015; Mazereeuw *et al.*, 2015), de las proteínas (Mazereeuw *et al.*, 2015) y del ADN (Black *et al.*, 2015).

De igual modo, el incremento de especies reactivas confirmaría esta relación. Sin embargo, Liu *et al.* (2015) no encuentran que la concentración de nitritos de los pacientes con depresión durante la fase aguda de la enfermedad sea significativamente diferente a la de individuos sanos, aunque la concentración sí disminuye tras el tratamiento con antidepresivos.

Este estado oxidativo obliga al sistema antioxidante endógeno a aumentar su actividad y mantener un equilibrio. La capacidad antioxidante total (TAC) determina de modo indirecto el sistema amortiguador antioxidante. Para su determinación se valora la capacidad de los compuestos antioxidantes presentes en el fluido o célula para reducir las especies oxidantes introducidas (Quintanar Escorza y Calderón Salinas, 2009). Los pacientes con depresión, comparados con voluntarios sanos, presentan una disminución significativa de TAC, que no mejora tras el tratamiento farmacológico (Liu *et al.*, 2015). Al estudiar cada antioxidante de modo independiente, se observa una disminución estadísticamente significativa de la concentración en suero de ácido úrico y de albúmina, que aumentan tras el tratamiento con antidepresivos (Liu *et al.*, 2015); y también una disminución estadísticamente significativa de la concentración de zinc (Swardfager *et al.*, 2013;

Liu *et al.*, 2015). Según Swardfager *et al.* (2013) no existe asociación entre la concentración de zinc y el uso de antidepresivos.

Hasta la fecha no se han encontrado cambios de la actividad de las enzimas antioxidantes SOD, CAT, GPx, GR en los pacientes con depresión con respecto al grupo de voluntarios sanos (Liu *et al.*, 2015).

1.7.3. El estrés oxidativo en el trastorno bipolar

El trastorno bipolar es una enfermedad crónica caracterizada por oscilaciones del estado de ánimo. Fluctúa entre la fase de manía (caracterizada por estado de ánimo exaltado) y la fase de depresión. Entre estas fases se presentan periodos de estabilidad anímica o eutimia. En función de los episodios que se manifiestan en el tiempo, se distingue el trastorno bipolar tipo I, que se caracteriza por la presencia de episodios maniacos intensos que alternan con episodios depresivos; el trastorno bipolar tipo II, en el que los episodios depresivos alternan con fases hipomaniacas (de menor intensidad que las maniacas); y la ciclotimia, que se caracteriza por una sucesión de episodios hipomaniacos con depresivos de poca intensidad.

En la población de Estados Unidos (Merikangas *et al.*, 2007), la prevalencia del trastorno bipolar I es del 1.0%; del 1.1% para el trastorno bipolar II; y del 2.4% para estados sub-sindrómicos. A nivel mundial (Merikangas *et al.*, 2011), esta prevalencia es de 0.6% para el trastorno bipolar I, 0.4% para el tipo II y 1.4% para estados subsindrómicos. El trastorno bipolar presenta elevadas tasas de comorbilidades médicas y de sintomatología afectiva residual y se acompaña de un importante deterioro de la funcionalidad (Salvatore *et al.* 2007; Sánchez-Moreno *et al.*, 2009; Fagiolini *et al.*, 2013). La tasa de heredabilidad del trastorno bipolar es alta; este componente genético contribuye en un 59-89% a su aparición (Leussis *et al.*, 2012). Sin embargo, hasta ahora, ha sido difícil identificar un único gen responsable del trastorno (Seifuddin *et al.*, 2012).

El trastorno bipolar se asemeja a las enfermedades neurodegenerativas en su curso progresivo, en la reducción del tiempo de recaída a medida que recurre la enfermedad (Kessing *et al.*, 1998) y la menor respuesta al tratamiento farmacológico tras cada nueva recaída (Swan *et al.*, 1999). Este curso evolutivo lleva a que los pacientes con mayor número de recaídas presenten un peor pronóstico, un mayor deterioro social y un mayor riesgo de presentar comorbilidades médicas (Conus *et al.*, 2014).

Como los pacientes con enfermedades neurodegenerativas, los pacientes con trastorno bipolar presentan cambios estructurales; en particular, y respecto a voluntarios sanos, presentan un adelgazamiento de la sustancia gris en la región límbica anterior según se muestra en un metaanálisis (Bora *et al.*, 2010). Ese adelgazamiento se correlaciona con fallo en la función ejecutiva y en el procesamiento de las emociones (Bora *et al.*, 2009). Estos cambios están presentes desde el inicio del trastorno bipolar (Fornito *et al.*, 2007).

El trastorno bipolar se acompaña de un estado neuroinflamatorio caracterizado por incremento de las citoquinas proinflamatorias (Munkhold *et al.*, 2012; Modabbernia *et al.*, 2013) tanto durante las fases sintomáticas de la enfermedad como durante los intervalos libres de síntomas. Este incremento de citoquinas (independiente de fase) sugiere que el trastorno bipolar y el sistema inflamatorio pueden compartir diversos polimorfismos genéticos (Goldstein *et al.*, 2009). Sin embargo, los resultados obtenidos hasta la fecha son muy heterogéneos, debido entre otras cosas a la gran diversidad de las muestras y la neuroprogresión de la enfermedad (Anderson y Maes, 2015).

La neuroprogresión se caracteriza por el aumento de la apoptosis, la presencia de neurotoxicidad, el descenso de la plasticidad neuronal y la disminución de la neurogénesis a lo largo del tiempo. Este fenómeno está íntimamente asociado con el daño producido por los radicales libres en las células nerviosas (Berk *et al.*, 2014). Además, los radicales libres favorecen la activación de la enzima IDO y, como consecuencia, la síntesis de metabolitos neurotóxicos; y también la alteración del metabolismo mitocondrial y la alteración de la concentración de

distintos neurotransmisores, como la serotonina y el glutamato. Esta alteración de la concentración de neurotransmisores potencia la aparición de nuevos episodios de manía (Mynt *et al.*, 2007), perpetúa la enfermedad y conduce a la neurodegeneración (Smith *et al.*, 2007).

En el trastorno bipolar hay también una alteración de la vía dopaminérgica (Cousins *et al.*, 2009; Cherlyn *et al.*, 2010), que favorece un estado oxidativo celular (Berk *et al.*, 2011). La dopamina aumenta considerablemente durante los episodios de manía y actúa como fuente importante de radicales libres durante su metabolización por la enzima MAO o a través de su oxidación y transformación en 6-OH-dopamina. Este metabolito intermedio causa disfunción celular y activa la apoptosis celular (Rees *et al.*, 2007).

Como sucede con todas las alteraciones observadas a nivel del sistema inflamatorio, se observan alteraciones inespecíficas en los distintos antioxidantes y en los productos de daño oxidativo sobre los lípidos, que sugieren la existencia de una alteración en las vías del estrés oxidativo que predispone a la aparición de trastorno bipolar (Brown *et al.*, 2014).

Recientemente se ha podido observar que la presencia del polimorfismo Q192R que determina baja actividad de la enzima antioxidante paraoxonasa-1, se asocia con depresión; y en presencia de hábito tabáquico se asocia a mayor riesgo de desarrollar trastorno bipolar (Bortolasci *et al.*, 2014). Por otro lado, el efecto beneficioso ejercido por el tratamiento farmacológico confirma la relación entre el estrés oxidativo y el trastorno bipolar: el tratamiento con litio, además de atenuar los síntomas, reduce el estado oxidativo (Banarjee *et al.*, 2012; Khairova *et al.*, 2012) y ciertos estabilizadores del ánimo, como el ácido valproico, disminuyen el estado inflamatorio (Wilson *et al.*, 2013).

Metaanálisis publicados sobre estrés oxidativo en el trastorno bipolar

Hasta la fecha, existe un menor número de publicaciones científicas sobre parámetros de estrés oxidativo en el trastorno bipolar y, por lo tanto, previo a l presente trabajo se han llevado a cabo tres meta-ánalisis, dos de ellos por por el mismo equipo [El de Brown *et al.*, (2014), es una actualización del realizado seis años antes por Andreazza *et al.* (2008)].

Del mismo modo que en depresión, en pacientes con trastorno bipolar comparados con voluntarios sanos se ha encontrado un incremento de productos de daño oxidativo de los lípidos –TBARS y peróxidos– (Andreazza *et al.*, 2008; Brown *et al.*, 2014), del ADN y de las proteínas –PCC y 3-nitrotirosina– (Brown *et al.*, 2014). Este estado oxidativo en los pacientes con trastorno bipolar también queda demostrado por el aumento de especies reactivas del nitrógeno (Andreazza *et al.*, 2008; Brown *et al.*, 2014).

El estado oxidativo debe estar compensado por un incremento de la actividad de las enzimas antioxidantes, pero Andreazza *et al.* (2008) no encuentran alteración de las enzimas SOD, CAT y GPx con respecto al grupo de controles sanos. El incremento del tamaño de la muestra permite encontrar un descenso significativo de la actividad de la enzima CAT en los pacientes con trastorno bipolar, tras eliminar un estudio en el análisis de sensibilidad (Brown *et al.*, 2014). El ácido úrico también se encuentra elevado en los pacientes con trastorno bipolar; este incremento es significativamente mayor en los pacientes que presentan una fase de manía y/o mixta que los que presentan una fase depresiva, comparados con voluntarios sanos (Bartolli *et al.*, 2016).

La concentración de ácido úrico es significativamente mayor en pacientes con trastorno bipolar que en pacientes con depresión unipolar, ambos comparados con individuos voluntarios sanos, aunque la edad y el sexo pueden influir el tamaño de efecto encontrado (Bartolli *et al.*, 2016).

1.8. EL METAANÁLISIS

El crecimiento exponencial del número publicaciones científicas ha generado una enorme cantidad de información que resulta imposible manejar por el personal sanitario en la práctica diaria. Por lo tanto, es imprescindible la existencia de métodos que sintetizen toda la información de un modo crítico y que a la vez posibiliten estar al corriente de las nuevas evidencias científica. Aparte de este objetivo fundamental, las revisiones científicas también pretenden determinar el grado de conocimiento alcanzado sobre un tema concreto y, sobre las incertidumbres, abrir nuevas líneas de investigación (Gómez *et al.*, 1989).

Existen tres tipos de revisiones:

a) La revisión tradicional

No obedece a ninguna pauta sistemática y tampoco detalla las distintas decisiones adoptadas en el proceso de síntesis de la literatura, que garantizarían la replicabilidad de la revisión y el control de sesgos y errores. Entre sus limitaciones se encuentran la elevada subjetividad y la baja fiabilidad de los resultados.

b) La revisión sistemática

Es un estudio observacional retrospectivo que sintetiza la información contenida en la literatura científica (Abaira, 2003). El objetivo fundamental de la revisión sistemática, en comparación con a la tradicional, es reducir los sesgos y los errores aleatorios (Moher *et al.*, 2007), para lo cual requieren la especificación de todas las decisiones tomadas en el proceso de revisión.

c) Los metaanálisis

Son revisiones sistemáticas a las que se aplican técnicas estadísticas para el análisis cuantitativo de los resultados (Marín Martínez *et al.*, 2009). Tienen la ventaja de que mejoran la precisión del efecto o desenlace medido,

porque detectan efectos de magnitud moderada que pueden pasar desapercibidos en los estudios originales (Ferreira *et al.*, 2011).

Tabla 4. Diferencias entre la revisión tradicional y sistematica

Característica	Revisión narrativa	Revisión sistemática
Pregunta de interés	No estructurada, no específica	Pregunta estructurada, problema clínico bien delimitado
Búsqueda de artículos y sus fuentes	No detallada y no sistemática	Búsqueda estructurada y explícita
Selección de artículos de interés	No detallada y no reproducible	Selección basada en criterios explícitos uniformemente aplicados a todos los artículos
Evaluación de la calidad de la información	Ausente	Estructurada y explícita
Síntesis	A menudo resumen cualitativo	Resumen cualitativo y cuantitativo
Inferencias	A veces basadas en la evidencia	Normalmente basadas en la evidencia

(Tabla tomada de Ferreira-Gonzalez *et al.*, 2011)

El primer estudio de metaanálisis fue llevado a cabo por Joseph Goldberger a principios del siglo XX. En ese primer metaanálisis, Godberger intentó estudiar la frecuencia de infección urinaria entre los pacientes afectos de fiebre tifoidea (Winkelstein, 1998). Sin embargo, el metaanálisis como tal, no fue descrito hasta 1976 por el psicólogo Gene Glass, quien lo define como el análisis estadístico de una colección de resultados de trabajos individuales con el objetivo de integrar los resultados (Glass, 1979). Más recientemente, Delgado Rodríguez (2002) define el metaanálisis como el método estadístico que consiste en la identificación, la valoración, la síntesis y, si es pertinente, la agregación estadística de todos los estudios sobre un mismo tema, siguiendo un método explícito y predeterminado.

Inicialmente, los metaanalisis fueron utilizados para combinar resultados de ensayos clínicos aleatorizados, pero se han incrementado sus aplicaciones a estudios observacionales, de dosis-respuesta, y a estudios de evaluación de pruebas diagnósticas. A pesar de que los ensayos clínicos aleatorizados ofrecen mayor evidencia que los estudios de cohorte o que los estudios de casos y controles, el limitado numero de ensayos clínicos hace necesario el uso de estudios observacionales en los metaanálisis, a pesar de las importantes limitaciones que presentan debido a que la heterogeneidad entre los estudios no se

debe exclusivamente al error aleatorio, que quedaria corregido al combinar los distintos estudios y al aumentar el tamaño muestral. En los estudios observacionales suele haber sesgos de confusión, de selección y de clasificación, que contribuyen a la heterogeneidad (Beral, 1995).

Objetivos del metaanálisis

Según Ballesteros (2011), los objetivos de un metaanálisis son:

- a) Estimar de manera precisa el tamaño del efecto de un tratamiento.
- b) Comparar y contrastar los resultados divergentes de la literatura.
- c) Responder a preguntas que los estudios originales no plantearon o no podían responder (por ejemplo, análisis por subgrupos clínicos).
- d) Orientar trabajos futuros, al generar nuevas hipótesis de trabajo.
- e) Replicar resultados.
- f) Generalizar resultados.
- g) Predecir futuros resultados.

Etapas del metaanálisis

Los metaanálisis son proyectos de investigación con una muestra formada por estudios originales. Como proyecto de investigación, requieren planificación, considerable dedicación de recursos y elaboración de un protocolo de las etapas del proceso (Sánchez Villegas y Martínez-González, 2004).

- a) Formular la pregunta de la investigación

Al inicio de toda investigación hay que definir el problema que se quiere estudiar, mediante la pregunta de investigación. Las mejores preguntas abordan aquellos temas para los que no existe evidencia científica y cuya respuesta podría cambiar el manejo clínico. Posteriormente se formula la hipótesis nula, que debe guiar la recogida de la información.

b) Definir los criterios de elegibilidad

De acuerdo con la pregunta formulada en la investigación, entre las variables que se deben considerar se encuentran el tipo de participantes y el grupo control, las intervenciones o exposiciones a comparar, los desenlaces o resultados, el tipo de diseño y los requisitos de calidad metodológica.

c) Localizar los estudios y definir la estrategia de búsqueda

La estrategia de búsqueda debe ser bien planificada para incluir todas las posibles fuentes de información (Eysenbach, 1999), entre las que se encuentran:

Informales: archivos personales, libros, artículos de revisión, contactos con expertos, etc.

Primarias: revistas prestigiosas relacionadas con el tema y revisiones; siendo esta última opción útil y eficaz, superior incluso al uso de buscadores online (Knipschild, 1994).

Secundarias: bases de datos automatizadas como PubMed, Scopus y Chrochaine, entre otras.

Tras un primer filtro, considerando el título y/o el resumen de todos los artículos encontrados en las fuentes de la información, se realiza una primera selección de artículos candidatos a ser incluidos en el metaanálisis. Es importante conseguir todos los estudios posibles sobre la pregunta de interés, con el fin de minimizar el error aleatorio y el sesgo de selección (Ferreira-González *et al.*, 2011). La inclusión de estudios publicados en revistas poco prestigiosas indica una mayor exhaustividad durante el proceso de búsqueda bibliográfica (Cook *et al.*, 1993).

La literatura gris son las investigaciones científicas no publicadas, las publicadas pero no presentes en revistas científicas y las que no aparecen en los buscadores usados pero que necesitamos incluir en las revisiones sistemáticas y en los metaanálisis. Llegar a la literatura gris supone un verdadero reto para los investigadores.

Durante la definición de la estrategia de búsqueda se debe decidir también sobre la

realización de una restricción de la búsqueda literaria en función del idioma de publicación de los estudios. La restricción por idioma puede alterar los resultados del estudio, porque la literatura más relevante no siempre se encuentra publicada en inglés y su exclusión puede alterar los resultados del metaanálisis (Ferreira-González *et al.*, 2011).

d) Seleccionar los estudios incluidos en el metaanálisis

Una vez localizados todos los estudios candidatos a ser incluidos en el metanálisis, se debe realizar una lista con el total de estudios encontrados, que contenga los artículos incluidos y los excluidos. Para ello, previamente deben definirse exhaustivamente los criterios de inclusión, que tienen en cuenta las características de los estudios; por ejemplo, el tipo de estudio, los años de publicación considerados y las características de la exposición y/o el efecto.

La elegibilidad de los estudios seleccionados inicialmente debe:

- 1) Comprobarse por dos o más observadores, con la finalidad de evitar el sesgo de selección.
- 2) Establecerse un algoritmo para resolver desacuerdos, en el caso de que dos investigadores tengan opiniones contradictorias respecto a la elegibilidad de un estudio.
- 3) Deben conservarse las razones de exclusión de los estudios, que deben aparecer registradas en su posterior exposición.

Este proceso de identificación y localización de estudios debe quedar reflejado en un diagrama de flujo que incluya los artículos excluidos y los motivos de exclusión (Ferreira-González *et al.*, 2011).

e) Valorar de la calidad metodológica de los estudios seleccionados

Para valorar la calidad metodológica de los estudios seleccionados, es útil confeccionar una lista con los requisitos exigidos o bien utilizar escalas que cuantifiquen la calidad metodológica de los estudios incluidos. Estas escalas tienen

la ventaja de que permiten clasificar los estudios en función de la calidad de los mismos. Junto a los criterios establecidos, es recomendable considerar el enmascaramiento y el manejo de las pérdidas en los ensayos clínicos; y en los estudios observacionales, valorar el control de la confusión y de los sesgos de selección.

f) Extraer los datos de los artículos seleccionados.

Dos o más personas deben realizar de modo independiente la extracción de los datos de los artículos seleccionados. Para este proceso, se confecciona un formulario de recogida de datos, que es diferente para cada estudio.

En ocasiones, durante la extracción de datos, para evitar sesgos, se puede considerar el uso del enmascaramiento durante el proceso.

g) Analizar y presentar de resultados obtenidos.

El metaanálisis combina los efectos hallados en varios estudios por medio de la estimación de un nuevo parámetro que sintetiza lo aportado en cada una de las investigaciones individuales (Sánchez Villegas y Martínez-González, 2004). Para este fin se calcula la media ponderada de cada uno de los estudios incluidos, que otorga un mayor peso relativo a los estudios con mayor tamaño muestral. Durante la combinación de los resultados individuales se considera también la variabilidad en cada uno de los estudios y la variabilidad entre los distintos estudios, de modo que se consiga mejorar la validez de las conclusiones (Ferreira-González *et al.*, 2011).

La combinación de los datos se lleva a cabo mediante los dos tipos de modelos siguientes [para más información sobre el proceso matemático, véase Sánchez Villegas y Martínez-González (2004)]:

- 1) Multiplicativos [odds ratio (OR), riesgo relativo (RR) o razón de densidad de incidencia (RDI)] o aditivos (media, diferencia de medias o diferencia de

proporciones), a elegir según las variables estudiadas.

- 2) De efectos fijos (EF) o de efectos aleatorios (EA), en función de la variabilidad de la muestra. El modelo de EF asume que la variabilidad se debe al error aleatorio propio del muestreo, por lo tanto, todos los individuos del metaanálisis serían muestras de una misma población. El modelo de EA asume que los estudios incluidos son una muestra aleatoria de varias poblaciones de estudio; en este último modelo se otorga más peso a los estudios pequeños y se obtienen estimaciones más conservadoras e intervalos de confianza más amplios.

h) Analisis de sensibilidad

Estudia la influencia de cada uno de los estudios en la estimación global del efecto, en la robustez o en estabilidad de la medida final obtenida. El análisis de sensibilidad consiste en repetir el análisis tantas veces como estudios incluidos, omitiendo un estudio y combinando todos los restantes sucesivamente. Si los resultados obtenidos son similares (es decir, el efecto tiene una misma dirección, una misma magnitud y similar significación estadística), se concluye que los resultados son robustos. En caso contrario, los resultados se interpretan con precauciones.

Limitaciones del metaanálisis de estudios no experimentales

Los obstáculos más importantes que se encuentran en un metaanálisis que incluye estudios no experimentales (debido a que la heterogeneidad no se debe únicamente al error aleatorio) son el sesgo de publicación, la heterogeneidad y el sesgo de selección.

a) Sesgo de publicación

Consiste en la publicación selectiva de estudios en base a sus resultados. Esto se debe, en primer lugar, a que muchos trabajos de investigación no se publican

cuando sus resultados no son significativos o no son aceptados en revistas científicas por ser “menos relevantes”. En segundo lugar, se debe a que muchos trabajos publicados en idiomas distintos al inglés, que generalmente son los que obtienen más resultados negativos, son ignorados (Egger *et al.*, 1997). De este modo, los metaanálisis que solo incluyen los trabajos publicados puedan dar resultados sesgados (Stern y Simes, 1997). En tercer y último lugar, se debe a que un mismo estudio puede ser publicado varias veces en formas distintas, hecho que hincha los resultados (Tramèr *et al.*, 1997).

Se han descrito dos modos de explorar la posibilidad y la cuantía de este sesgo. Se realiza primero un ***análisis de sensibilidad*** y posteriormente se calcula el número de ensayos clínicos negativos (realizados y no publicados) que debería haber para modificar el sentido de una conclusión positiva obtenida. Si este número es muy elevado, la probabilidad de que el sesgo de publicación haya modificado el resultado es baja. Otro modo de explorar el sesgo consiste en la realización del gráfico del embudo, *funnel plot*, que identifica la presencia del sesgo cuando la nube de puntos resulta distorsionada (Tang y Liu, 2000).

b) La heterogeneidad

Heterogeneidad significa que los resultados de los estudios incluidos son muy distintos entre sí; es decir, una vez ponderados los resultados, difieren más de lo esperado por azar (Ferreira-González *et al.*, 2011).

El estudio de la heterogeneidad implica discernir si las diferencias entre unos y otros estudios pueden deberse a diferencias de diseño, a la diversa definición de la enfermedad, a la distinta valoración de la exposición, al mal control de la confusión y/o a la variabilidad demográfica. Para minimizarla es necesario el diseño de un protocolo, la selección rigurosa de los sujetos de estudio y un análisis cuidadoso sobre la influencia de los casos extremos (Sánchez Villegas y Martínez-González, 2004).

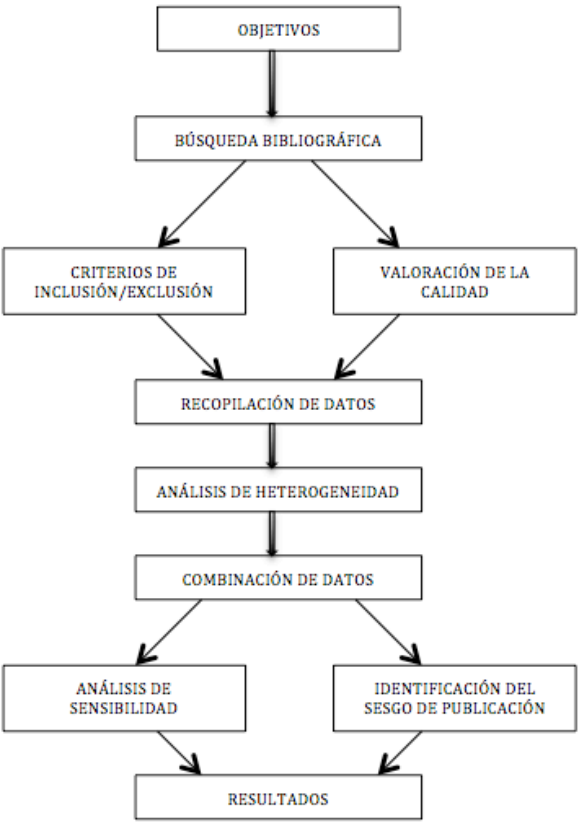
Para calcular la heterogeneidad no se parte de la hipótesis nula, sino de cómo esta afecta a las conclusiones del metaanálisis. Se utilizan diversos métodos estadísticos y gráficos, que permiten valorar si los resultados del metaanálisis pueden ser resumidos en una única medida. El método estadístico más frecuente y fácil de interpretar es I^2 . Indica la proporción de la variación total que es atribuible a la heterogeneidad. La heterogeneidad se considera elevada cuando I^2 es $>50\%$.

Si existe heterogeneidad y se desea continuar con el análisis, hay que advertir en la descripción de resultados sobre las limitaciones analíticas y de interpretación, así como, acompañar los resultados de una estimación de la variabilidad. También se puede realizar un análisis de subgrupos, cuando se sospecha la causa que explique la heterogeneidad.

c) Sesgos de selección

La validez de los resultados y las conclusiones del metaanálisis dependen de la calidad de los estudios individuales, de modo que la combinación de estudios sesgados puede potenciar el sesgo.

Figura 11. Esquema de los pasos a seguir para realizar un metaanálisis



II. JUSTIFICACIÓN

II. JUSTIFICACIÓN DEL PRESENTE TRABAJO

Junto a las enfermedades cardiovasculares, la depresión y el trastorno bipolar se encuentran entre las enfermedades que causan mayores índices de discapacidad y morbi-mortalidad (Ferrari *et al.*, 2010; Fagiolini *et al.*, 2013; Whiteford *et al.*, 2013; Murray *et al.* 2015). Como multitud de estudios recientes han demostrado, existe una relación bidireccional entre el síndrome metabólico y los principales trastornos psiquiátricos (esquizofrenia, trastorno bipolar y depresión) (García-Portilla *et al.*, 2008; De Hert *et al.*, 2009; McIntyre *et al.*, 2009; Kahl *et al.*, 2012; Malhotra *et al.*, 2013; Agarwal *et al.*, 2016; Dose *et al.*, 2016; Correll *et al.*, 2017). Esta relación puede explicarse a partir de una base genética común (Amare *et al.*, 2017) o a partir de la existencia de alteraciones en mecanismos biológicos comunes, como son la alteración del eje hipotálamo-hipofisiario (Rosmond *et al.*, 2000), la alteración de los ritmos circadianos (Zelinski *et al.*, 2014), la desregulación de neurotransmisores o un estado inflamatorio crónico (Goldstein *et al.*, 2009; Kemp *et al.*, 2010). Por otro lado, los pacientes psiquiátricos con un riesgo elevado de desarrollar una enfermedad cardiovascular tienen una presentación de su trastorno más compleja, una menor respuesta al tratamiento farmacológico y un curso más adverso en su enfermedad (Ohaeri y Akanji, 2011).

El uso del arsenal terapéutico disponible para tratar los trastornos psiquiátricos (antidepresivos, estabilizadores y antipsicóticos) se asocia a un aumento del riesgo de desarrollar enfermedades metabólicas y cardiovasculares (Correll *et al.*, 2015). Concretamente, durante el tratamiento farmacológico se produce un mayor acúmulo de grasa a nivel abdominal, hecho que tiene a su vez un gran impacto sobre el sistema inmune y favorece del desarrollo de trastornos afectivos (Xu *et al.*, 2011). Por otro lado, el tratamiento administrado a pacientes con enfermedades cardiovasculares también puede predisponer al desarrollo de trastornos afectivos (Ramkumar *et al.*, 2016). Los mecanismos subyacentes a esta relación son complejos y en parte desconocidos, por lo que un mayor esclarecimiento de los

misimos permitirá abrir futuras líneas de investigación en prevención, en diagnóstico precoz y en tratamiento (Assies *et al.*, 2014).

En todo proceso inflamatorio se produce un aumento de especies reactivas, que saturan la capacidad antioxidante del organismo. Esta alteración del equilibrio oxidativo puede ser el nexo de unión entre las enfermedades cardiovasculares y los trastornos mentales graves (Assies *et al.*, 2014). Numerosos estudios demuestran la existencia de un estado oxidativo asociado a distintas enfermedades mentales, que queda reflejado por el incremento de los productos derivados del daño oxidativo en las proteínas, los lípidos y/o el ADN (Andreazza *et al.*, 2008; Ceylan *et al.*, 2010; Micó *et al.*, 2011; Flatow *et al.*, 2013; Lopresti *et al.*, 2014). Sin embargo, los actuales resultados sobre sobre la respuesta de los distintos antioxidantes endógenos en los distintos trastornos mentales son contradictorios.

Mediante el presente trabajo se pretende estudiar el estado de distintos parámetros de estrés oxidativo (especies reactivas, productos de degradación de los ácidos grasos, y antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos) existente en la depresión y en el trastorno bipolar, así como en las distintas fases del trastorno bipolar (punto no estudiado hasta el momento), así como la influencia del tratamiento farmacológico en los parámetros de estrés oxidativo en pacientes con depresión o con trastorno bipolar. Hasta la fecha, ningún metaanálisis ha estudiado la influencia del tratamiento farmacológico en pacientes con trastorno bipolar, como tampoco lo había sido en pacientes con depresión en el momento en que fue publicado parte del presente trabajo (Jiménez-Fernández *et al.*, 2015).

La depresión bipolar y la depresión unipolar son consideradas entidades clínicas diferentes en etiología y fenomenología. A pesar de que hay solapamiento a nivel neurobiológico, se han observado algunas diferencias clínicas (Forty *et al.*, 2008; Dervic *et al.*, 2015), neurobioquímicas (Gupegui *et al.*, 1984; Cuellar *et al.*, 2005) y de neuroimagen (Diler *et al.*, 2014; Tan *et al.*, 2016; Ambrosi *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2017), que corroboran esta diferenciación. En el presente trabajo se comparan los marcadores de estrés oxidativo y los antioxidantes entre la depresión unipolar y la depresión bipolar, con la finalidad de indagar sobre las posibles diferencias entre

una y otra. Hasta la fecha la concentración de ácido úrico que ha sido objeto de comparación a través de metaanálisis (Bartoli *et al.*, 2016).

III. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

III. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

3.1. Objetivos

Por medio de diferentes metaanálisis, en los que se comparan pacientes con individuos voluntarios sanos, se pretende alcanzar los siguientes

Objetivos generales:

- a) Estudiar los marcadores de estrés oxidativo y los antioxidantes en la depresión (trastorno depresivo mayor) y en el trastorno bipolar.
- b) Comparar esos mismos parámetros entre depresión unipolar y depresión bipolar.

Objetivos específicos:

- c) Comparar los marcadores de estrés oxidativos y los antioxidantes entre las distintas fases del trastorno bipolar (mania, depresión y eutimia) entre sí y con los voluntarios sanos.
- d) Analizar la evolución de los marcadores de estrés oxidativo y los antioxidantes tras el tratamiento farmacológico en la depresión y en el trastorno bipolar.

3.2. Hipótesis

En el presente estudio planteamos cuatro hipótesis de trabajo:

- a) Durante la fase de enfermedad (depresión o trastorno bipolar), existe un estado oxidativo que se caracteriza por un aumento significativo de productos de la degradación de ácidos grasos y alteración de las enzimas antioxidantes y el ácido úrico.
- b) Este estado de estrés oxidativo se normaliza tras el tratamiento farmacológico adecuado (antidepresivos en el caso de la depresión y antipsicóticos y/o estabilizadores en el caso del trastorno bipolar), de modo que al alcanzar la remisión de la enfermedad no se hallan diferencias con respecto a los individuos sanos.
- c) Hay alteraciones de los parámetros de estrés oxidativo en las fases activas del trastorno bipolar (manía y depresión), que en la fase de eutimia no se distinguen significativamente de los individuos sanos.
- d) La depresión unipolar se presupone menos grave que la depresión bipolar, lo que debe quedar reflejado en el estado oxidativo.

IV. MÉTODO

IV. MÉTODO

4.1. Formulación de la pregunta de la investigación

Nos preguntamos si en la depresión y en el trastorno bipolar existe un estado oxidativo, que –de existir– debería normalizarse tras el tratamiento farmacológico.

4.2. Definición de los criterios de elegibilidad

Los criterios de inclusión de los estudios (o publicaciones no duplicadas) fueron definidos y aceptados por al menos dos investigadores del equipo (SJ-F y CUC). Son los siguientes:

- Los participantes incluidos en los estudios deben ser:
 - a) Pacientes con depresión o con trastorno bipolar sin comorbilidades que puedan potencialmente alterar el estado oxidativo de los individuos.
 - b) El grupo de pacientes debe estar comparado con un grupo de voluntarios sanos.
- Los estudios deben aportar:
 - a) Marcadores de estrés oxidativo: productos de degradación de los ácidos grasos, MDA y TBARS estudiados en suero, plasma, hematíes o sangre total.
 - b) Antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos en el grupo de pacientes y el grupo control de sanos (ácido úrico, GSH, SOD, CAT, GPx, GR, GSH-T, zinc) estudiados en suero, plasma, hematíes o sangre total.
 - c) Todos los parámetros deben estar expresados mediante la media y la desviación estándar.

- Los estudios incluidos:
 - a) Transversales: estudios transversales o estudios de casos y controles.
 - b) Longitudinales: estudios de cohorte o ensayos clínicos que evalúen la modificación de estos parámetros durante el tratamiento farmacológico (con antidepresivos en pacientes con depresión y/o con estabilizadores/antipsicóticos en pacientes con trastorno bipolar).

4.3. Localización de los estudios y estrategia de búsqueda

Se realiza una búsqueda sistemática utilizando los buscadores online:

MEDLINE/PubMed	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/
Cochrane Library	http://www.bibliotecacochrane.com
Controlled Trial	http://onlinelibrary.wiley.com/cochranelibrary/
Scopus	https://www.scopus.com/home.uri
TripDatabase	https://www.tripdatabase.com
Fisterra	http://www.fisterra.com

Términos de búsqueda usados

1. En el primer estudio, de pacientes con depresión y voluntarios sanos:

(oxidative stress OR nitrosative stress OR free radicals OR antioxidant OR lipid peroxidation OR MDA OR TBARS OR CAT OR catalase OR SOD OR superoxide dismutase OR glutathione peroxidase OR GPx OR GSSG OR vitamins OR uric acid OR bilirubin OR GSH OR glutathione OR TAS OR nitrite OR LOOH OR LPO OR AA OR TPP OR TOS OR TRX OR XO OR xanthine oxidase OR NOS OR PCC OR zinc) AND (major depressive disorder OR depression OR unipolar depression)

2. En el segundo estudio, de pacientes con trastorno bipolar y voluntarios sanos:

(oxidative stress OR nitrosative stress OR free radicals OR antioxidant OR lipid peroxidation OR MDA OR TBARS OR CAT OR catalase OR SOD OR superoxide dismutase OR glutathione peroxidase OR GPx OR GSSG OR vitamins OR uric acid OR bilirubin OR GSH OR glutathione OR TAS OR nitrite OR LOOH OR LPO OR AA OR TPP OR TOS OR TRX OR XO OR xanthine oxidase OR NOS OR PCC OR zinc) AND (bipolar disorder OR mania OR maniform OR bipolar depression)

3. En el tercer estudio, de pacientes con depresión bipolar o con depresión unipolar comparados con voluntarios sanos, se utilizaron los términos usados en ambas búsquedas anteriores.

Se añade a la búsqueda online una búsqueda manual de la bibliografía de revisiones tradicionales y de revisiones sistemáticas sobre estrés oxidativo y depresión y/o trastorno bipolar. De este modo, es posible la inclusión de estudios publicados en revistas poco relevantes, no incluidas en los buscadores usados. Se pretende, de este modo, dar mayor validez a la búsqueda.

4.4. Selección de estudios

No se realizó restricción por idioma, para evitar el sesgo de selección. La fecha de

restricción de búsqueda fue:

- a) Búsqueda con final el 31 de diciembre de 2013 (31/12/13) para el metaanálisis de marcadores de estrés oxidativo y antioxidantes en la depresión, publicado en diciembre de 2015.
- b) Búsqueda con final el 31 de enero de 2017 (31/01/2017) para el metaanálisis de marcadores de estrés oxidativo y antioxidantes en pacientes con trastorno bipolar y en voluntarios sanos .
- c) Para el último estudio de metaanálisis, de marcadores de estrés oxidativo y antioxidantes en pacientes con depresión bipolar o con depresión unipolar comparados con voluntarios sanos, la fecha de término de la búsqueda fue también el 31 de enero de 2017 (31/01/2017), para lo que fue necesario ampliar la búsqueda con respecto al primer estudio en lo relativo a la depresión unipolar.

Se realizó una primera selección de artículos en función del título y del resumen. A partir de esa primera selección, y teniendo en cuenta los criterios de elegibilidad antes señalados, se elaboraron dos listas: una lista de artículos incluidos y otra con todos los artículos que fueron descartados y con los motivos que llevaron a su exclusión. Este proceso de selección fue representado mediante diagramas de flujo, que aparecen en el apartado de resultados (Figuras 13, 28 y 57).

La elegibilidad fue comprobada por un único observador, salvo que existieran dudas sobre la validez del estudio, en cuyo caso la elegibilidad fue debatida y decidida por consenso.

4.5. Valoración de la calidad de los estudios seleccionados

La calidad de todos los estudios incluidos en este trabajo de metaanálisis fue evaluada según una lista-guía STROBE (*Strengthening The Reporting of Observational studies in Epidemiology*) (von Elm *et al.* 2007), que incluye los siguientes puntos:

- Descripción de la selección de pacientes y criterios de inclusión. En el caso de estudios de casos y controles deben quedar reflejados los métodos psicométricos utilizados y el modo de realización y de selección del emparejamiento.
- Definición clara del diagnóstico de depresión o del trastorno bipolar, y de los instrumentos utilizados para el diagnóstico.
- Descripción de los parámetros de estudio, en este caso, los marcadores de estrés oxidativo y los antioxidantes.
- Descripción del manejo de los datos y de su análisis estadístico.
- Control de los factores de confusión (por medio del ajuste estadístico o por exclusión de pacientes durante el proceso de selección): IMC/obesidad, hábito tabáquico, enfermedades crónicas, tratamientos utilizados y cualquier factor que pueda afectar al estado oxidativo.

4.6. Extracción de datos

Se confeccionó un formulario de recogida de datos, que describe las características de los estudio incluidos, las características de los pacientes y de los voluntarios sanos (edad, sexo, IMC, etc.) y el valor de los parámetros estudiados (Tabla 5). La extracción de datos fue realizada por dos personas de modo independiente (SJ-F y DG), aunque no se realizó de modo enmascarado en cuanto a la autoría de los artículos.

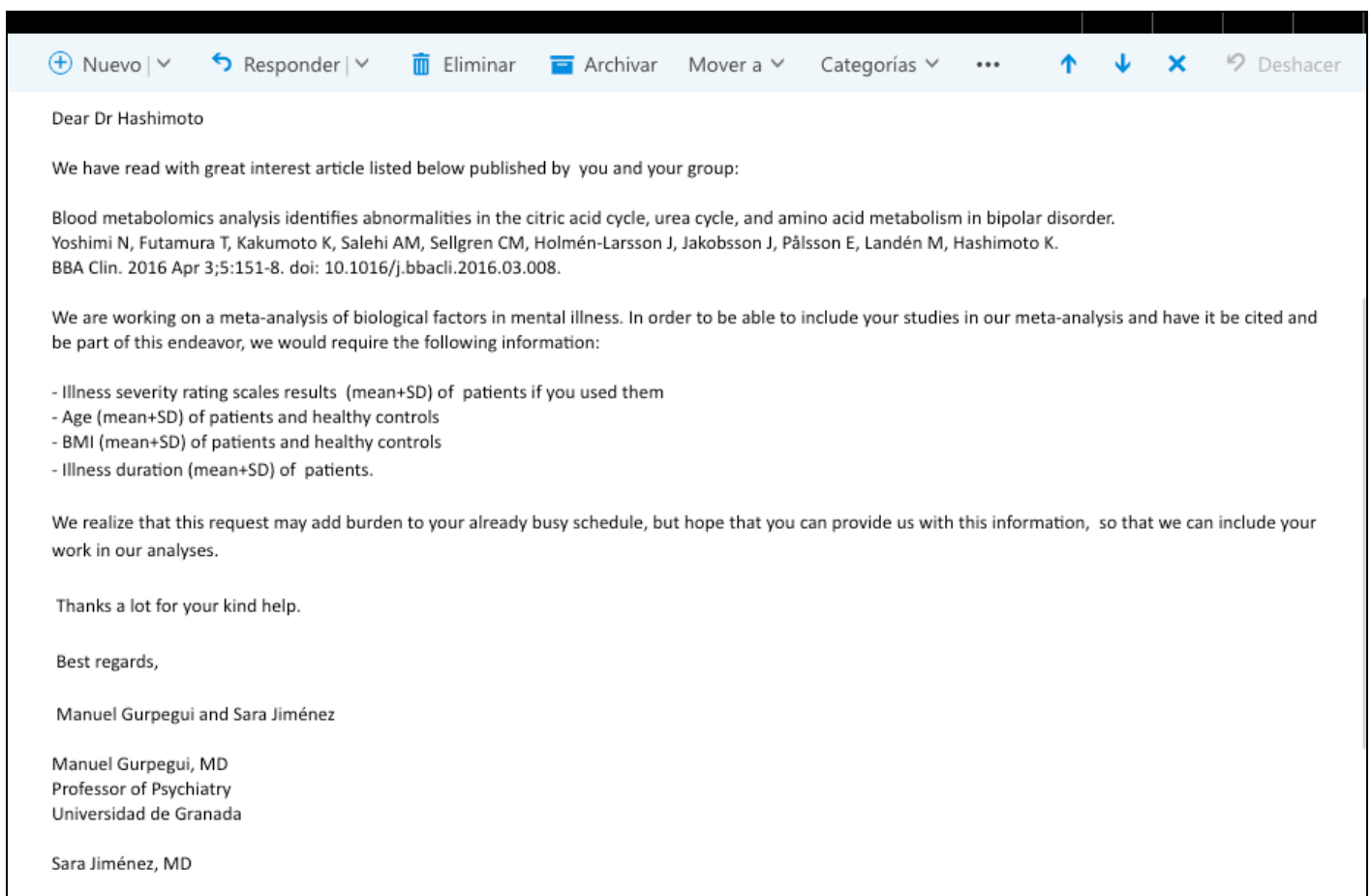
Tabla 5. Formulario de recogida de datos

ARTÍCULO (nombre y año)			
Pacientes	Voluntarios sanos	Pacientes	Voluntarios sanos
País			
Diagnóstico		MDA (media+D.E.) inicio seguimiento	MDA (media+D.E.)
Fase de la enfermedad			
Estado		TBARS (media+D.E.) inicio Seguimiento	TBARS (media+D.E.)
Criterio diagnóstico		AU (media+D.E.) inicio seguimiento	AU (media+D.E.)
Escala de gravedad		GSH (media+D.E.) inicio seguimiento	GSH (media+D.E.)
Inicio		GPx (media+D.E.) inicio seguimiento	GPx (media+D.E.)
Seguimiento			
Diseño del estudio			
duración (longitudinal)			
Tamaño muestral (n)	Tamaño muestral (n)	GR (media+D.E.) inicio seguimiento	GR (media+D.E.)
	Emparejamiento		
		GSH-t (media+D.E.) inicio seguimiento	GSH-t (media+D.E.)
Edad	Edad		
% Sexo femenino	% Sexo femenino	SOD (media+D.E.) inicio seguimiento	SOD (media+D.E.)
IMC	IMC	CAT (media+D.E.) inicio seguimiento	CAT (media+D.E.)
% Fumadores	% Fumadores		
Duración de la enfermedad		Nitratos (media+D.E) inicio seguimiento	Nitratos (media+D.E)
Tratamiento		Zinc (media+D.E) inicio seguimiento	Zinc (media+D.E)
Inicio			
Seguimiento			

No todos los artículos potencialmente elegibles aportaban todos los datos requeridos para la realización del estudio. Por ello, se contactó con todos los autores por correo electrónico y se les solicitó aquellos datos requeridos para alguno de los tres estudio y que no figuraban en sus respectivas publicaciones (Figura 12).

Se contactó con el autor de referencia de los artículos publicados y, en caso de no aportar dirección de correo electrónico o de que este fuera erróneo, se buscó otra dirección de correo electrónico en otro de sus artículos publicados o a través de la página web de su centro de trabajo. En caso de que tampoco así se obtuviera éxito, se contactó otro de los autores de la publicación. De los 57 autores contactados por correo electrónico, 25 respondieron (43.9%).

Figura 12. Ejemplo de email enviado a cada uno de los autores de los artículos seleccionados



4.7. Análisis estadístico de los datos

Se realizó un estudio de metaanálisis de cada uno de los marcadores de estrés oxidativo y de los distintos antioxidantes estudiados. Se combinaron únicamente aquellos parámetros de estrés oxidativo que al menos vinieran recogidos en 3 estudios diferentes. Si algún estudio aportaba datos de los parámetros usando más de una fuente de estudio entre las cuatro posibles (suero, plasma, hematíes o sangre total), se utilizó para el análisis aquella que resultara más repetida por el resto de estudios.

Los datos fueron analizados a partir de la media estandarizada ponderada por el tamaño muestral según el modelo de efectos aleatorios. Se prefiere este modelo al de efectos fijos porque, en general, la heterogeneidad de los estudios es elevada, porque obtiene estimaciones más conservadoras y porque los intervalos de confianza son más amplios. Y ello a pesar de que el empleo de este modelo por sí mismo posiblemente no consiga dar solución al problema de la heterogeneidad (Sánchez Villegas y Martínez-González, 2004).

El análisis y manejo de los datos se realiza con el programa estadístico *RevMan* de *Cochrane*, versión 5.3:

<http://community.cochrane.org/tools/review-production-tools/revman-5>

Análisis simultáneo de varios parámetros “el estado antioxidante”

En el segundo estudio, de pacientes con trastorno bipolar comparados con voluntarios sanos, se analizó, se analizó además de los parámetros individuales, “el estado antioxidante” a modo de Palta *et al.* (2014). Para ello, se combinaron los resultados de los antioxidantes SOD y CAT, por ser estos los más repetidos en los estudios seleccionados, pues se repiten ambas mediciones en un total de ocho publicaciones. Al añadir un tercer antioxidante, GPx el número de estudios que podían incluirse disminuía a cinco. El menor número de estudios fue la razón por la que se prefirió no incluir este tercer antioxidante en el análisis de “el estado antioxidante”.

4.7.1 Estudio de la heterogeneidad, análisis de sensibilidad y análisis por subgrupos

El programa estadístico usado (RevMan 5.3) calcula la heterogeneidad mediante el índice I^2 , que se considera elevado cuando I^2 es $>50\%$.

Pero, además de identificar la heterogeneidad, es necesario investigar la causa de la misma, que se hace mediante el análisis de sensibilidad según las características de los estudios incluidos en el análisis. En el caso del metaanálisis 1º y 3º, que incluye a pacientes con depresión comparados con voluntarios sanos y a pacientes con depresión unipolar y depresión bipolar también comparados con voluntarios sanos, se realizó un análisis según el la fuente de origen de la muestra sanguínea: suero, plasma, hematíes o sangre total (siempre que la fuente de extracción estuviera repetida en al menos tres artículos).

En el primer estudio también se realiza un análisis de sensibilidad para el antioxidante zinc, en el que se excluyeron aquellos estudios que no cumplían todos los criterios de calidad, y otro análisis en el que se excluyeron los estudios que presentaban resultados extremos (*outliers*).

En el metaanálisis 2º (de pacientes trastorno bipolar comparados con el grupo de voluntarios sanos), se realizaron análisis de subgrupos según la fase (depresión, manía y eutimia) en la que se encontraran los pacientes con trastorno bipolar.

El sesgo de publicación fue estudiado en cada uno de los tres estudios por medio del gráfico del embudo o de dispersión o (*funnel plot*).

V. RESULTADOS

V. RESULTADOS

En este apartado se van a presentar los resultados de los tres estudios de metaanálisis llevados a cabo en el presente trabajo, complementados al final con dos tablas de resumen de resultados (una de nuestros propios resultados y otra del contraste con otros metaanálisis publicados).

1. Metaanálisis de parámetros de estrés oxidativo y de antioxidantes en pacientes con depresión comparados con voluntarios sanos, antes y después del tratamiento con antidepresivos [apareció publicado en diciembre de 2015 en la revista *The Journal of Clinical Psychiatry* (Anexo 1)].
2. El segundo estudio es un metaanálisis de parámetros de estrés oxidativo en pacientes con trastorno bipolar comparados con voluntarios sanos, antes y después del tratamiento farmacológico. Se analizaron los diferentes marcadores de estrés oxidativo y los antioxidantes en función de la fase del trastorno bipolar (mania, depresión o eutimia). Y, por último, se analizó “el estado antioxidante”, para lo cual se combinaron los resultados de las dos enzimas antioxidantes más estudiadas simultáneamente (Artículo en preparación).
3. En tercer lugar, se estudiaron los marcadores de estrés oxidativo y los antioxidantes en pacientes con depresión bipolar y en pacientes con depresión unipolar comparados con voluntarios sanos. Y también se analizó el efecto del tratamiento farmacológico sobre los distintos marcadores de estrés oxidativo y los antioxidantes (artículo en preparación).

5.1. Metaanálisis de parámetros de estrés oxidativo y de antioxidantes en pacientes con depresión comparados con voluntarios sanos, antes y después del tratamiento con antidepresivos

Tras la realización de la búsqueda bibliográfica, a partir de los términos previamente especificados, se llevaron a cabo el resto de pasos:

Selección de estudios

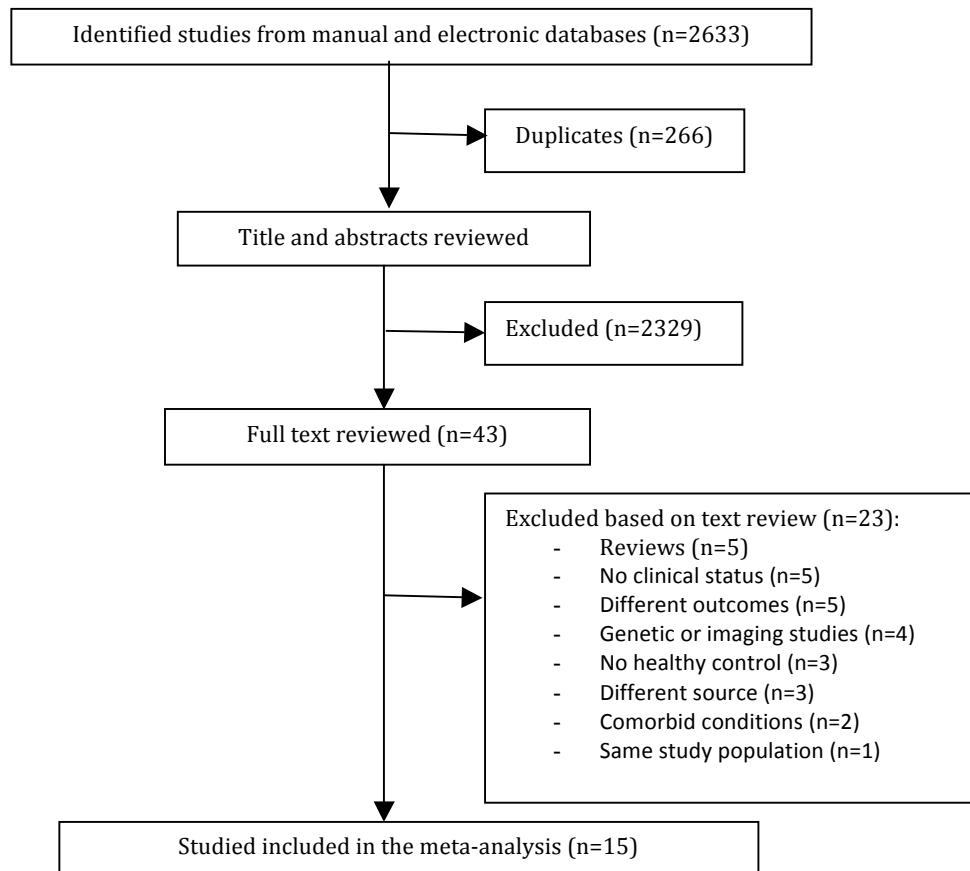
De los 70 estudios potencialmente elegibles tras la primera restricción por título y resumen, 41 fueron excluidos tras la lectura completa del artículo por los siguientes motivos:

- a) los datos presentados no correspondían a los marcadores de estrés oxidativo seleccionados.
- b) los pacientes no habían sido diagnosticados de depresión.
- c) los estudios procedían de tejidos post-mortem, habían sido realizados en animales o en células en cultivo, o eran estudios de imagen o de revisión.

En este trabajo se incluyeron finalmente 29 estudios que cumplen con los criterios de inclusión recogidos en el apartado de Método (4.2. Definición de los criterios de elegibilidad).

Aunque todos los autores fueron contactados via email y a todos se les solicitó datos sobre los marcadores de estrés oxidativo, sobre datos sociodemográficos de la muestra y/o sobre los posibles factores de confusión, solo un autor contestó a la demanda (Chaudhari *et al.*, 2010).

Figura13. Diagrama de flujo



Valoración de calidad

La calidad de los estudios incluidos fue valorada según los criterios STROBE (von Elm *et al.*, 2007). La calidad total de los estudios incluidos en este trabajo fue media y solo en 11 estudios (38%) se cumplían todos los criterios establecidos.

La fuente y el modo de selección de los participantes no se especificaba en 4 estudios; el diagnóstico o la valoración realizada no se precisaba en ocho; un estudio no aportaba una descripción correcta de los parámetros de estrés oxidativo; y solamente en tres estudios no se realizaba una adecuada descripción del análisis de los datos (Tabla 6).

Tabla 6. Valoración de la calidad de los estudios incluidos según criterios STROBE

	Clear Description of Participant Eligibility and Sources / Methods of Participant Selection	Clearly Defined Exposure Ascertainment: Depression	Clearly Defined Outcome Ascertainment: Oxidative Stress / Antioxidant	Clear Description of Handling of Depression and Oxidative Stress in the Analyses	Control for Potential Confounders by Exclusion or Statistical Adjustment
Amani <i>et al.</i> , (2010)	X	X	X	X	X
Baek and Park (2013)	X	X	X	X	X
Bilici <i>et al.</i> , (2001)			X	X	
Chaudhari <i>et al.</i> , (2010)	X	X	X	X	
Chrapko <i>et al.</i> , (2006)	X	X	X	X	X
Crayton y Walsh (2007)	X		X	X	
Galecki <i>et al.</i> , (2009)	X	X	X	X	
Grieger <i>et al.</i> , (2009)	X	X	X	X	
Herken <i>et al.</i> , (2007)	X		X	X	
Khanzode <i>et al.</i> , (2003)		X	X	X	
Kotan <i>et al.</i> , (2011)	X	X	X	X	X
Maes <i>et al.</i> , (1994)	X	X	X	X	X
Maes <i>et al.</i> , (1997)	X	X	X	X	X
Maes <i>et al.</i> , (1999)	X	X	X	X	X
Maes <i>et al.</i> , (2011)	X		X	X	
McLoughlin and Hodge (1990)	X	X	X		
Narang <i>et al.</i> , (1991)	X	X	X		
Nguyen <i>et al.</i> , (2009)	X	X	X	X	X
Rybka <i>et al.</i> , (2013)	X		X	X	X

Russo (2010)				X	
Salimiet <i>al.</i> ,(2008)			X	X	
Salustri <i>et al.</i> , (2010)	X	X	X	X	X
Sarandol <i>et al.</i> , (2007)	X	X	X	X	
Stanley <i>et al.</i> , (2002)	X	X	X		
Stefanescu <i>et al.</i> , (2012)	X	X	X	X	
Szuster- Ciesielska <i>et al.</i> , (2008)	X	X	X	X	
Vargas <i>et al.</i> , (2013)	X	X	X	X	X
Wenet <i>al.</i> ,(2012)	X	X	X	X	X
Wiener <i>et al.</i> , (2013)	X		X	X	X
	25/29 (86.2%)	21/29 (72.4%)	28/29 (96.6%)	26/29 (89.7%)	13/29 (44.8%)

Características de los estudios incluidos

Estudios transversales: pacientes con depresión y controles sanos

Los 29 estudios incluyen a pacientes con depresión (n=2477; edad media $\pm$ D.E = 36.76 $\pm$ 10.89; mujeres 66.2%; duración de la enfermedad media $\pm$ D.E = 6.21 $\pm$ 5.74) y a voluntarios sanos (n=1484; edad media $\pm$ D.E = 38.4 $\pm$ 12.89; mujeres 58.2%).

Los pacientes y el grupo de voluntarios sanos fueron emparejados según las variables edad y sexo en 21 estudios; y según las variables edad, sexo, IMC y hábito tabáquico en cuatro estudios. Igualmente en cuatro estudios no se utilizaba o precisaba ninguna variable para emparejar a los pacientes con los controles sanos. En 16 estudios se utilizaron criterios DSM-IV para realizar el diagnóstico de depresión.

Inicialmente los pacientes de once estudios (38% de los pacientes con depresión) no recibían ningún tratamiento farmacológico y los pacientes de 13 estudios (44.8% de los pacientes con depresión) si estaban en tratamiento con antidepresivos: inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) en cuatro estudios, inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina en cuatro estudios, inhibidores de la recaptación de noradrenalina en un estudio y tricíclicos en cuatro estudios; en cuatro estudios no se especificaba el tipo de antidepresivo usado. La puntuación alcanzada en la escala de Halmilton para la depresión (HDRS) al inicio fue 24.1 ± 11.9 (13 estudios, $n=699$).

Estudios longitudinales: pacientes con depresión, antes y después del tratamiento

Se incluyen 11 estudios ($n=466$; edad media $\pm$ D.E = 39.0 ± 11.6 ; mujeres 62.7%; duración de la enfermedad media $\pm$ D.E = 5.1 ± 3.6), en los que se valoraban los marcadores de estrés oxidativo y los antioxidantes antes y después del tratamiento, con una duración media de 10.38 semanas. En ocho estudios se utilizaban criterios DSM-IV para realizar el diagnóstico de depresión. Inicialmente los pacientes de siete estudios (63.6%) se encontraban sin tratamiento.

El resultado de HDRS en los tres estudios en los que se realizó la valoración al inicio y final del estudio muestra una mejoría de 24.6 ± 0.7 a 16.2 ± 1.6 con el tratamiento farmacológico (SMD =2.65; 95% CI, 1.13 to 4.15; $P=0.00065$), con un importante tamaño del efecto.

Tabla 7. Características de pacientes y controles sanos: estudios transversales y longitudinales

		Depression			
		HC		Baseline	Follow-up
Sample size		1484	2477	-	
Age	(mean±SD)	38.4±12.7	36.76±10.9	39.04±11.6	-
Female	(%)	58.2	66.2	62.74	-
Illness duration	(mean±SD)	-	6.21±5.74	5.1±3.6	-
HDRS	(mean±SD)	-	24.1±11.8	24.6±0.7	16.2±1.6
AD treatment	(%)	-	44.8	63.64	-

Resultados

Pacientes con depresión comparados con el grupo control: estudios transversales

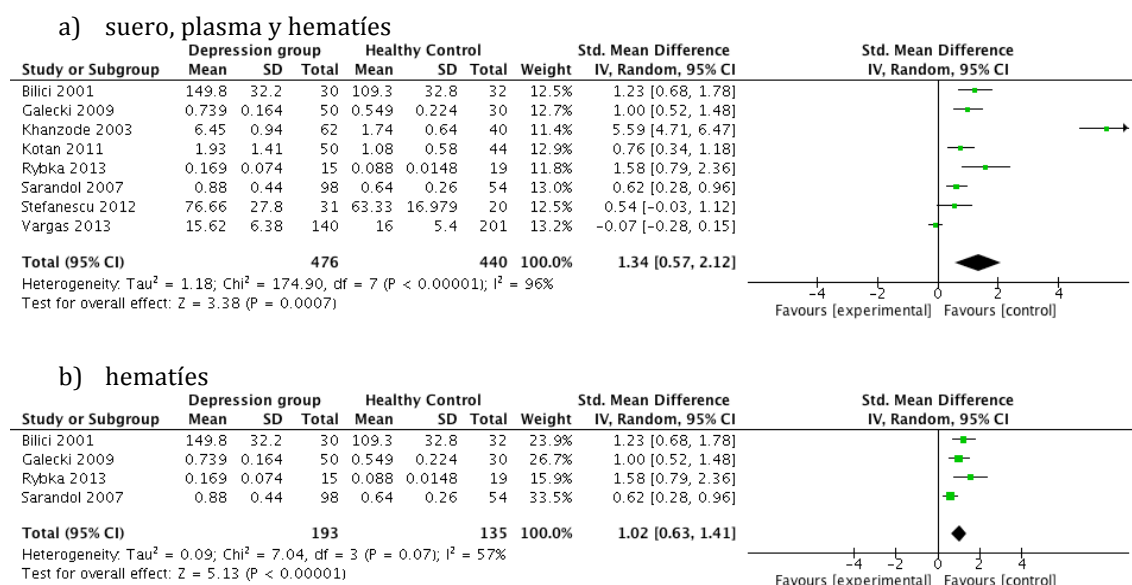
Los estudios incluidos en el análisis contienen datos de los marcadores de estrés oxidativo: MDA (ocho estudios; dos analizan parámetros en suero, cuatro en plasma y otros cuatro en hematíes; varios analizaron este parámetro en más de una fuente) y nitritos (tres estudios; uno analiza parámetros en suero y dos en plasma); TBARS no fue estudiado por no estar presente en al menos tres estudios.

También se aportan datos de los antioxidantes no enzimáticos ácido úrico (cuatro estudios; tres analizan parámetros en suero y uno en plasma) y zinc (13 estudios; nueve analizan los parámetros en suero, dos en plasma y en dos no se especificaba la fuente usada) y de las enzimas antioxidantes [SOD (diez estudios; cinco analizan los parámetros en suero y otros cinco en hematíes), CAT (tres estudios; uno en suero, dos en hematíes) y GPx (seis estudios; uno analiza parámetros en plasma, uno en suero, cuatro en hematíes y 1 en sangre total)].

MDA (marcador de estrés oxidativo)

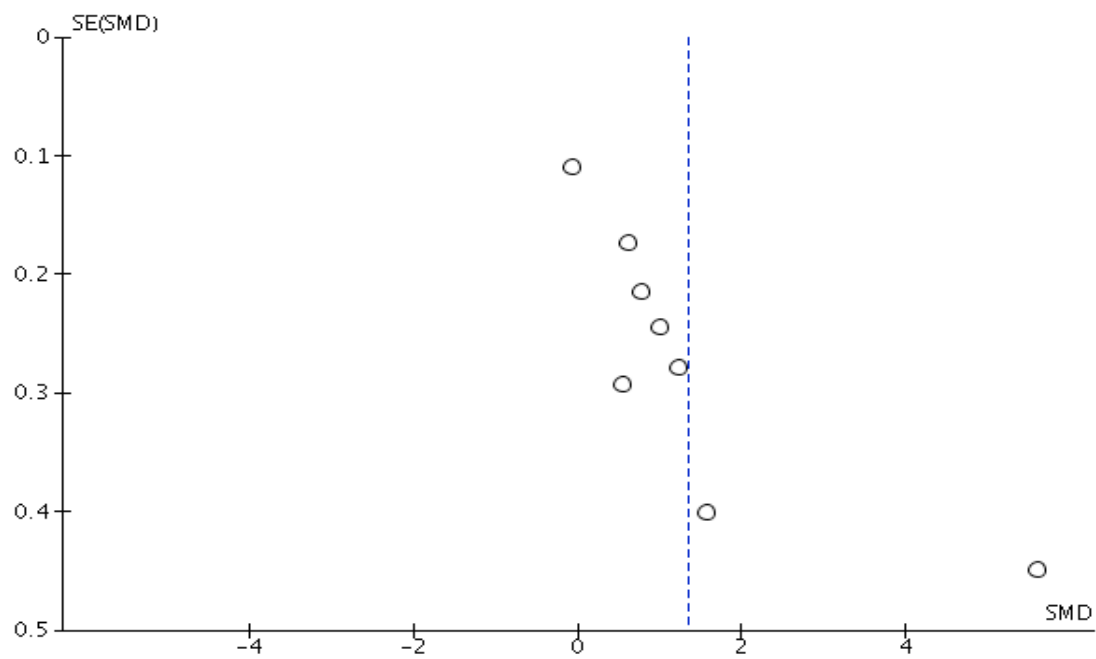
Los pacientes con depresión, comparados con voluntarios sanos, presentaban una significativamente mayor concentración de MDA (8 estudios; $n = 916$; $SMD = 1.34$; 95% CI, 0.57 a 2.11; $P < 0.0001$; $I^2 = 96\%$) (Figura 14 a). Al restringir el análisis a aquellos estudios que analizan la concentración de MDA en hematíes, persistió el aumento, con un elevado tamaño de efecto, y disminuyó la heterogeneidad (4 estudios; $n = 328$; $SMD = 1.02$; 95% CI, 0.63 a 1.41; $P < 0.001$; $I^2 = 57\%$) (Figura 14 b). Tras eliminar un estudio *oulier*, la diferencia era menor pero continuaba siendo significativa (7 estudios; $n = 814$; $SMD = 0.76$; 95% CI, 0.32 a 1.20; $P < 0.001$; $I^2 = 87\%$).

Figura 14. MDA en pacientes con depresión y en controles sanos



El dibujo descrito en la gráfica de nube era asimétrico (Figura 15), lo cual no permitió descartar el sesgo de selección.

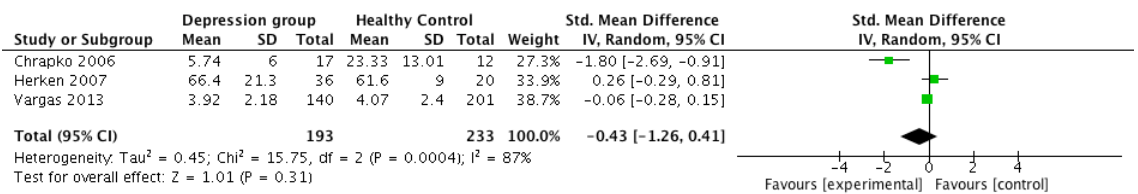
Figura 15. Funel plot para MDA en pacientes con depresión y voluntarios sanos



Nitritos (marcador de estrés oxidativo)

La concentración total de nitritos no era distinta entre los pacientes con depresión y el grupo de voluntarios sanos (3 estudios; n = 426; SMD = -0.43; 95% CI, -1.26 a 0.40; $P=0.31$; $I^2=87\%$) (Figura 16).

Figura 16. Nitritos en pacientes con depresión y en controles sanos

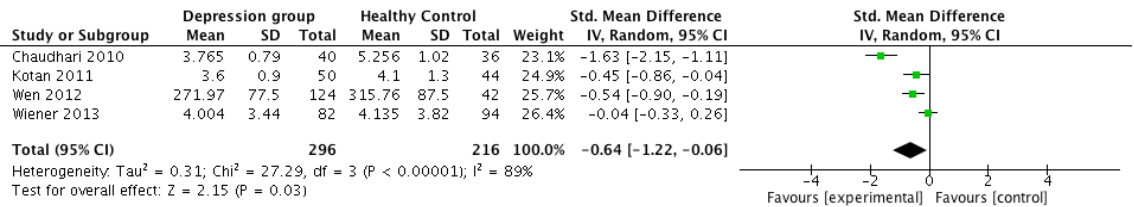


Ácido úrico (antioxidante no enzimático)

Los pacientes con depresión con respecto a los voluntarios sanos tenían una

concentración significativamente menor de ácido úrico (4 estudios; n = 512; SMD = -0.64; 95% CI, -1.22 a -0.06; $P=0.30$; $I^2=89\%$) (Figura 17).

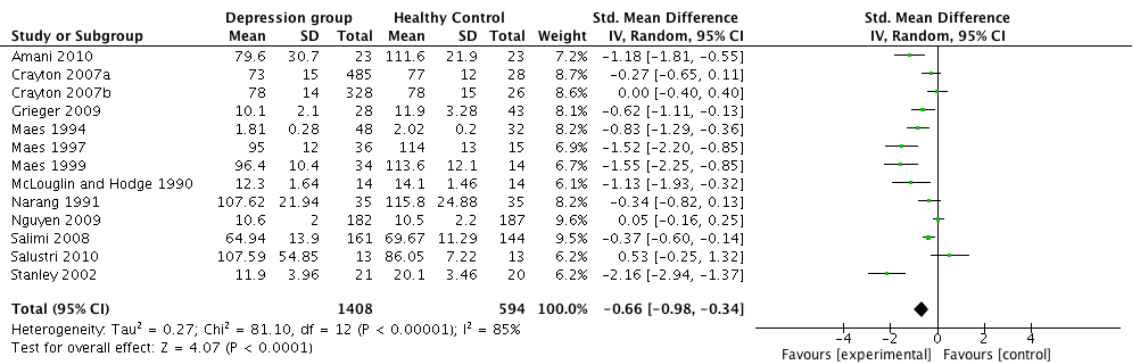
Figura 17. Ácido úrico en pacientes con depresión y en controles sanos



Zinc (antioxidante no enzimático)

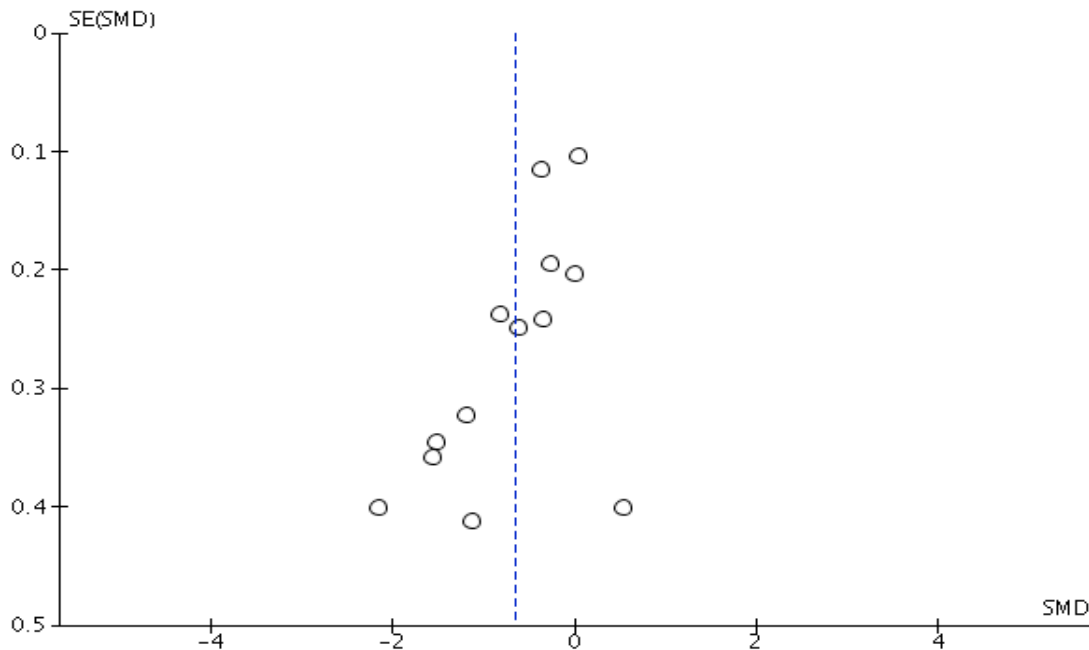
La concentración de zinc estaba significativamente disminuída en los pacientes con depresión comparados con los voluntarios sanos (13 estudios; n = 2002; SMD = -0.66; 95% CI, -0.98 a -0.34; $P < 0.001$; $I^2=85\%$) (Figura 18). Al repetirse el análisis incluyendo únicamente aquellos estudios de calidad elevada, los resultados resultaron consistentes (6 estudios; n = 620; SMD = -0.74; 95% CI, -1.41 a -0.07; $P = 0.03$; $I^2=90\%$).

Figura 18. Zinc en pacientes con depresión y en controles sanos



El diagrama de dispersión dibujaba una gráfica simétrica, que permitió descartar el sesgo de selección (Figura 19).

Figura 19. Funel plot para la concentración de zinc en pacientes con depresión y voluntarios sanos



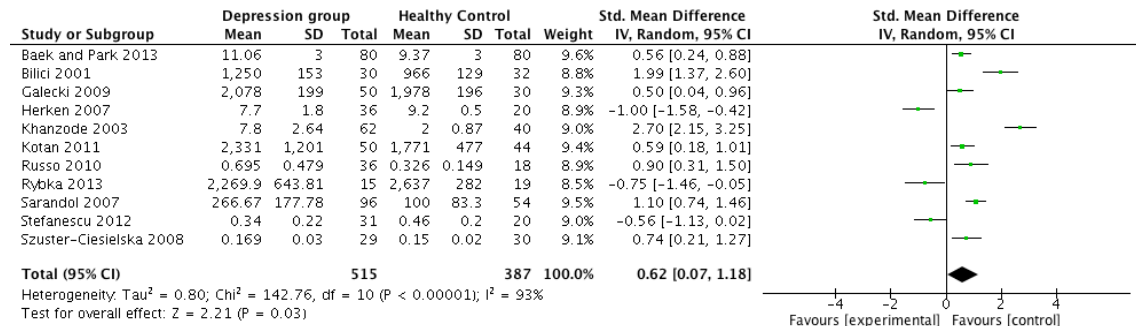
Antioxidantes enzimáticos: SOD, CAT, GPx

Los pacientes con depresión presentaron una actividad significativamente mayor de la enzima **SOD** comparados con los voluntarios sanos (11 estudios; $n = 902$; $SMD = 0.62$; 95% CI, 0.07 a 1.17; $P = 0.03$; $I^2 = 93\%$) (Figura 20a). Tras el análisis de sensibilidad, se restringe la muestra a aquellos estudios que analizan únicamente muestras de hematíes, la actividad de la enzima SOD continuó significativamente elevada y los resultados fueron menos heterogéneos (5 estudios; $n = 420$; $SMD = 0.70$; 95% CI, 0.04 a 1.37; $P = 0.04$; $I^2 = 90\%$) (Figura 20b).

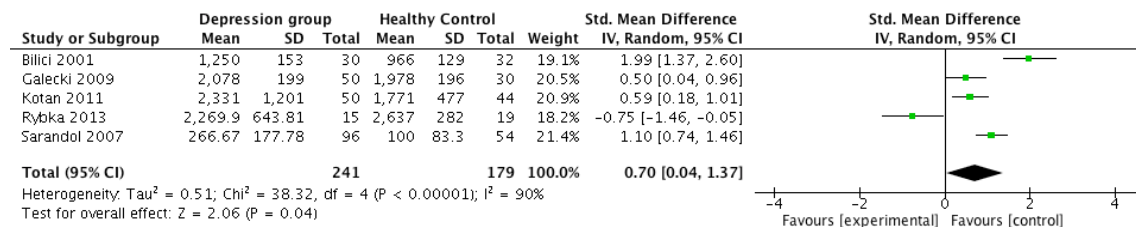
El diagrama de dispersión describía una imagen simétrica, que permitía descartar el sesgo de selección (Figura 20c).

Figura 20. Actividad de la enzima SOD en pacientes con depresión y en controles sanos

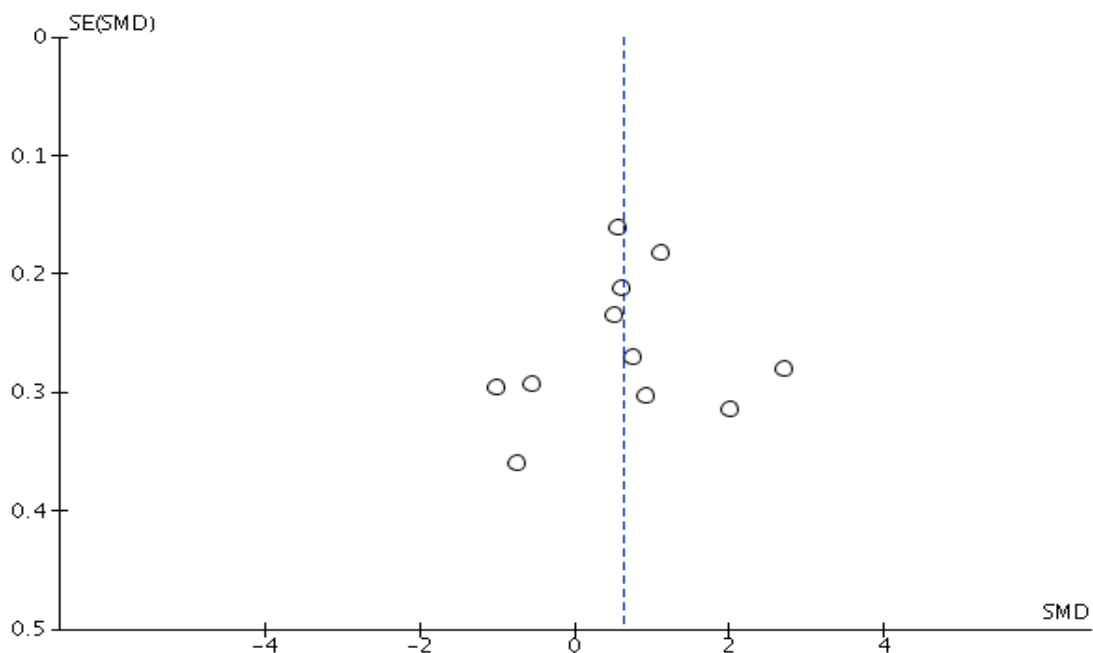
a) suero y hematíes



b) hematíes



c) funnel plot



La actividad de las enzimas CAT y GPx no resultó diferente entre los pacientes con depresión y los voluntarios sanos (CAT: 3 estudios; $n = 181$; $SMD = 0.94$; 95% CI, -0.25 a 2.13; $P = 0.12$. Y GPx: 6 estudios; $n = 384$; $SMD = -0.16$; 95% CI, -0.66 a 0.34; P

=0.053) (Figuras 21 y 22a). Tras los análisis de sensibilidad, incluyendo solo los estudios que analizan las enzimas en hematíes, persistió la falta de significancia (CAT: 2 estudios; n = 122; SMD = 0.41; 95% CI, -0.66 a 1.47; $P=0.45$; $I^2=88\%$ y GPx: 4 estudios; n = 270; SMD = -0.05; 95% CI, -0.77 a 0.64; $P=0.88$; $I^2=87\%$) (Figura 22b).

Figura 21. Actividad de la enzima CAT en pacientes con depresión y en controles sanos

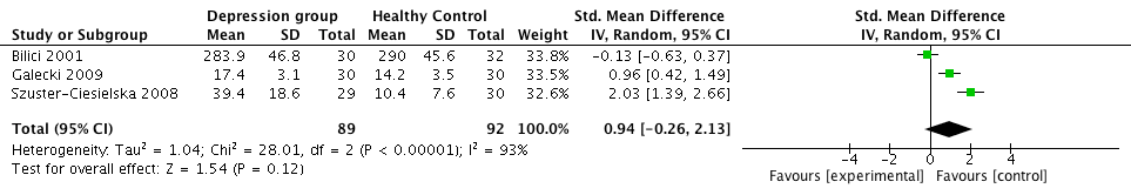
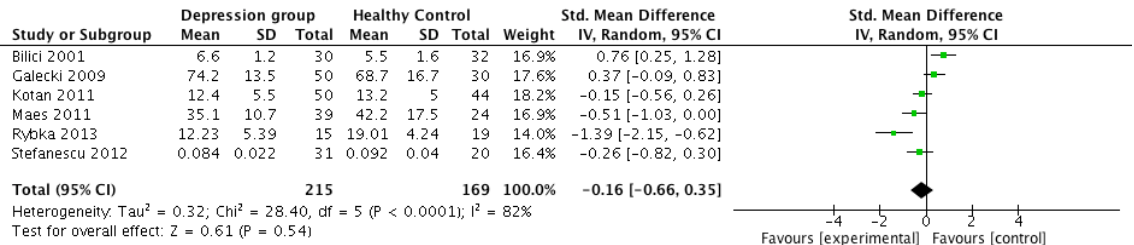
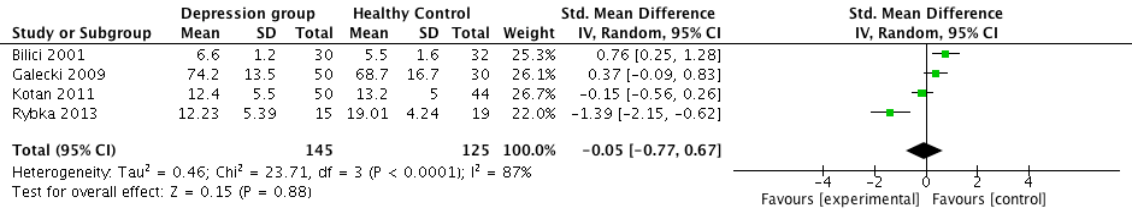


Figura 22. Actividad de la enzima GPx en pacientes con depresión y en controles sanos

a) plasma, suero y hematíes



b) hematíes



Pacientes con depresión antes y después del tratamiento farmacológico: estudios longitudinales

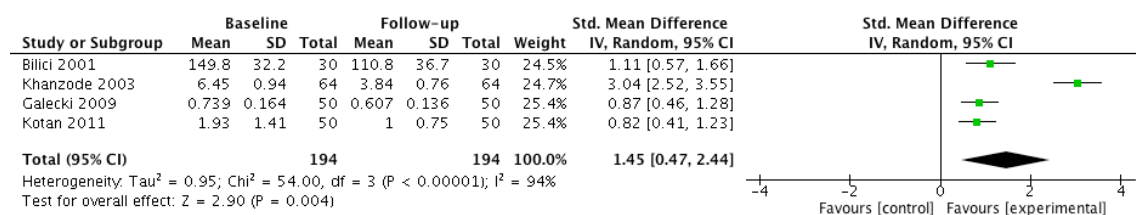
Los estudios longitudinales seleccionados aportan datos sobre los antioxidantes no enzimáticos ácido úrico (tres estudios; dos estudios analizan parámetros de estrés oxidativo en suero y uno en plasma) y zinc (tres estudios; dos estudios analizan parámetros de estrés oxidativo en plasma y uno en suero), sobre los antioxidantes enzimáticos [SOD (cinco estudios; dos analizan parámetros en suero y tres en hematíes), CAT (dos estudios en los que se analizan parámetros en hematíes), GPX (tres estudios; uno estudio en el que se analiza el parámetro en plasma y en dos en hematíes)] y sobre el marcador de estrés oxidativo MDA [cuatro estudios; en tres se analizan parámetros en hematíes y plasma y en uno se hace en suero (en varios estudios el parámetro es analizado en más de una fuente)].

MDA (marcador de estrés oxidativo)

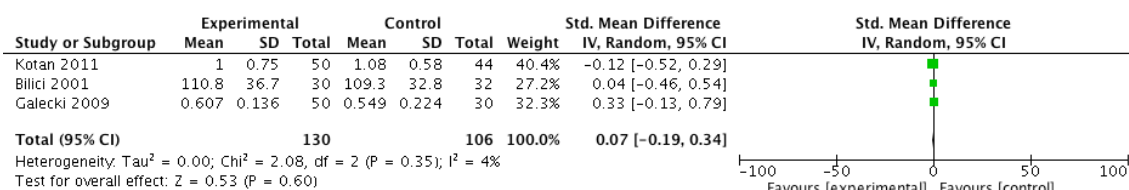
Tras el tratamiento con antidepresivos, la concentración de MDA disminuyó significativamente en los pacientes con depresión (4 estudios; $n = 194$ pacientes evaluados en dos ocasiones; $SMD = -1.45$; 95% CI, -2.43 a -0.47; $P = 0.004$; $I^2 = 94\%$) (Figura 23a). La concentración de MDA en pacientes con depresión después del tratamiento no era significativamente distinta a la del grupo de voluntarios sanos (3 estudios; $n = 236$; $SMD = 0.07$; 95% CI, -0.19 a 0.33; $P = 0.60$; $I^2 = 4\%$) (Figura 23b).

Figura 23. Concentración de MDA en pacientes con depresión

a) antes y después del tratamiento



b) tras tratamiento comparado con voluntarios sanos



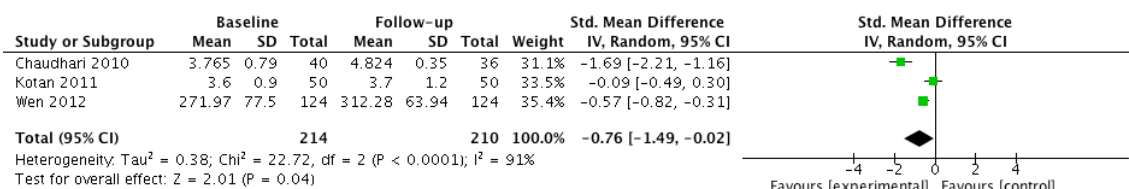
Al eliminarse un estudio del análisis por ser un valor atípico, persistió la diferencia encontrada entre antes y después del tratamiento farmacológico (3 estudios; $n = 130$ pacientes que se evalúan dos veces; $SMD = -0.90$; 95% CI, -1.16 a -0.65; $P < 0.001$; $I^2 = 0\%$).

Ácido úrico (antioxidante no enzimático)

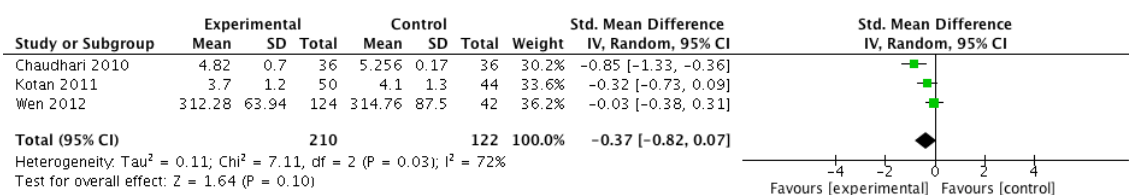
La concentración de ácido úrico aumentó significativamente tras el tratamiento con antidepresivos (3 estudios; $n = 214$ pacientes que se evalúan en dos ocasiones; $SMD = 0.76$; 95% CI, 0.03 a 1.49; $P = 0.042$; $I^2 = 91\%$) (Figura 24a), sin hallarse diferencias entre los pacientes tras el tratamiento y el grupo de controles sanos (3 estudios; $n = 332$; $SMD = -0.37$; 95% CI, -0.81 a 0.07; $P = 0.10$; $I^2 = 72\%$) (Figura 24b).

Figura 24. Concentración de ácido úrico en pacientes con depresión

a) antes y después del tratamiento



b) tras tratamiento comparado con voluntarios sanos

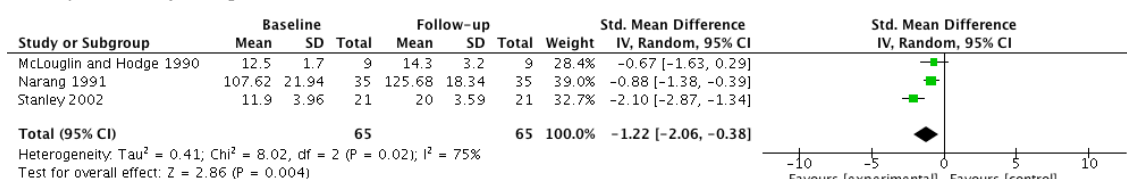


Zinc (antioxidante no enzimático)

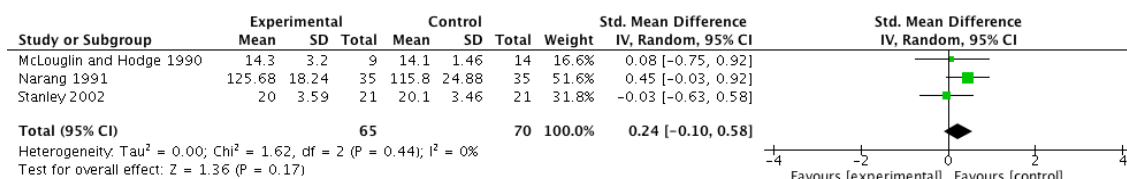
La concentración de zinc aumentó significativamente tras el tratamiento antidepresivo (3 estudios; n = 65 evaluados en dos ocasiones; SMD = 1.22; 95% CI, 0.40 a 2.04; $P = 0.004$; $I^2 = 75\%$) (Figura 25a), de modo que entonces ya no se distinguían del grupo de voluntarios sanos (3 estudios; n = 135; SMD = 0.24; 95% CI, -0.10 a 0.58; $P = 0.16$; $I^2 = 0\%$) (Figura 25b).

Figura 25. Concentración de zinc en pacientes con depresión

a) antes y después del tratamiento



b) tras tratamiento comparado con voluntarios sanos

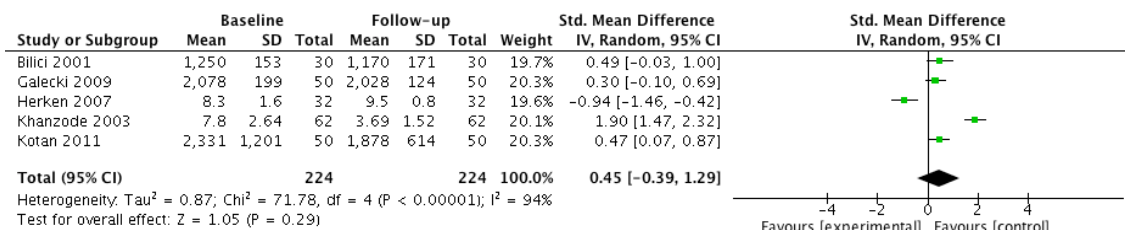


Antioxidantes enzimáticos: SOD, CAT, GPx

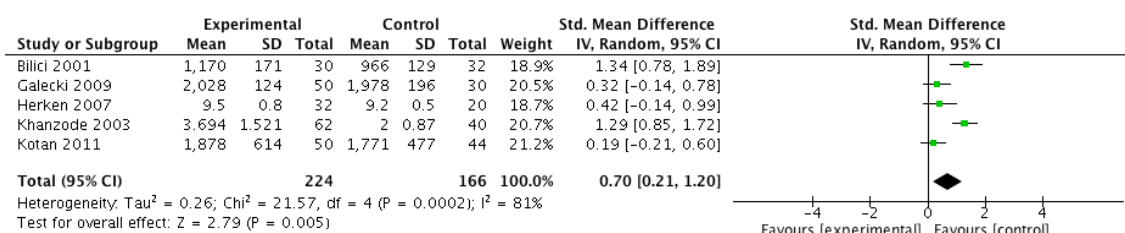
Tras el tratamiento con antidepresivos no se observó cambio significativo en la actividad de las enzimas **SOD y GPx** (SOD: 5 estudios; n = 130 pacientes evaluados en dos ocasiones; SMD = 0.45; 95% CI, -0.38 a 1.28; $P = 0.29$; $I^2 = 94\%$ y GPx: 3 estudios; n = 130 que son evaluados dos veces; SMD = 0.04; 95% CI, -0.29 a 0.37; $P = 0.81$; $I^2 = 46\%$) (Figura 26a; Figura 27). Al comparar con el grupo de voluntarios sanos, los pacientes con depresión tras el tratamiento seguían presentando un aumento significativo de la enzima SOD (5 estudios; n = 360; SMD = 0.70; 95% CI, 0.21 a 1.19; $P = 0.005$; $I^2 = 81\%$) (Figura 26b).

Figura 26. Actividad de la enzima SOD en pacientes con depresión

a) antes y después del tratamiento

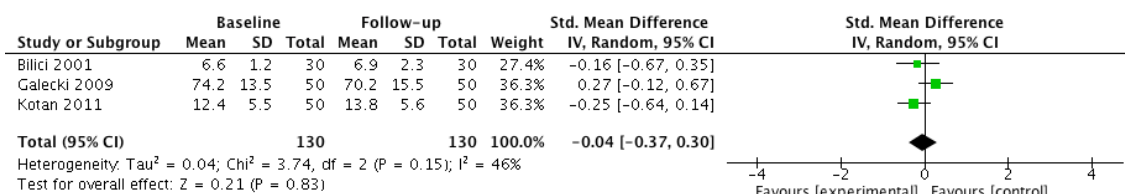


b) tras tratamiento comparado con voluntarios sanos



En el análisis de sensibilidad, considerando únicamente aquellos estudios que evalúan hematíes, se producía un descenso significativo de la actividad de SOD tras el tratamiento farmacológico (3 estudios; $n = 130$ pacientes evaluados dos veces; $SMD = -0.41$; 95% CI, -0.65 a -0.16; $P = 0.001$; $I^2 = 0\%$). Sin embargo, tras el tratamiento farmacológico la actividad continuó siendo superior que en el grupo de voluntarios sanos (3 estudios; $n = 436$; $SMD = 0.59$; 95% CI, -0.06 a 1.24; $P = 0.07$; $I^2 = 83\%$). Este resultado debe valorarse con cautela porque, a pesar de que los niveles son ligeramente mayores, el intervalo de confianza era muy amplio.

Figura 27. Actividadde la enzima GPx en pacientes con depresión antes y después del tratamiento



Estos resultados anteriores quedan recogidos en las tablas 8 y 9.

Tabla 8. Comparación de parámetros de estrés oxidativo y antioxidantes entre pacientes con depresión y voluntarios sanos

Parámetros	Número de estudios	Número de pacientes	Diferencia de medias estandarizada	IC 95% inferior	IC 95% superior	Valor <i>P</i>
MDA	8	476	1,34	0,57	2,17	0,0007
Nitritos	3	193	-0,43	-1,26	0,41	0,31
Ácido úrico	4	296	-0,64	-1,22	-0,06	0,03
Zinc	13	1408	-0,66	-0,98	-0,34	<0,0001
SOD	11	515	0,62	0,07	1,18	0,02
CAT	3	89	0,94	-0,26	2,13	0,12
GPx	6	215	-0,16	-0,66	0,35	0,54

CAT: catalasa; GPx: glutathion peroxidasa; MDA: malondialdehído; SOD: superóxido dismutasa.

Tabla 9. Comparación de parámetros de estrés oxidativo y antioxidantes entre pacientes con depresión: antes y después del tratamiento farmacológico; y después del tratamiento farmacológico comparados con voluntarios sanos

Parámetros		Número de estudios	Número de pacientes	Diferencia de medias estandarizada	IC 95% inferior	IC 95% superior	Valor P
MDA	antes y después	4	194	1,45	0,47	2,44	0,004
	después y vs.	4	139	0,07	-0,19	0,34	0,6
Ácido úrico	antes y después	3	214	-0,76	-1,49	-0,02	0,04
	después y vs.	3	210	-0,37	-0,82	0,07	0,1
Zinc	antes y después	3	65	-1,22	-2,06	-0,38	0,004
	después y vs.	3	65	0,24	-0,1	0,58	0,17
SOD	antes y después	5	224	0,45	-0,39	1,29	0,29
	después y vs.	5	224	0,7	0,21	1,2	0,005
GPx	antes y después	3	130	-0,37	0,3	0,35	0,83

GPx: glutathion peroxidasa; MDA: malondialdehído; SOD: superóxido dismutasa; vs: voluntarios sanos

5.2. Marcadores de estrés oxidativo y antioxidantes en pacientes con trastorno bipolar comparados con voluntarios sanos; y el efecto del tratamiento farmacológico (resultados de metaanálisis)

Una vez realizada la búsqueda bibliográfica por medio de los términos anteriormente especificados, se continúa con el resto de pasos para la realización del trabajo de metaanálisis.

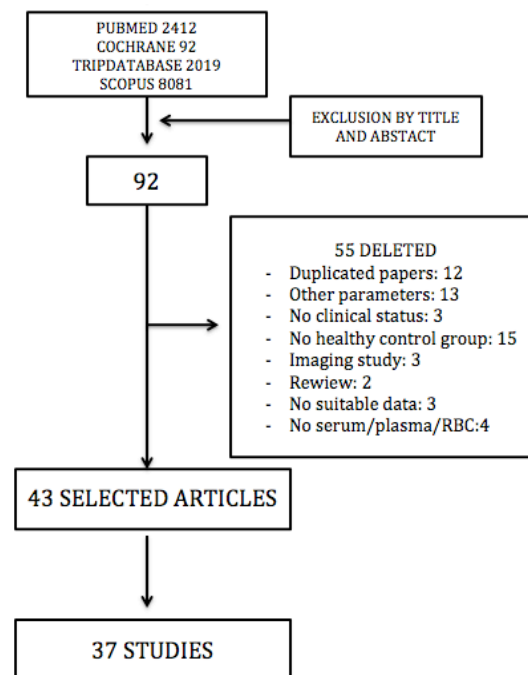
Selección de estudios

En este segundo trabajo se incluyeron 36 estudios que reunían las características señaladas en el apartado de métodos. Estas publicaciones se extrajeron de entre los 91 estudios potencialmente elegibles, seleccionados tras la primera exclusión por título y resumen. Tras la lectura completa del artículo, 55 más fueron excluidos por las siguientes razones:

- a) Artículos duplicados.
- b) Los datos presentados no correspondían a los marcadores de estrés oxidativo seleccionados, los datos no eran aportados por media y D.E. y/o las muestras procedían de fuentes biológicas diferentes de las estudiadas (plasma, suero, hematíes).
- c) El diagnóstico no correspondía a trastorno bipolar.
- d) El estudio no incluía un grupo control de voluntarios sanos.
- e) Eran estudios de imagen o de revisión.

Los autores fueron contactados vía email para solicitarles datos no presentes en las publicaciones o para clarificar los datos presentados. El 40.5% respondió a la petición.

Figura 28. Diagrama de flujo



Valoración de calidad

Se valoró la calidad de los estudios incluidos en este trabajo según la guía STROBE (vom Elm *et al.*, 2007). Solo 11 (30%) de los estudios incluidos cumplían todos los criterios de calidad, lo que supone que la calidad global de la muestra era media-baja.

Los métodos y fuente de selección de los participantes no quedaban claramente especificados en seis estudios; el diagnóstico de trastorno bipolar y la valoración realizada no era clara en tres artículos; además, en cuatro publicaciones no se describían correctamente los parámetros de estrés oxidativo estudiados y en un estudio no se detalló el procesamiento de los datos (Tabla 8).

Tabla 10. Valoración de la calidad de los estudios incluidos según criterios STROBE

	Clear Description of Participant Eligibility and Sources / Methods of Participant Selection	Clearly Defined Exposure Ascertainment: Bipolar Disorder	Clearly Defined Outcome Ascertainment: Oxidative Stress / Antioxidant	Clear Description of Handling of Bipolar disorder and Oxidative Stress in the Analyses	Control for Potential Confounders by Exclusion or Statistical Adjustment
Abdalla et al. (1986)	X	X	X		
Kuloglu et al. (2002)	X	X	X	X	
Savas et al. (2002)	X	X	X	X	
Ranjekar et al. (2003)	X	X	X	X	
Yanik et al. (2004)	X	X	X	X	X
Savas et al. (2006)	X	X	X	X	
Gergerlioglu et al. (2007)	X	X	X	X	
Machado-Vieira et al. (2007)	X	X	X	X	
Andreazza et al (2007), Kunz et al. (2008)	X	X	X	X	X
De Berardis et al. (2008)		X		X	X
Selek et al. (2008)	X	X	X	X	
Andreazza et al. (2009)	X	X	X	X	X
Salvadore et al. (2010)		X		X	X
Kapczinski et al. (2011)	X	X	X	X	
Banerjee et al. (2012)	X	X	X	X	X
Ezzaher et al. (2012)	X	X	X	X	X
Raffa et al. (2012)	X	X	X	X	X
Wen et al. (2012)	X		X	X	X
Gubert et al.					

(2013)	X	X	X	X	
Aydemir et al. (2014)	X	X	X	X	X
Cudney et al. (2014)	X	X	X	X	X
Kesebir et al. (2014)	X	X	X	X	
De Sousa et al. (2014)	X	X	X	X	
Gültekin et al. (2014)		X		X	
Magalhaes et al. (2012), Weiner et al. (2014), Mondin et al. (2016)	X	X	X	X	X
Mico et al. (2011), Martez-Centitabengoa et al. (2014)	X	X	X	X	
Rosa et al. (2014)	X	X	X	X	
Sarandol et al. (2015)		X	X	X	
Bengesser et al. (2015)	X	X	X	X	X
Selek et al. (2015)	X		X	X	
Tsai and Huang (2015)	X	X		X	
Tuncel et al. (2015)	X	X	X	X	
Fathy et al. (2016)	X	X	X	X	
Mansur et al. (2016, 2016b)	X	X		X	X
Siwek et al. (2016, 2016b)		X	X	X	X
Yoshimi et al. (2016)	X	X	X	X	X
Chowdhury et al. (2017)			X	X	
	31/37 (83.8%)	34/37 (91.9%)	32/37 (86.5%)	36/37 (97.3%)	16/37 (43.2%)

Características de los estudios incluidos

Estudios transversales: pacientes con trastorno bipolar y controles sanos

Se incluyeron 37 estudios que incluían pacientes con trastorno bipolar ($n=1840$; edad media $\pm$ D.E = 35.6 ± 9.16 ; mujeres 46.4%; duración de la enfermedad media $\pm$ D.E = 11.25 ± 6.9) y voluntarios sanos ($n=1578$; edad media $\pm$ D.E = 33.7 ± 8.9 ; mujeres 41.9%).

Los pacientes y el grupo de voluntarios sanos habían sido emparejados según las variables edad y sexo en 19 estudios; según las variables edad, sexo y hábito tabáquico, en cinco estudios; en un estudio según las variables edad, sexo, hábito tabáquico e IMC; y también en un estudio según la edad, el sexo, el nivel educativo y el estado marital. En seis estudios no se especificaba o no se utilizaba ninguna variable para emparejar a los pacientes con trastorno bipolar con los controles sanos. Para realizar el diagnóstico de trastorno bipolar se utilizaron criterios DSM-IV en 35 estudios.

Los pacientes de 9 estudios (el 25% de los pacientes con trastorno bipolar) se encontraban sin tratamiento farmacológico. Y los pacientes de 28 estudios (el 75% de los pacientes con trastorno bipolar) recibían tratamiento, de los que el 15.5% tomaban antidepresivos (AD), el 40.9% antipsicóticos (AP), el 27.5% litio y el 54.2% otros estabilizadores del ánimo (*mood stabilizers*, MS).

Al inicio, la puntuación en la escala *Young Mania Rating Scale* (YMRS) fue de 14.9 ± 4.89 (en 15 estudios) y en la *Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS) fue de 9.89 ± 4.5 (en 17 estudios) respectivamente.

Tabla 11. Características de pacientes y controles sanos: estudios transversales

		HC	Mania	Depression	Euthymia	Total patients
Sample size		1578	430	290	755	1840
Age	(mean±SD)	33.7±8.9	32.1±8.13	36.22±8.63	37.43±9.9	35.6±9.16
Female	(%)	41.9	36.7	47.9	49	46.4
Illness duration	(mean±SD)	-	10.8±6.67	10.75±5.4	14.0±8.7	11.25±6.9
YMRS base-line	(mean±SD)	-	31.5±6.5	3.84±4.6	2.03±2.98	14.9±4.89
HDRS base-line	(mean±SD)	-	4.86±3.97	23.6±5.96	3.77±3.64	9.89±4.5
BMI	(mean±SD)	24.1±3.4	23.6±4.17	24.3±2.82	26.13±3.9	25.1±3.99
Smoking	(%)	29.01	52.7	45.33	44.9	38.9
Treatment base-line						
AD	(%)	-	0.62	34.1	13.4	15.5
AP	(%)	-	58.0	30.3	48.3	40.9
MS	(%)	-	45.6	51.1	57.6	54.2
Lithium	(%)	-	25	24.8	38.1	27.5

Estudios longitudinales: pacientes con trastorno bipolar antes y después del tratamiento

Se incluyeron ocho estudios que describían a pacientes con trastorno bipolar (n=511 valorados en dos ocasiones; edad media ± D.E = 30.45±8.15; mujeres 36.2%; duración de la enfermedad media ± D.E = 9.2±5.67) y voluntarios sanos (n=296; edad media ± D.E = 28.25±7.22; mujeres 41.6%).

Los pacientes y el grupo control fueron emparejados según las variables edad y sexo en tres estudios; según la edad, el sexo y el hábito tabáquico en tres estudios; en un estudio se emparejaron según la variable edad y en otro estudio no se utilizaba o no se precisaba ninguna variable. Para realizar el diagnóstico de trastorno bipolar fueron utilizados criterios DSM-IV en ocho estudios.

Al inicio, en cinco estudios los pacientes no tomaban ningún tratamiento (el 62.5% de los pacientes con trastorno bipolar) y tomaban tratamiento los pacientes de tres estudios (el 12.5% de los pacientes con trastorno bipolar): el 19.1% de los pacientes tratados tomaban antidepresivos, el 47.1% antipsicóticos, el 20.7% litio y el 22.1% otros estabilizadores. Tras el seguimiento, el 8.21 % de los pacientes tratados tomaban antidepresivos, 62.9% antipsicóticos, el 32.75% litio y el 28.6% toman otros estabilizadores.

Al inicio la puntuación YMRS en tres estudios fue de 25.14 ± 7.05 y tras el seguimiento YMRS bajó a 4.53 ± 3.97 . La puntuación HDRS en dos estudios fue de 22.6 ± 3.6 al inicio y de 22.6 ± 3.6 tras el seguimiento.

Tabla 12. Características de pacientes y controles sanos: estudios longitudinales

		HC	Mania	Depression	Euthymia	Total patients
Sample size		296	157	58	0	215
Age	(mean+SD)	28.25±7.22	30.4±7.92	30.6±8.83	-	30.45±8.15
Female	(%)	41.56	27.3	30.21	-	36.2
Illness duration	(mean+SD)	-	12.3±7.7	3±1.6	-	9.2±5.67
YMRS base-line	(mean+SD)	-	31.5±7.5	6.1±5.6	-	25.14±7.05
YMRS follow-up	(mean+SD)	-	4.78±2.56	3.8±8.6	-	4.53±3.97
HDRS base-line	(mean+SD)	-	-	22.6±3.6	-	22.6±3.6
HDRS follow-up	(mean+SD)	-	-	7.3±5.9	-	7.3±5.9
BMI	(mean+SD)	21.1±2.9	22.5±4.31	-	-	22.5±4.31
Smoking	(%)	23.2	38.72	51.7	-	56.32
Treatment base-line						
AD	(%)	-	0.74	48.3	-	19.1
AP	(%)	-	59.4	27.5	-	47.1
MS	(%)	-	1.25	55.2	-	22.1
Lithium	(%)	-	13.5	-	-	20.7
Treatment follow-up						
AD	(%)	-	1.45	22.4	-	8.21
AP	(%)	-	62.23	33.27	-	62.9
MS	(%)	-	21.12	34.5	-	28.6
Lithium	(%)	-	20.33	50	-	32.75

Resultados

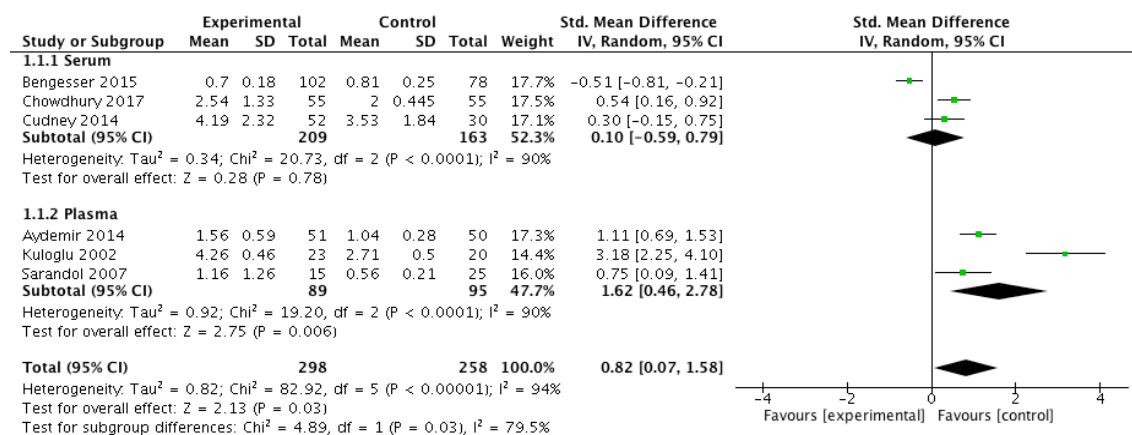
Pacientes con trastorno bipolar comparados con el grupo control: estudios transversales

Los estudios incluidos en el análisis contenían los datos de los marcadores de estrés oxidativo: MDA (seis estudios; tres analizan parámetros en suero y tres en plasma; cuatro eutimia), TBARS (doce estudios; siete en suero y cinco en plasma; cinco manía, cuatro depresión y ocho eutimia) y nitritos (cinco estudios; tres analizan parámetros en suero y dos en plasma). Y respecto a los antioxidantes: ácido úrico (nueve estudios; cuatro analizan parámetros en suero y cinco en plasma; cuatro manía, tres depresión y tres eutimia), GSH (seis estudios; tres analizan parámetros en plasma, uno en suero, uno en hematíes y uno en sangre total; tres manía y dos eutimia) y zinc (uno sólo estudio con pacientes con manía, depresión y eutimia). Y por último las enzimas antioxidantes: SOD (17 estudios; tres analizan parámetros en plasma, ocho en suero, cinco en hematíes y uno en sangre total; ocho manía, tres depresión y siete eutimia), CAT (ocho estudios; dos analizan parámetros en plasma, tres en suero, dos en hematíes y uno en sangre total; cinco manía, tres depresión y cuatro eutimia) y GPX (once estudios; dos analizan parámetros en plasma, tres en suero, cinco en hematíes y uno en sangre total; seis manía, dos depresión y tres eutimia) y GSH-t [tres estudios; dos analizan parámetros en plasma y uno en suero; tres eutimia].

MDA (marcador de estrés oxidativo)

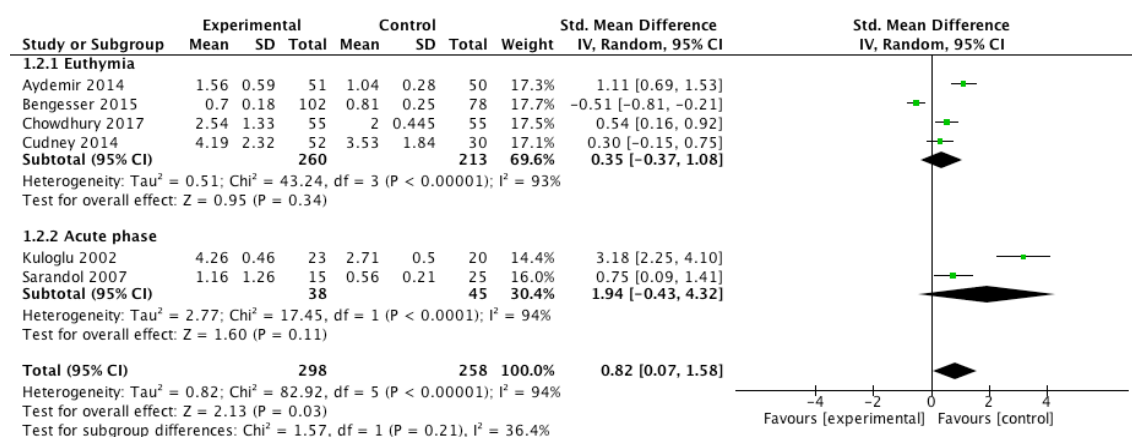
En los pacientes con trastorno bipolar comparados con el grupo de voluntarios sanos se observó un incremento significativo de los niveles de MDA (6 estudios; $n = 556$; $SMD = 0.82$; 95% IC, 0.07 a 1.58; $P = 0.03$; $I^2=94\%$). Cuando se restringe el análisis únicamente a las muestras recogidas en plasma, la concentración de MDA continuaba significativamente elevada (3 studies; $n=184$; $SMD=1.62$; 95% CI, 0.46 a 2.78; $P=0.006$) y disminuía ligeramente la heterogeneidad, aunque seguía elevada ($I^2 =90\%$). La concentración de MDA en suero y plasma era similar ($P=0.03$) (Figura 29).

Figura 29. MDA en pacientes con trastorno bipolar y controles sanos



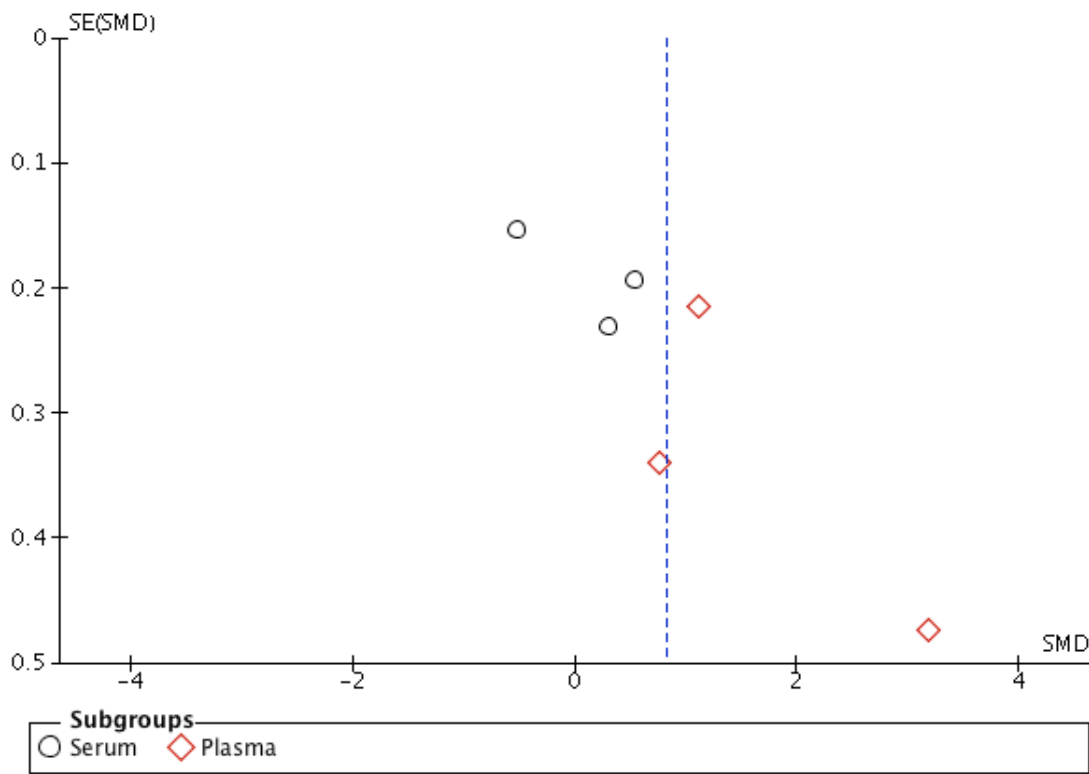
Se realizó también análisis por subgrupos, comparando a pacientes en fase de eutimia y en fase aguda de la enfermedad; en ambos la concentración de MDA era similar ($P=0.21$) y no existían diferencias significativas en la concentración de MDA entre el grupo de voluntarios sanos y los pacientes en fase de eutimia o en fase aguda del trastorno bipolar (eutimia $P=0.34$; fase aguda $P=0.11$) (Figura 30).

Figura 30. MDA en pacientes con trastorno bipolar y controles sanos. Análisis por subgrupos



El gráfico *funnel plot* (Figura 31) para la concentración de MDA en pacientes con trastorno bipolar comparados con voluntarios sanos dibujaba una nube de dispersión asimétrica, lo que impedía descartar la presencia del sesgo de selección.

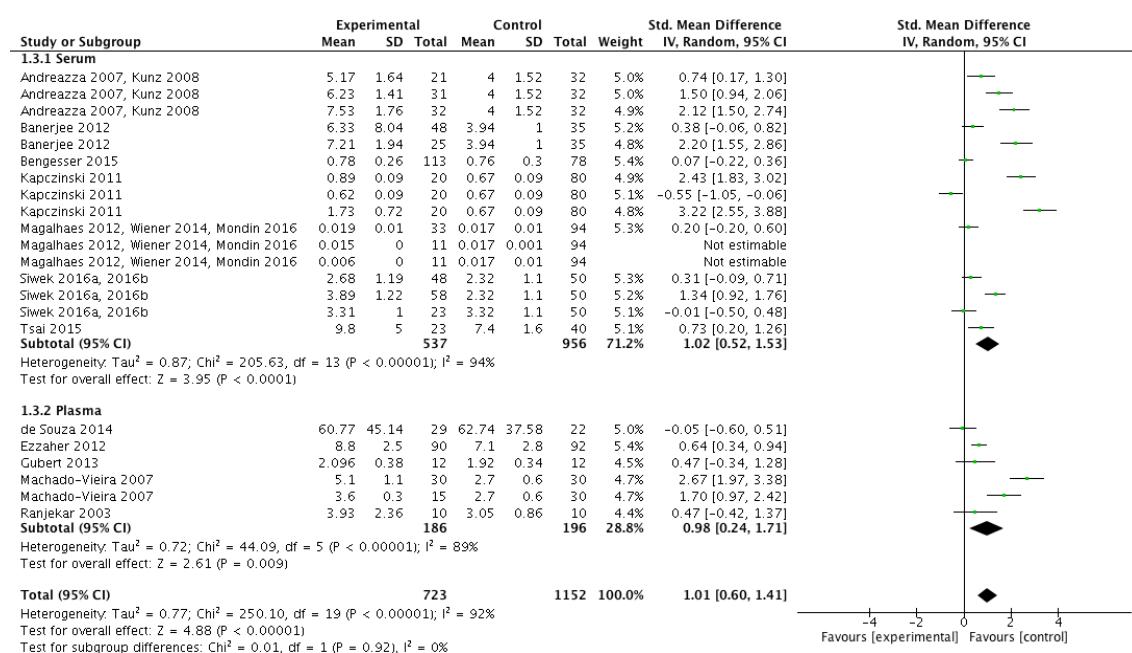
Figura 31. Funel plot para MDA en pacientes con trastorno bipolar y voluntarios sanos



TBARS (marcador de estrés oxidativo)

Comparado con el grupo control, los pacientes con trastorno bipolar presentaron un incremento estadísticamente significativo de niveles de TBARS (12 estudios; $n = 1875$; $SMD = 1.01$; 95% CI, 0.60 a 1.41; $P < 0.0001$; $I^2 = 92\%$). En el análisis de sensibilidad persistió el aumento significativo de TBARS en plasma (5 estudios; $n = 382$; $SMD = 0.94$; 95% IC, 0.24 a 1.71; $P = 0.009$; $I^2 = 89\%$) y en suero (7 estudios; $n = 1493$; $SMD = 1.02$; 95% IC, 0.52 a 1.53; $P < 0.0001$; $I^2 = 94\%$), sin cambio de la heterogeneidad. El análisis de subgrupos reflejó una concentración similar de TBARS en suero y plasma ($P = 0.92$) de pacientes con trastorno bipolar comparados con voluntarios sanos (Figura 32).

Figura 32. TBARS en pacientes con trastorno bipolar y en controles sanos



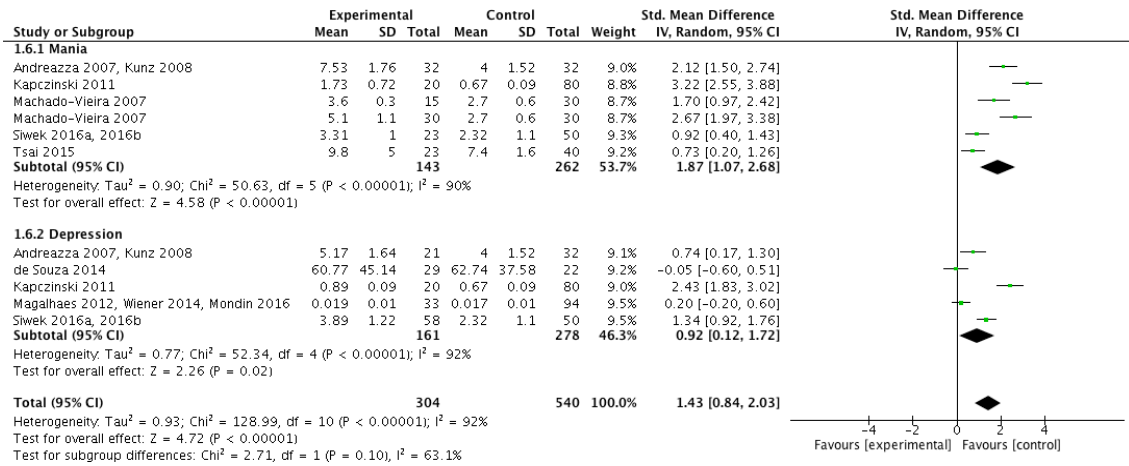
Se encontró también un incremento significativo de los niveles de TBARS en la fase de manía (7 estudios; $n=1493$; $SMD=1.02$; 95% IC, 1.07 a 2.68; $P < 0.0001$; $I^2=90\%$) y en la fase depresiva (5 estudios; $n=439$; $SMD=0.92$; 95% IC, 0.12 a 1.72; $P = 0.02$; $I^2=92\%$), pero no en los pacientes en eutimia (8 estudios; $n=664$; $SMD=0.31$; 95% IC, -0.07 a 0.68; $P = 0.11$; $I^2=73\%$), comparados con controles sanos.

La concentración de TBARS, comparado con controles sanos, fue similar en pacientes con depresión y en pacientes con manía ($P = 0.10$) (Figura 33a) y mayor en pacientes con manía con respecto a los que están en eutimia ($P = 0.0005$) (Figura 33b). La concentración también fue similar entre pacientes con depresión y pacientes en eutimia ($P = 0.17$) (Figura 33c).

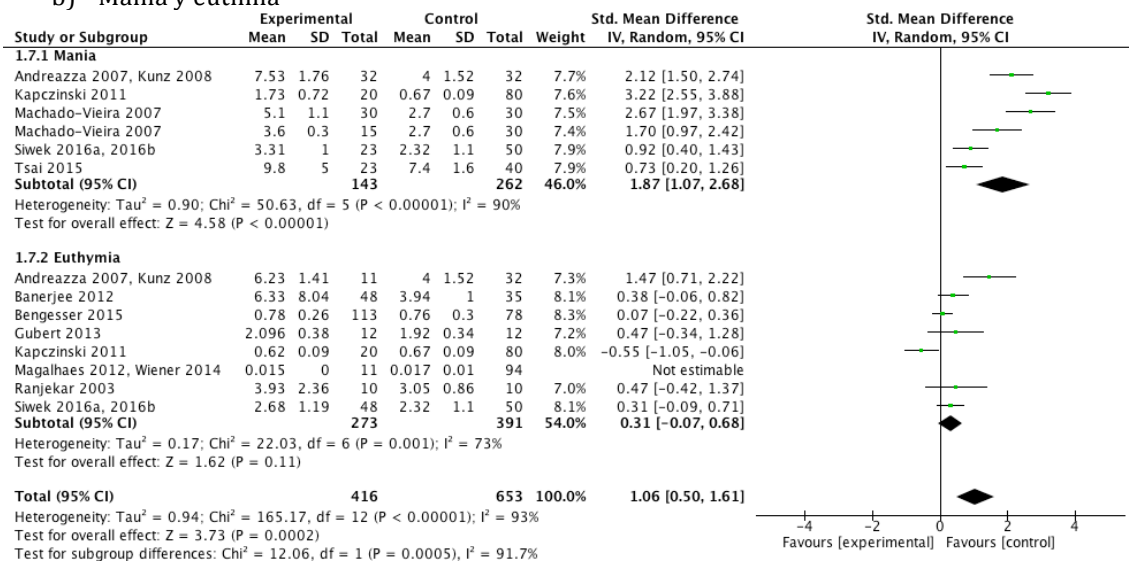
El *funnel plot* (Figura 34) de TBARS en pacientes con trastorno bipolar comparados con voluntarios sanos describía una gráfica simétrica, lo que permitió descartar el sesgo de selección.

Figura 33. Análisis de subgrupos de TBARS en pacientes con trastorno bipolar y en controles sanos

a) Mania y depresión



b) Mania y eutimia



c) Depresión y eutimia

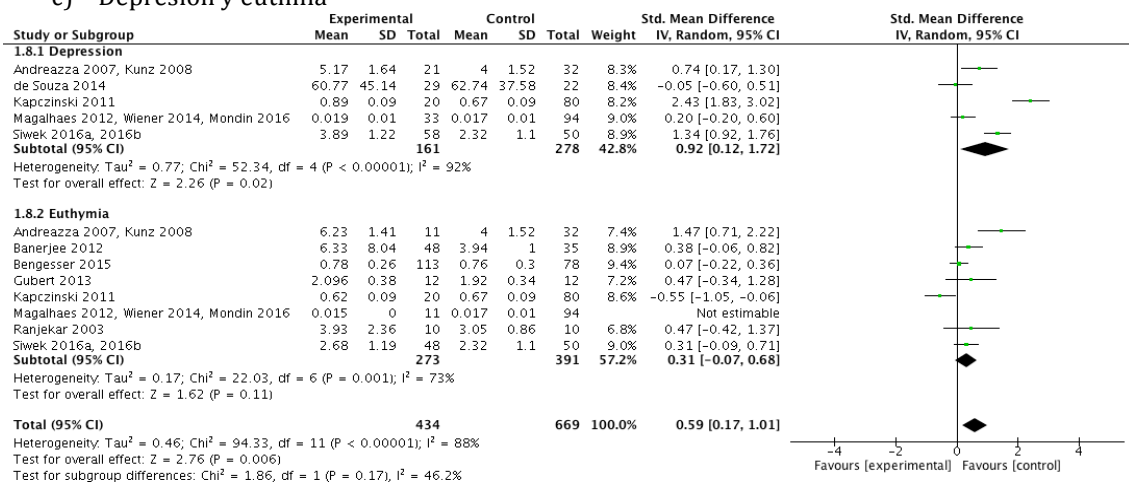
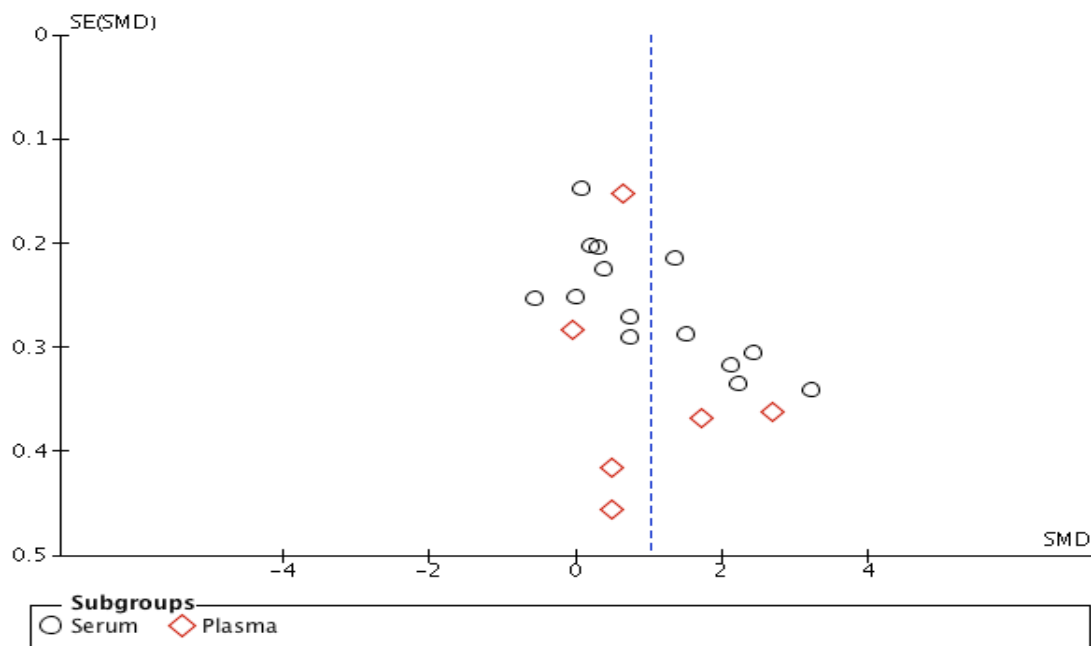


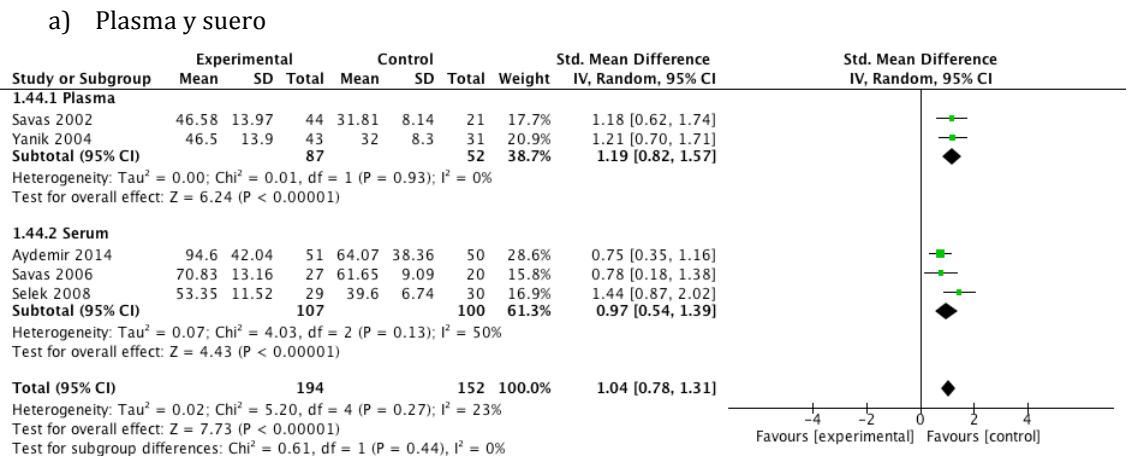
Figura 34. Funel plot de TBARS en pacientes con trastorno bipolar y en controles sanos



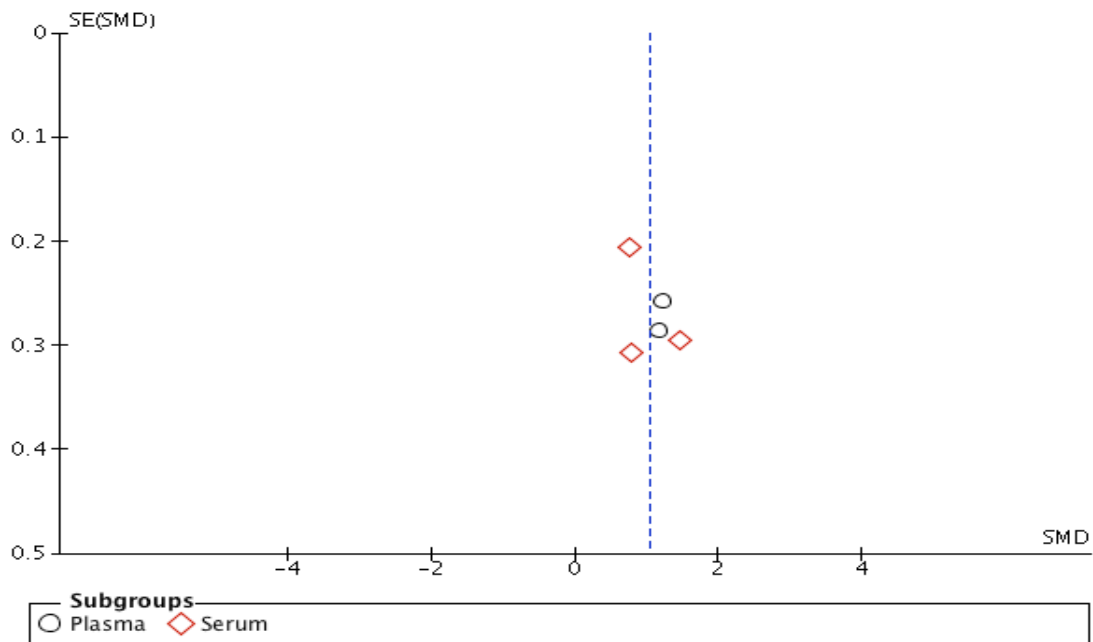
Nitritos (marcador de estrés oxidativo)

Los nitritos estaban significativamente elevados en pacientes con trastorno bipolar, comparados con el grupo de controles sanos (5 estudios; n = 346; SMD = 1.04; 95% IC, 0.78 a 1.31; $P < 0.0001$; $I^2=23\%$)(Figura 35a).

Figura 35. Nitritos en pacientes con trastorno bipolar y en controles sanos



b) Funnel plot



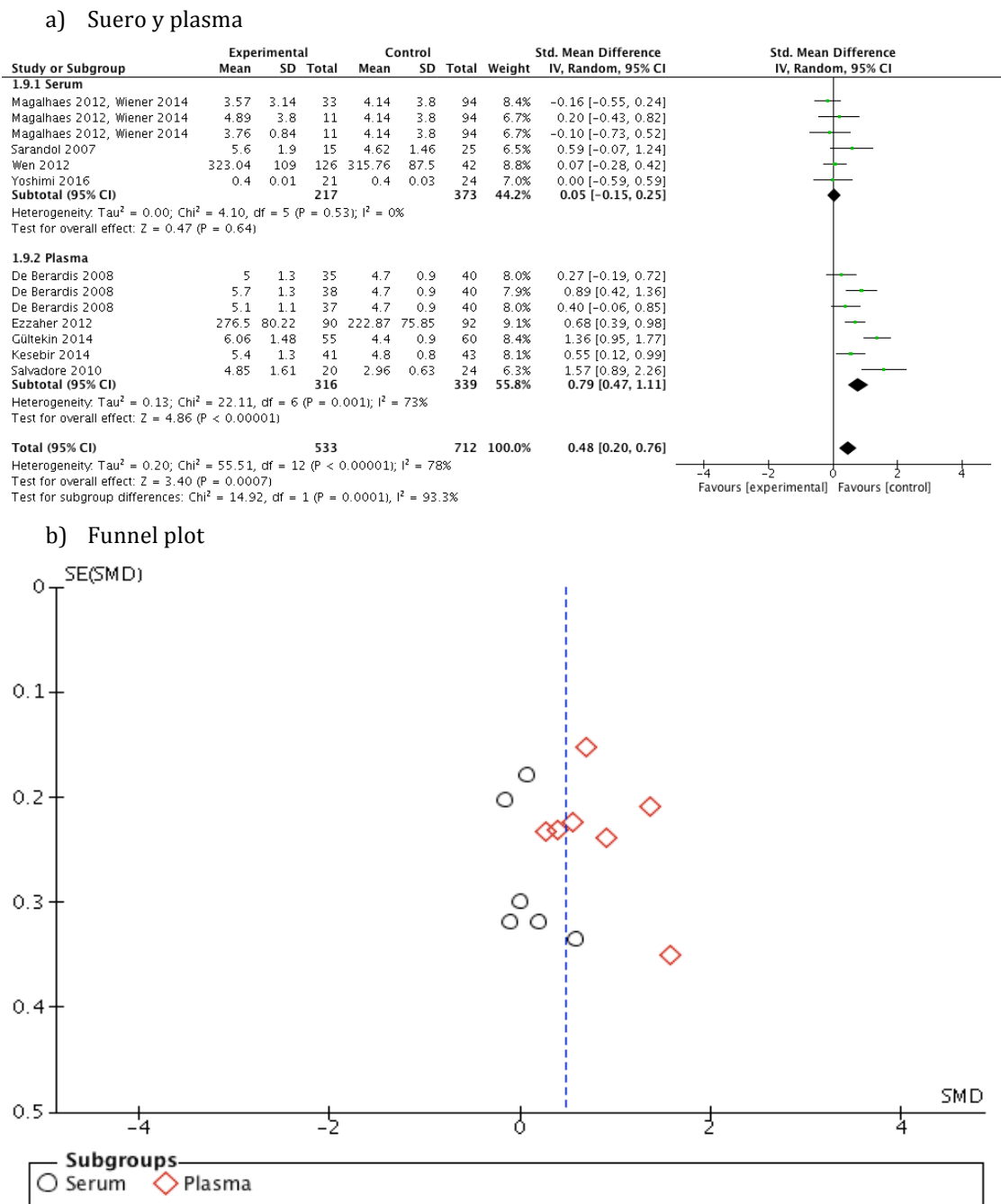
El *funnel plot* (Figura 35b) para los nitritos en pacientes con trastorno bipolar comparados con controles sanos dibujaba una apariencia simétrica, que descartaba el sesgo de selección.

Ácido úrico (antioxidante no enzimático)

Los pacientes con trastorno bipolar tenían un aumento significativo de la concentración del ácido úrico, comparados con el grupo voluntarios sanos (9 estudios; $n = 1245$; $SMD = 0.48$; 95% IC, 0.2 a 0.76; $P = 0.0007$; $I^2 = 78\%$). El análisis de sensibilidad reflejó que la concentración de ácido úrico en suero de pacientes con trastorno bipolar no permanecía elevada, mientras que sí lo hacía la concentración de ácido úrico en plasma (5 estudios; $n = 655$; $SMD = 0.79$; 95% IC, 0.47 a 1.11; $P < 0.0001$; $I^2 = 73\%$). En el análisis por estratos, la concentración de ácido úrico en suero fue mayor que en plasma ($P < 0.0001$ en el test de diferencias entre subgrupos)(Figura 36a).

La apariencia grafica de dispersión de puntos (Figura 36b) para el ácido úrico en pacientes con trastorno bipolar comparados con controles sanos fue simétrica, lo que permitió descartar el sesgo de selección.

Figura 36. Ácido úrico en pacientes con trastorno bipolar y en controles sanos

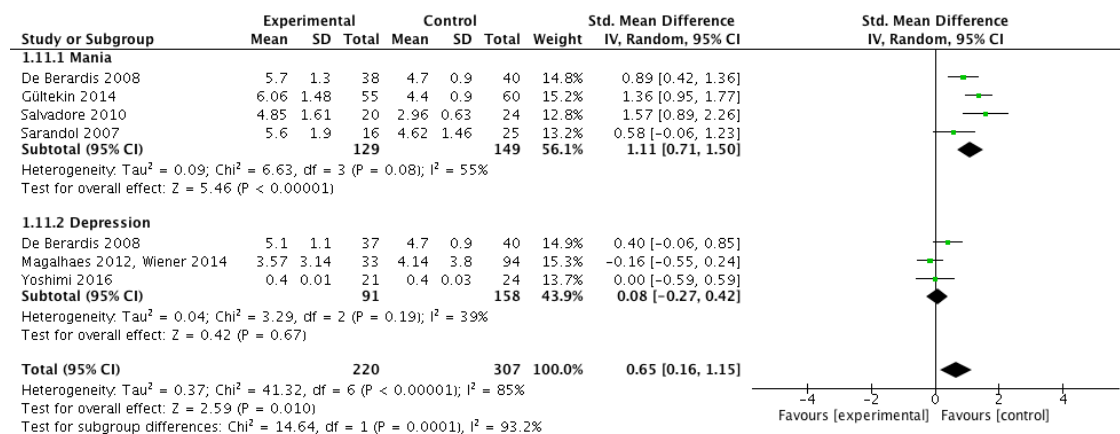


Se realizó un segundo análisis estratificado, esta vez según la fase del trastorno bipolar. El ácido úrico estaba significativamente incrementado en los pacientes en fase de manía (4 estudios; $n = 278$; $SMD = 1.11$; 95% IC, 0.71 a 1.50; $P < 0.0001$; $I^2 = 55\%$) y en los pacientes en estado de eutimia (3 estudios; $n = 264$; $SMD = 0.37$; 95% IC, 0.09 a 0.65; $P = 0.009$; $I^2 = 0\%$), pero no se encontraba alterado en pacientes en fase depresiva (3 estudios; $n = 249$; $SMD = 0.08$; 95% IC, -0.27 a 0.42; $P = 0.67$; $I^2 = 39\%$), todos ellos con respecto al grupo de voluntarios sanos (Figura 37).

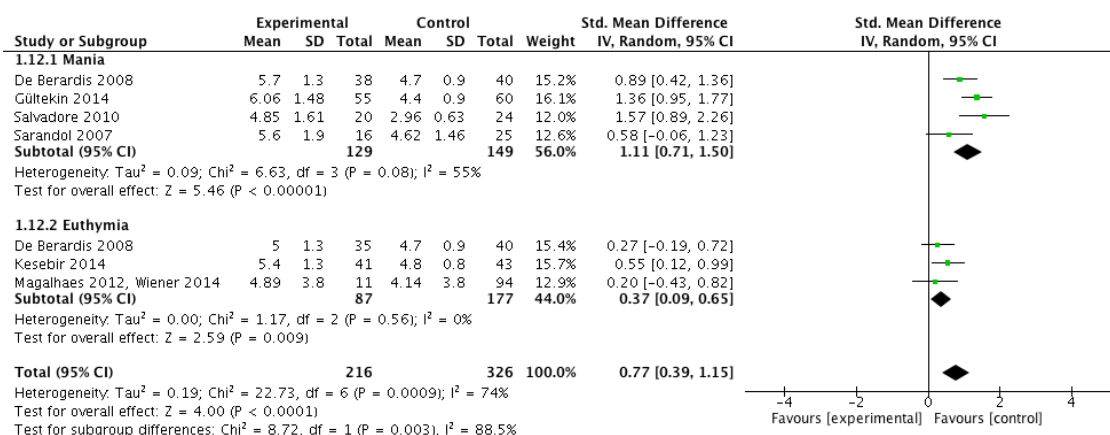
Al comparar a los pacientes en fase de manía con los que estaban en fase depresiva (Figura 37a), se observaron mayores niveles de ácido úrico en los pacientes con manía ($P = 0.0001$); y también al compararlos con los pacientes en estado de eutimia ($P = 0.003$) (Figura 37b), pero la concentración fue similar entre depresión y eutimia ($P = 0.19$) (Figura 37c), según los sucesivos test de diferencias entre subgrupos).

Figura 37. Análisis de subgrupos, ácido úrico en pacientes con trastorno bipolar y en controles sanos.

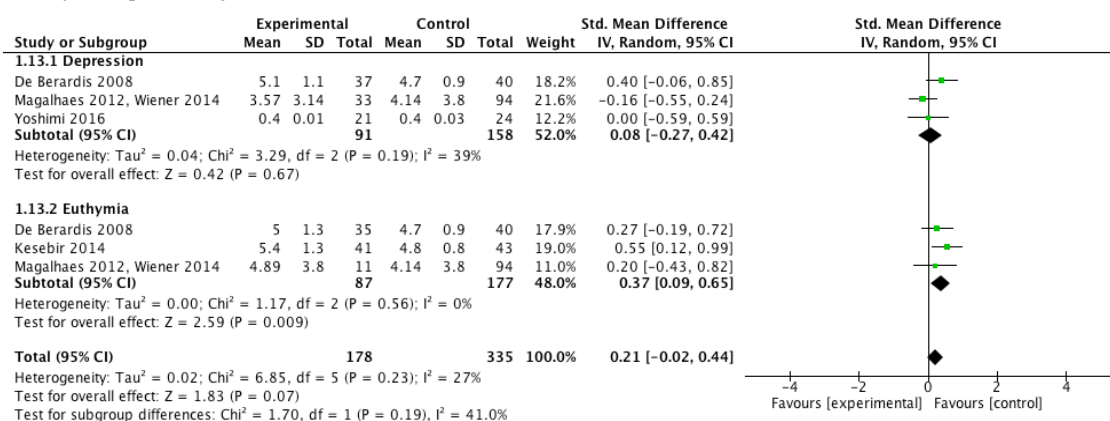
a) Manía y depresión



b) Mania y eutimia



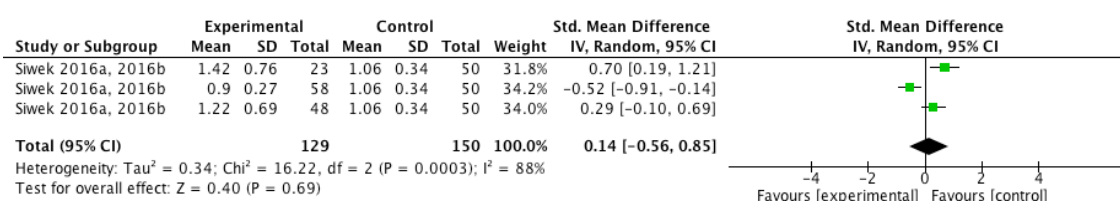
c) Depresión y eutimia



Zinc (antioxidante no enzimático)

La concentración de zinc en pacientes con trastorno bipolar no era diferente de la concentración del grupo de voluntarios sanos (1 estudio que incluye 3 grupos de pacientes con mania, depresión y eutimia; $n = 279$; $SMD = 0.14$; 95% CI, -0.56 a 0.85; $P = 0.69$; $I^2 = 88\%$) (Figura 38).

Figura 38. Zinc en pacientes con trastorno bipolar y en controles sanos



GSH (antioxidante no enzimático)

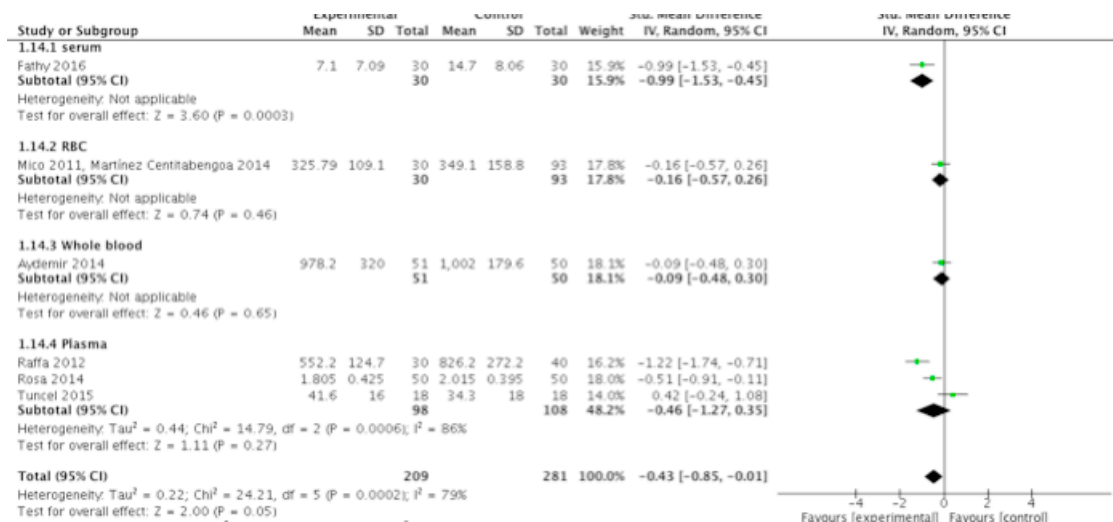
La concentración de glutatión estaba significativamente disminuida en los pacientes con trastorno bipolar, comparados con el grupo control (6 estudios; n = 490; SMD = -0.43; 95% IC, -0.85 a -0.01; $P=0.05$; $I^2=79\%$) (Figura 39a).

En el análisis por subgrupos, se observó una concentración similar en pacientes en fase de manía y pacientes en estado de eutimia ($P=0.94$, en el test de diferencias entre subgrupos) (Figura 39b).

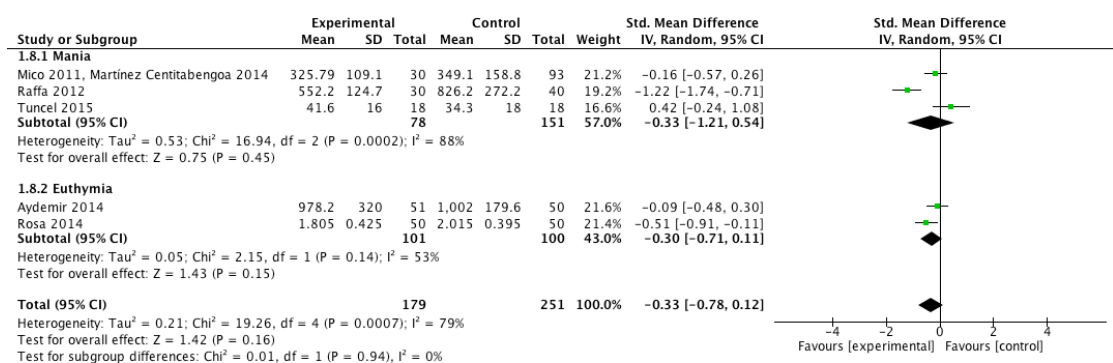
Se estudió el sesgo de selección mediante el *funnel plot*. La gráfica fue simétrica, lo que permitió descartar la existencia del sesgo de selección (Figura 39c).

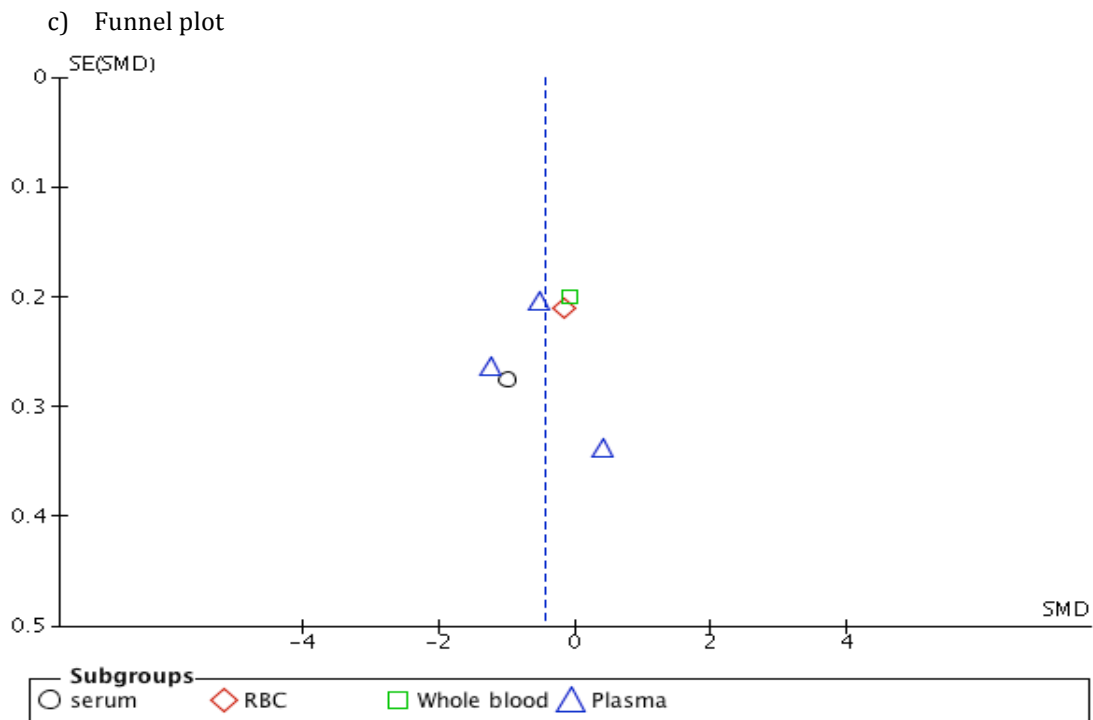
Figura 39. GSH en pacientes con trastorno bipolar y en controles sanos

a) Suero, plasma, hematíes y sangre total



b) Análisis por subgrupos





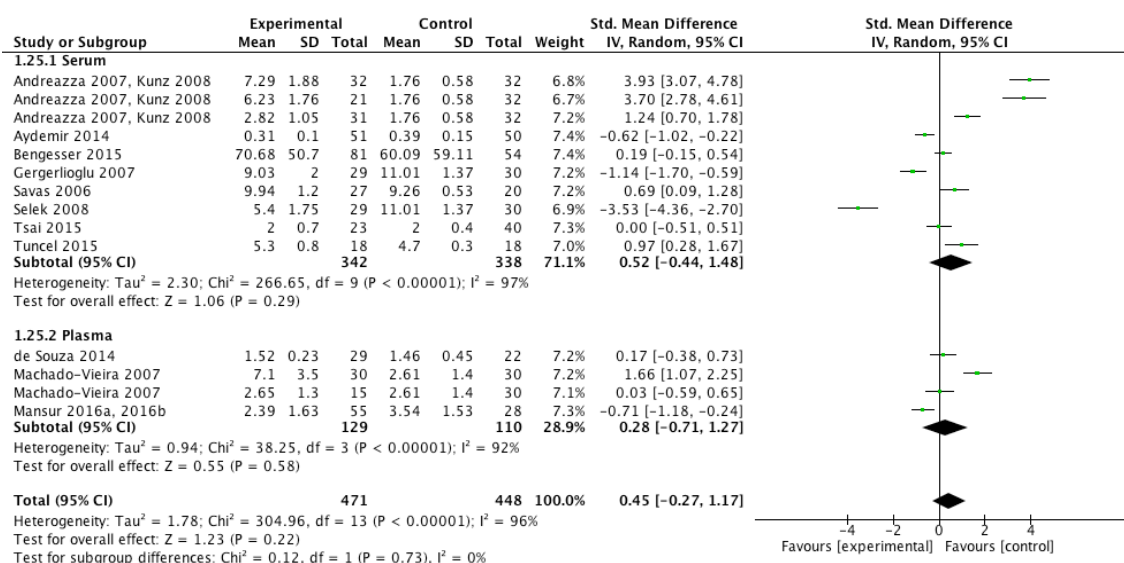
Antioxidantes enzimáticos: SOD, CAT, GPx, GSH-t

Comparado con el grupo control, los pacientes con trastorno bipolar no experimentaban cambios en la actividad de la **enzima SOD** (17 estudios; $n = 1265$; $SMD = 0.46$; 95% IC, -0.10 a 1.02; $P = 0.10$; $I^2 = 95\%$). El análisis por estratos mostraba una actividad similar entre plasma y suero ($P = 0.73$) (Figura 40a), entre suero y hematíes ($P = 0.86$) (Figura 40b) y entre plasma y hematíes ($P = 0.62$) (Figura 40c), según los sucesivos test de diferencias entre subgrupos)

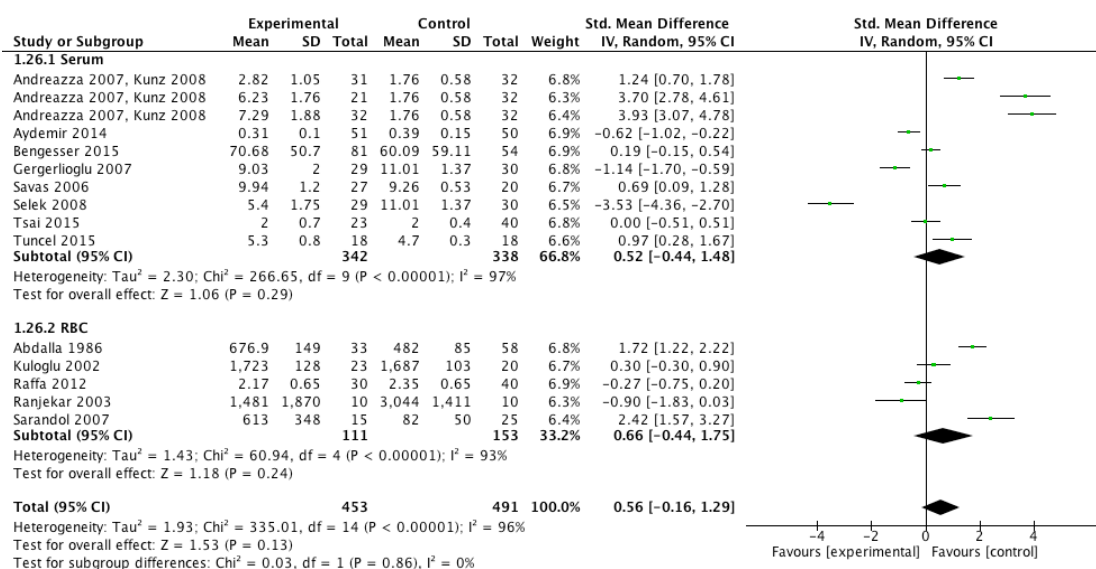
El *funnel plot* describía una nube de puntos simétrica, que permitía descartar el sesgo de selección (Figura 41)

Figura 40. Análisis por subgrupos de la enzima antioxidante SOD en pacientes con trastorno bipolar y en controles sanos.

a) plasma y suero



b) suero y hematíes



c) plasma y hematíes

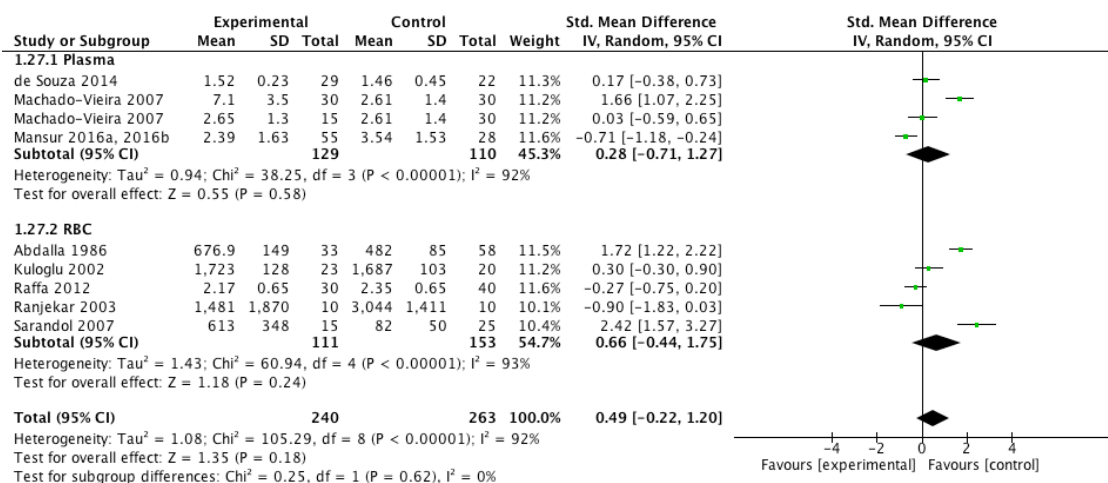
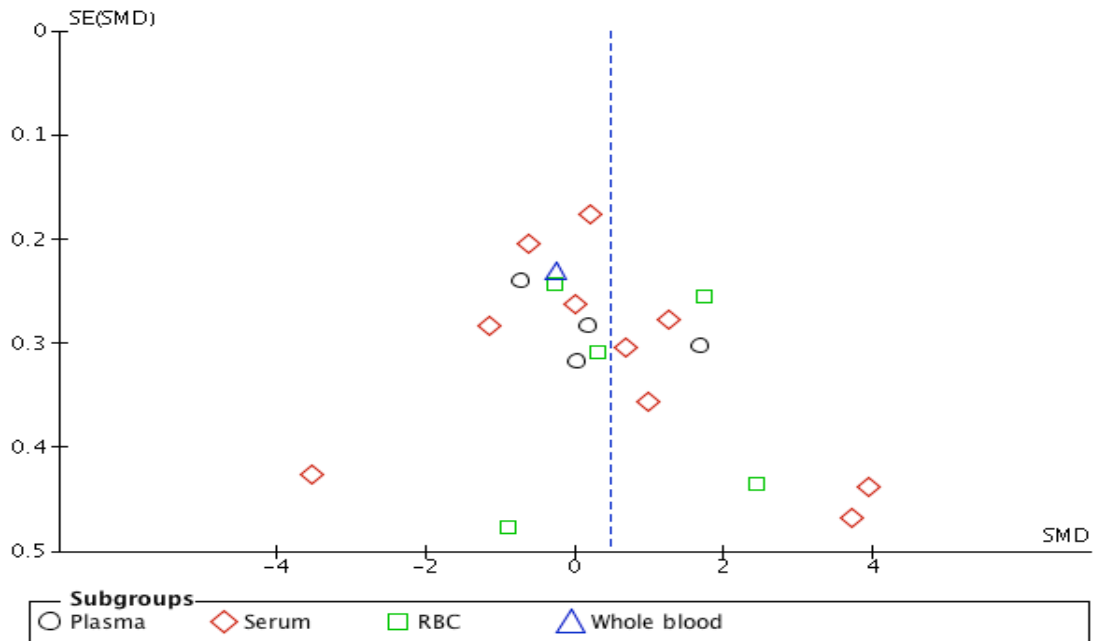


Figura 41. Funnel plot de la enzima antioxidante SOD en pacientes con trastorno bipolar y controles sanos.

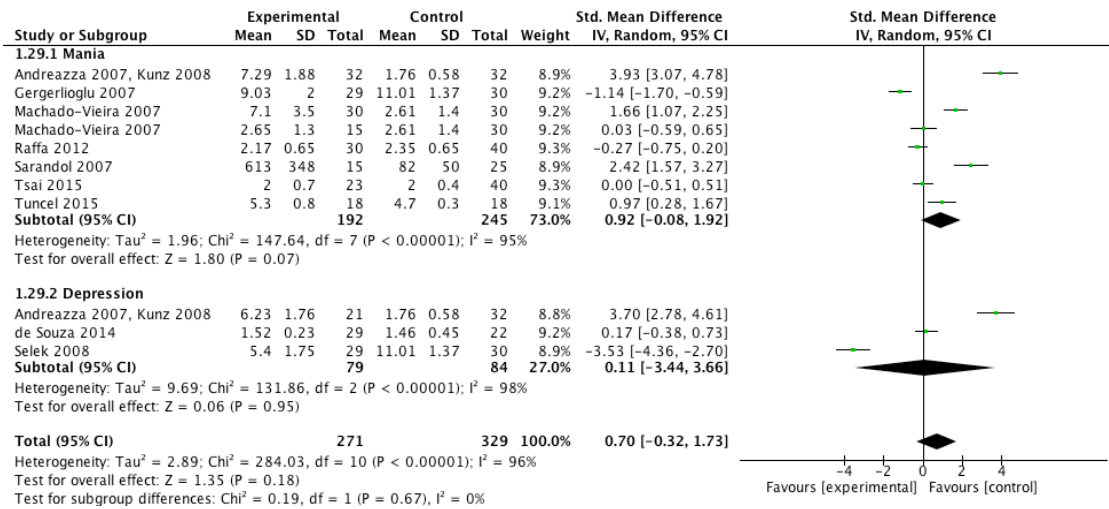


El análisis por subgrupos según la fase del trastorno bipolar indicó que no existía cambio significativo de la actividad de la enzima antioxidante en los pacientes en fase de manía ($P = 0.07$), en fase de depresión ($P = 0.95$) y en fase de eutimia ($P = 0.35$) comparados con el grupo de controles sanos. En el caso de la manía, el resultado está próximo a la significación y el intervalo de confianza es muy amplio.

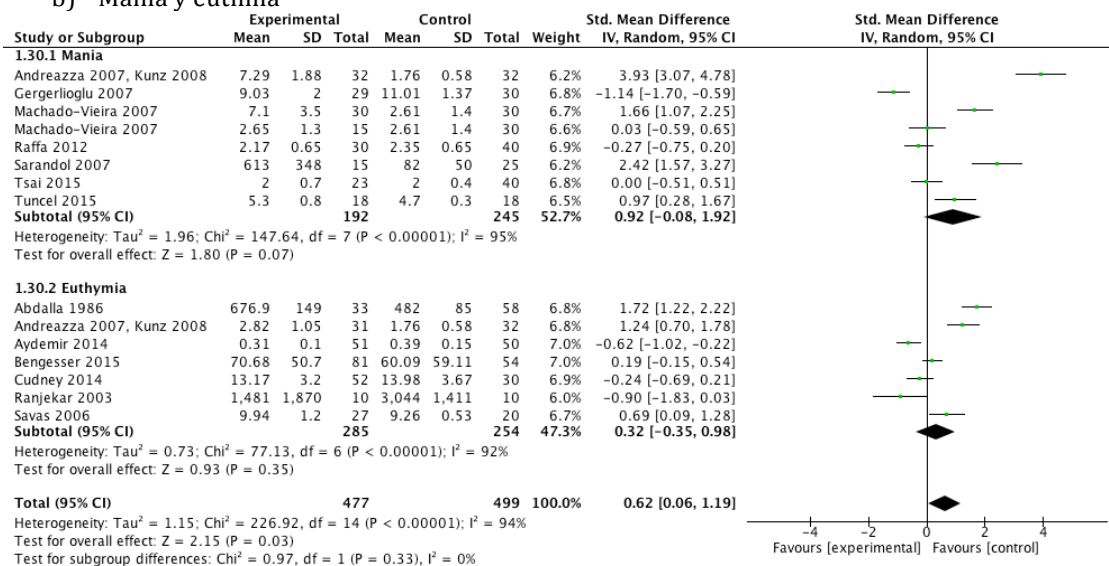
Además, la actividad fue similar entre manía y depresión ($P = 0.67$), manía y eutimia ($P = 0.33$), y depresión y eutimia ($P = 0.91$), según los sucesivos test de diferencias entre subrupos (Figura 42).

Figura 42. Análisis por subgrupos de la enzima antioxidante SOD en pacientes con trastorno bipolar y en controles sanos.

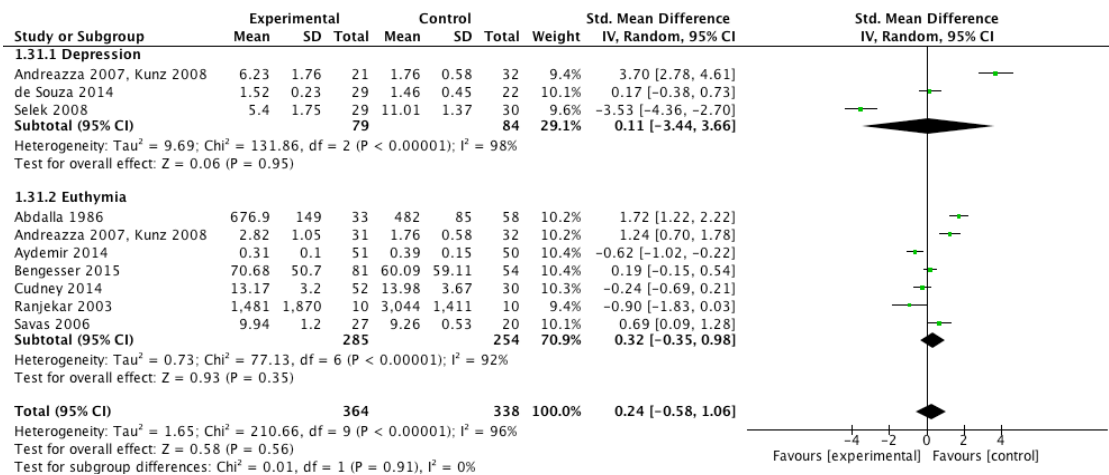
a) Mania y depresión



b) Mania y eutimia

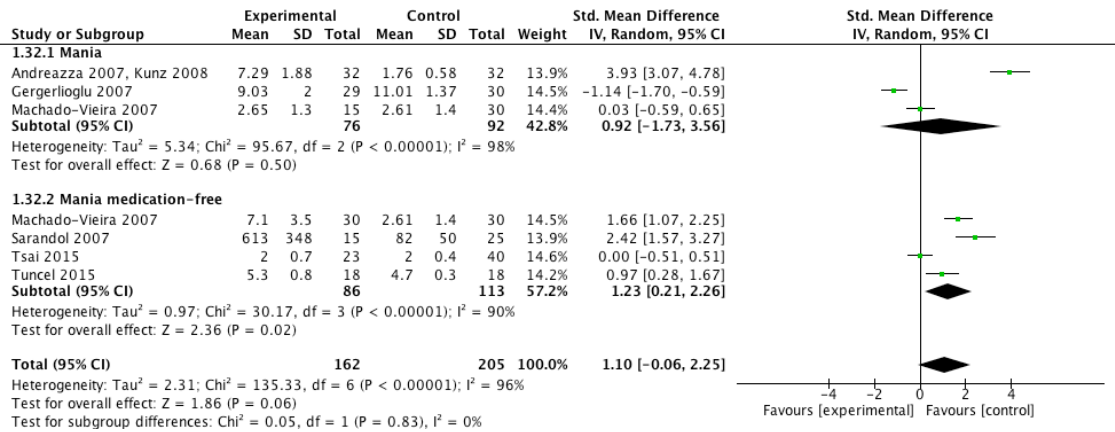


c) Depresión y eutimia



Por último, se observó un aumento significativo de la actividad de SOD en los pacientes en fase de manía que no tomaban ningún tratamiento, comparados con el grupo de voluntarios sanos (4 estudios; n = 199; SMD = 1.23; 95% IC, 0.21 a 2.26; $P = 0.02$; $I^2 = 90\%$), aunque la concentración entre el subgrupo manía y manía sin tratamiento farmacológico era similar ($P = 0.83$, en el test de diferencias entre subgrupos) (Figura 43).

Figura 43. Enzima antioxidante SOD en pacientes con manía sin tratamiento y manía con tratamiento farmacológico, comparados con voluntarios sanos.

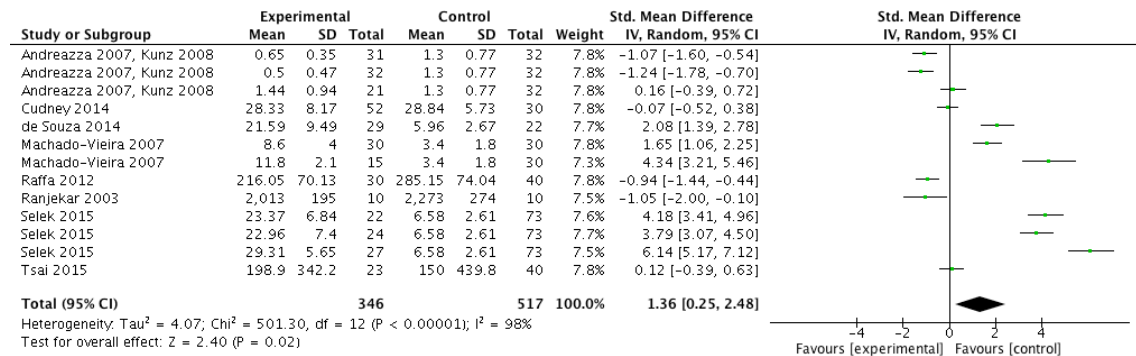


La actividad de la enzima **CAT** en pacientes con trastorno bipolar estaba significativamente elevada al comparar con voluntarios sanos (8 estudios; n = 863; SMD = 1.36; 95% IC, 0.25 a 2.48; $P = 0.02$; $I^2 = 98\%$) (Figura 44a). En el análisis de sensibilidad, combinando plasma y suero únicamente persistía similar diferencia; sin embargo, la heterogeneidad continuaba elevada (5 estudios; n = 691; SMD = 1.99; 95% IC, 0.58 a 3.39; $P = 0.006$; $I^2 = 98\%$) (Figura 44b).

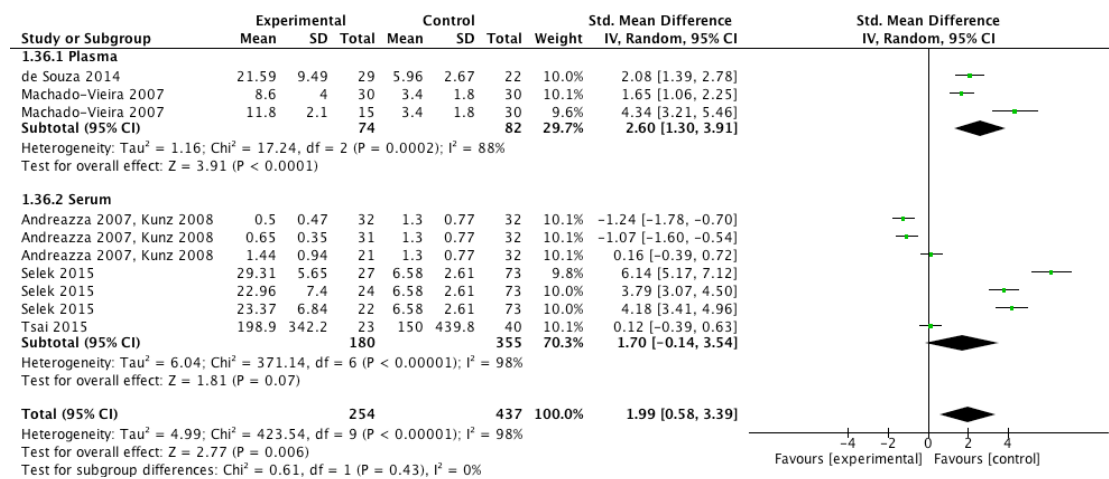
El gráfico de dispersión de pacientes con trastorno bipolar comparado con controles sanos dibujaba una gráfica asimétrica, que no permitía descartar la existencia de un sesgo de selección (Figura 45).

Figura 44. Enzima antioxidante CAT en pacientes con trastorno bipolar y en controles sanos

a) Suero, plasma, hematíes y sangre total



b) Plasma y suero



En el análisis de subgrupos, los pacientes en fase aguda (manía o depresión, pero no independientemente), comparados con controles sanos, presentaron un aumento significativo de la actividad de la enzima CAT (7 estudios; $n = 598$; $SMD = 1.54$; 95% IC, 0.24 a 2.84; $P = 0.02$; $I^2 = 97\%$;) (Figura 46). La actividad fue similar en pacientes con manía y pacientes con depresión ($P = 0.62$) (Figura 46a), manía y eutimia ($P = 0.82$) (Figura 46b) y depresión y eutimia ($P = 0.54$) (Figura 46c), según los sucesivos test de diferencias entre subgrupos.

Figura 45. Funnel plot de la enzima CATen pacientes con trastorno bipolar y controles sanos

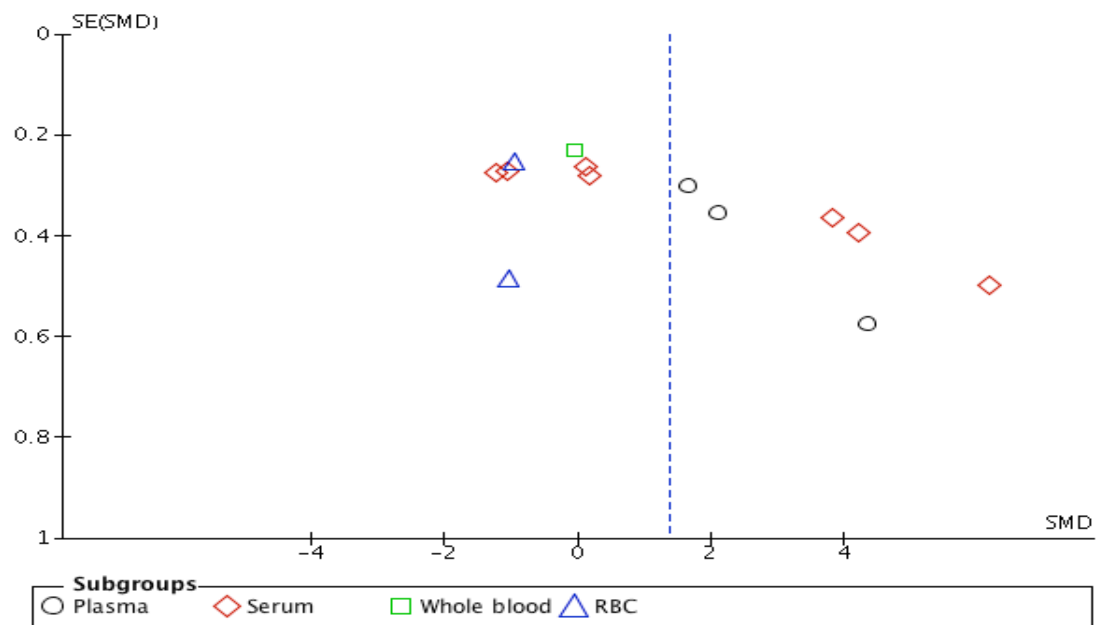
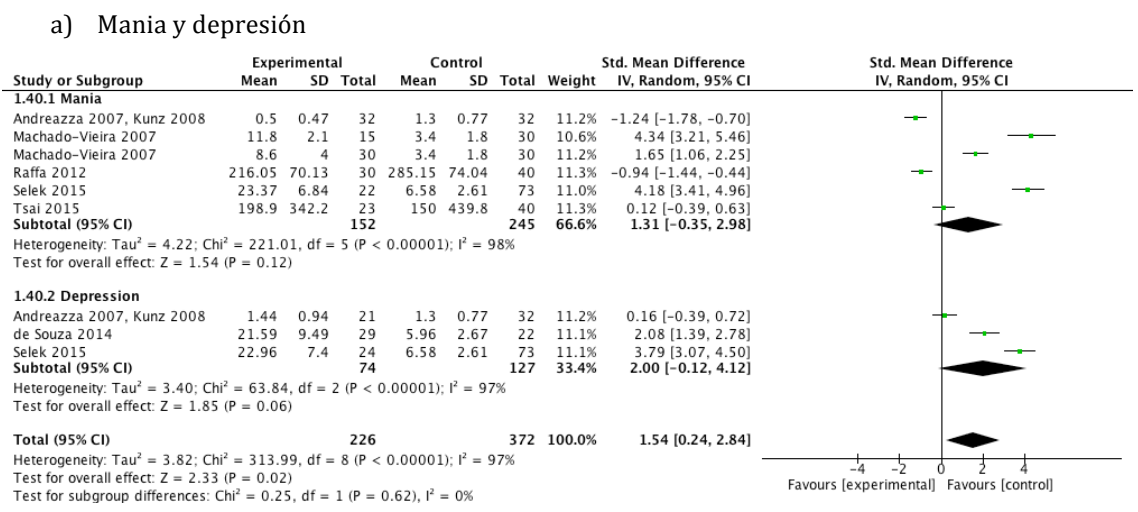
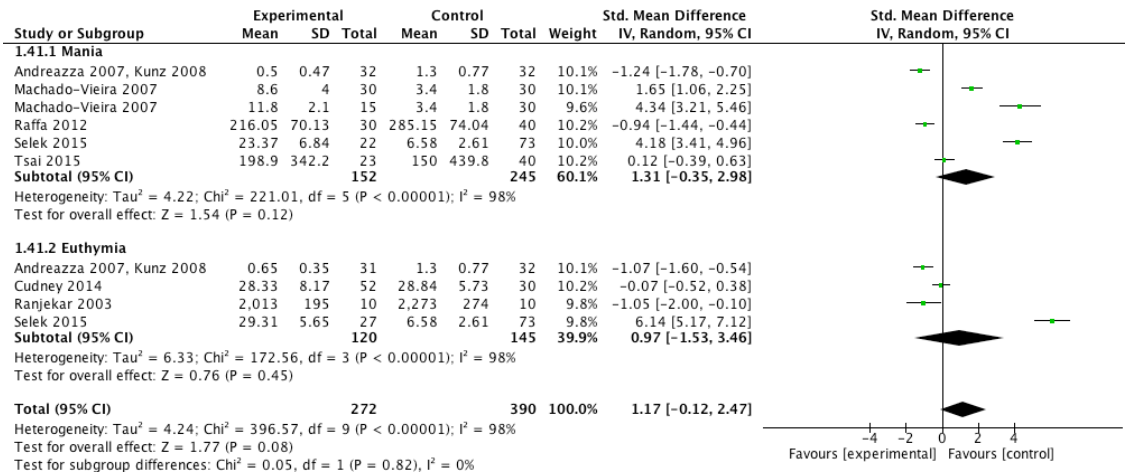


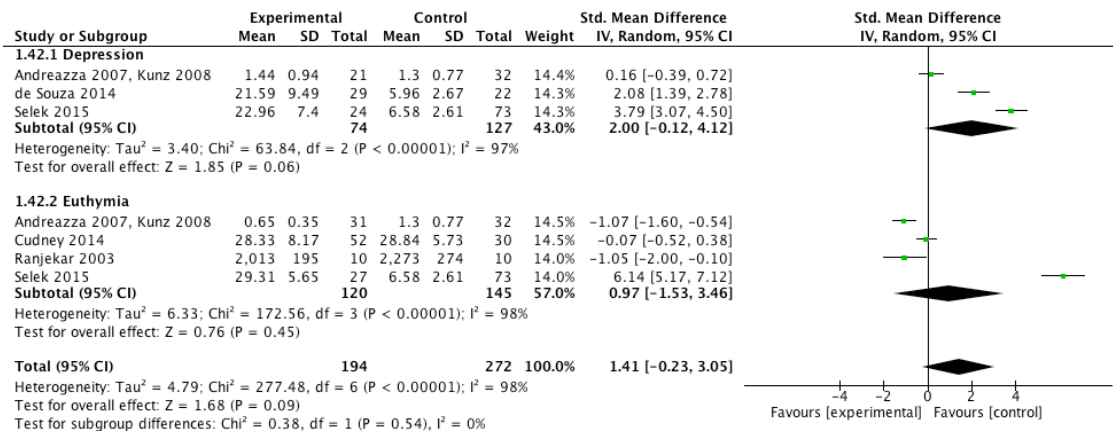
Figura 46. Analisis estratificado de la enzima antioxidante CAT en pacientes con trastorno bipolar y en controles sanos



b) Mania y eutimia



c) Depresión y eutimia

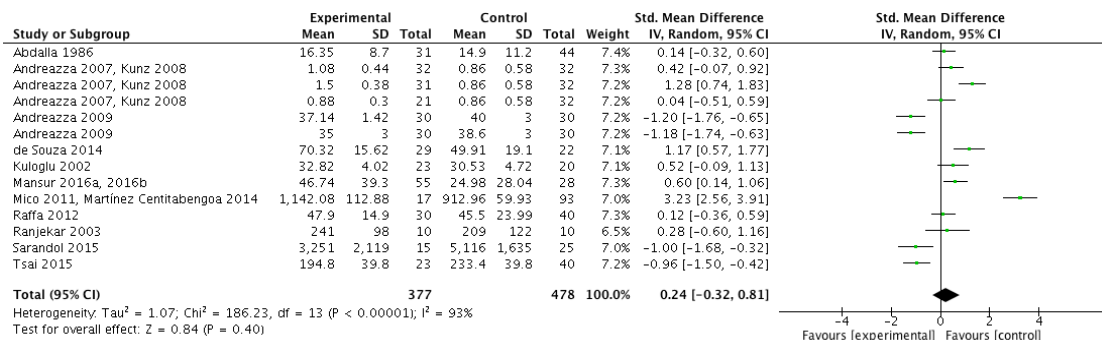


Comparado con controles sanos, los pacientes con trastorno bipolar no presentaron alteración de la actividad de la **enzima GPx** (11 estudios; $n = 855$; $SMD = 0.24$; 95% IC, -0.32 a 0.81; $P = 0.40$; $I^2 = 93\%$) (Figura 47a). El análisis de sensibilidad, tampoco mostró cambio significativo de la enzima antioxidante en suero ($P = 0.49$) y en hematíes ($P = 0.12$) (Figura 47b).

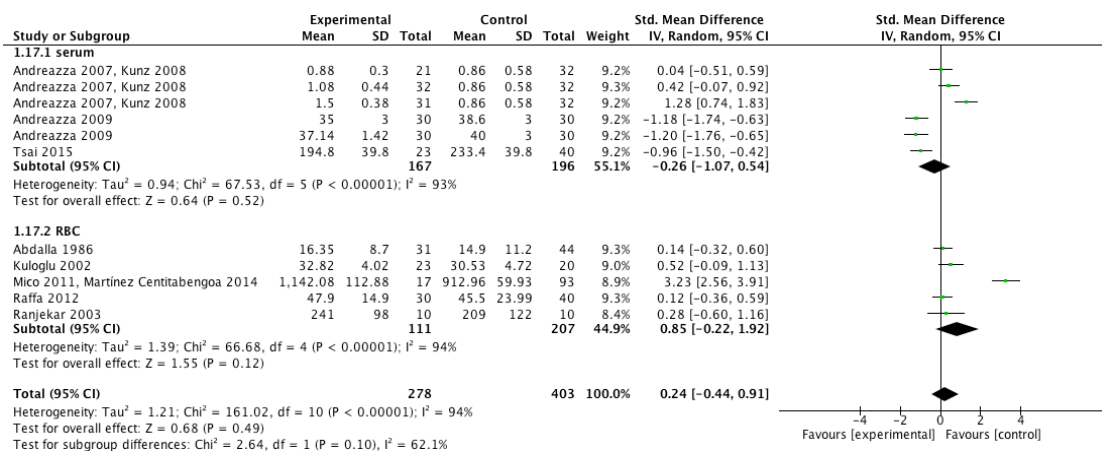
El *funnel plot* de la enzima GPx en pacientes con trastorno bipolar comparados con voluntarios sanos describió una imagen simétrica, por lo que se pudo descartar el sesgo de selección (Figura 47c).

Figura 47. Enzima antioxidante GPx en pacientes con trastorno bipolar y en controles sanos.

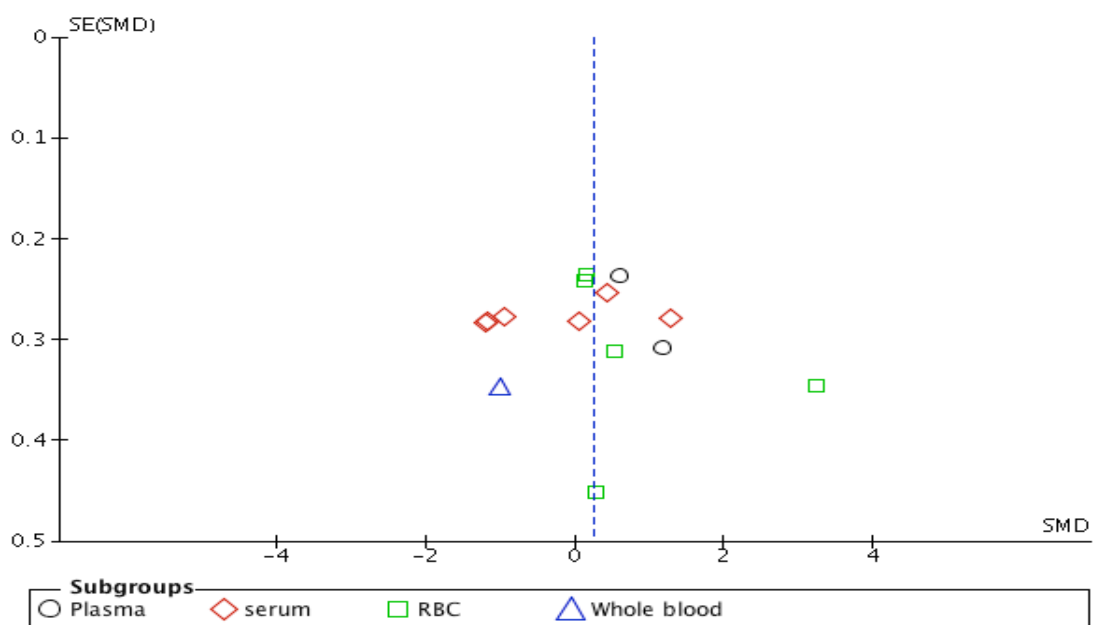
a) Suero, plasma, hematíes y sangre total



b) Análisis por estratos



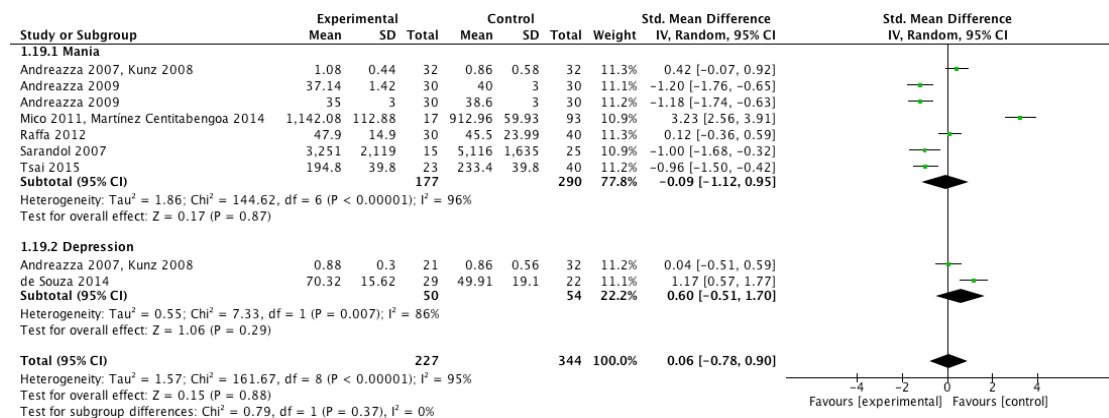
c) Funnel plot



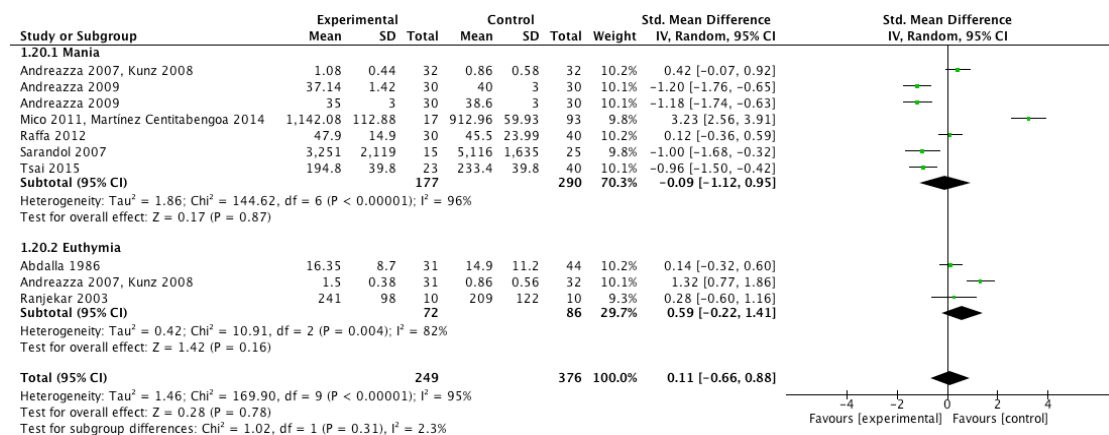
En el análisis por estratos, según la fase del trastorno bipolar, se observó un incremento significativo de la actividad de GPx al combinar a pacientes en fase depresiva y eutimia y compararlos con el grupo de voluntarios sanos (5 estudios; $n=242$; $SMD=0.59$; 95% IC, 0.03 a 1.15; $P=0.04$; $I^2=78\%$) (Figura 48c). La actividad fue similar en ambos subgrupos ($P=0.99$) (Figura 48c). En el resto de análisis por subgrupos, se observó también similar actividad: manía vs. depresión ($P=0.37$) (Figura 48a) y manía vs. eutimia ($P=0.31$) (Figura 48b), según los sucesivos test de diferencias entre subgrupos.

Figura 48. Análisis por subgrupos de la enzima antioxidante GPx en pacientes con trastorno bipolar y en controles sanos.

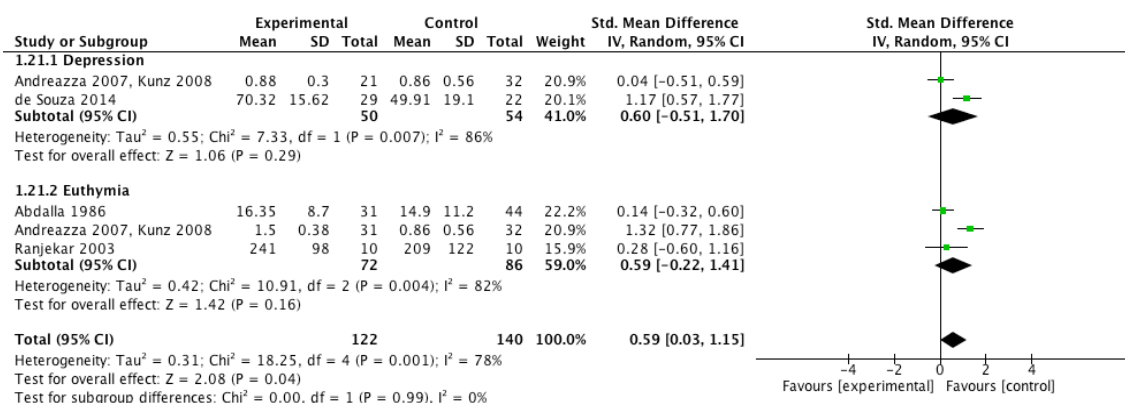
a) Manía y depresión



b) Manía y eutimia

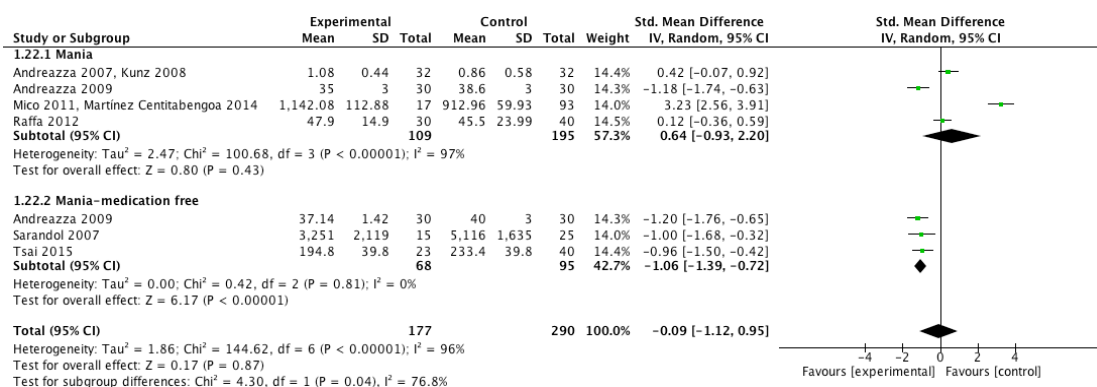


c) Depresión y eutimia



Entre los pacientes con manía, se encontró una disminución significativa de la actividad de GPx en aquellos que no toman tratamiento farmacológico (3 estudios; $n=163$; $SMD=-1.06$; 95% IC, -1.39 a -0.72; $P<0.0001$; $I^2=0\%$). Esta actividad era menor que en los pacientes con mania en tratamiento ($P=0.04$, en el test de diferencias entre subgrupos) (Figura 49).

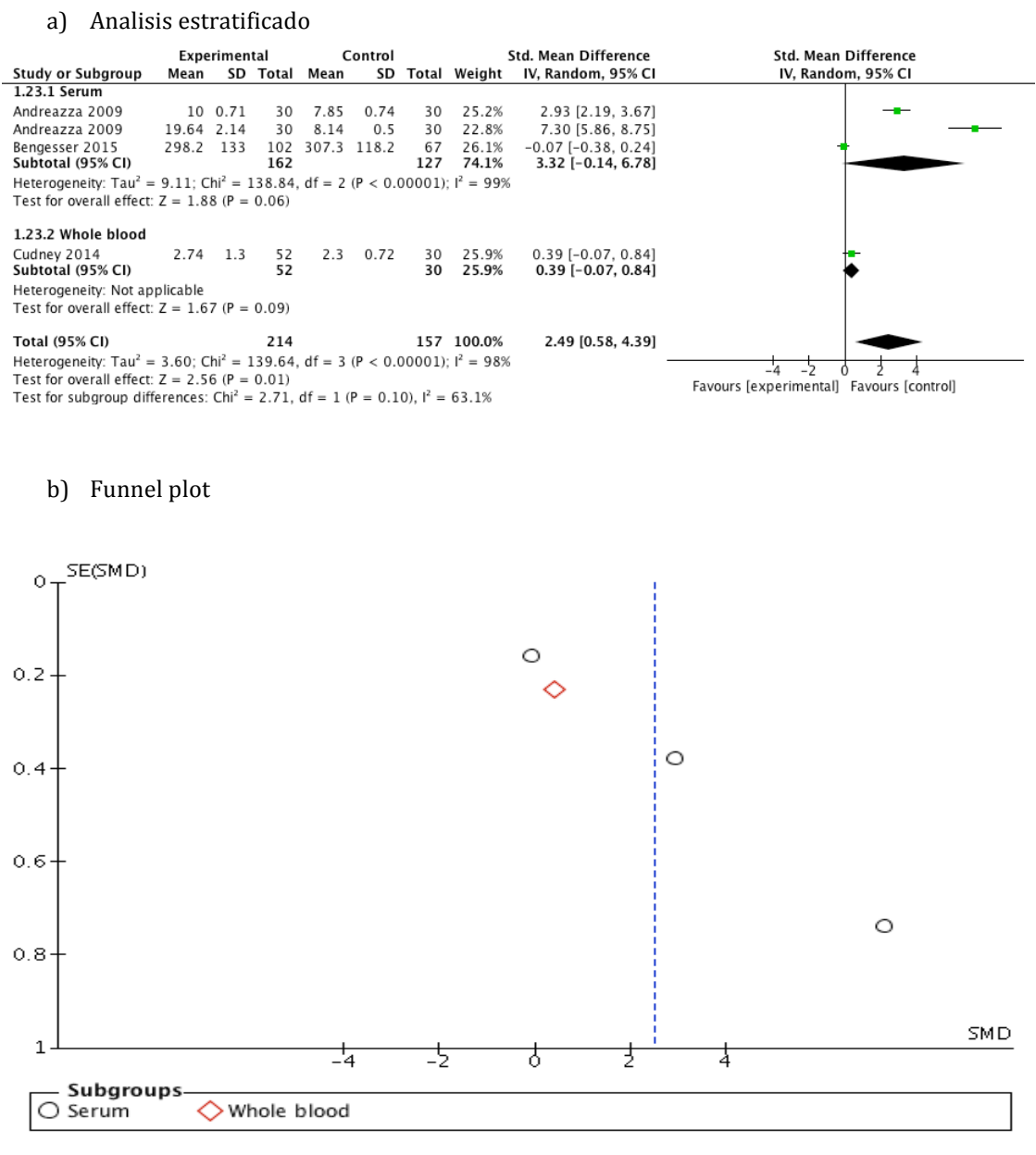
Figura 49. Enzima antioxidante GPx en pacientes con mania sin tratamiento y mania con tratamiento farmacológico, comparados con controles sanos.



Por último, se estudió la actividad de la **enzima GSH-t** en pacientes con trastorno bipolar comparado con controles sanos. La actividad estaba significativamente elevada (3 estudios; $n=371$; $SMD=2.49$; 95% CI, 0.58 a 4.39; $P=0.01$; $I^2=98\%$) (Figura 50a).

El *funnel plot* en pacientes con trastorno bipolar comparados con voluntarios sanos describió una imagen asimétrica, que permitió descartar el sesgo de selección (Figura 50b).

Figura 50. Enzima GSH-ten pacientes con trastorno bipolar y en controles sanos



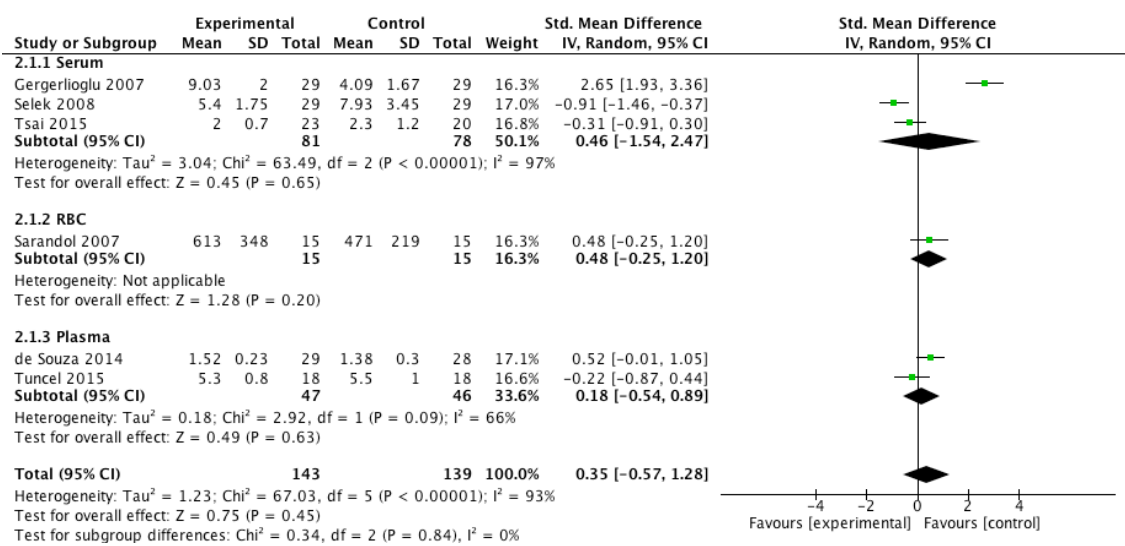
Pacientes con trastorno bipolar antes y después del tratamiento farmacológico: estudios longitudinales

Solo dos enzimas antioxidantes son analizadas longitudinalmente en más de tres estudios (longitudinales): SOD (seis estudios; tres estudios analizan parámetros de estrés oxidativo en suero, dos en plasma y uno en hematíes) y GPx (tres estudios; uno estudio analiza parámetros de estrés oxidativo en suero, uno en plasma y uno en sangre total).

Enzima antioxidante SOD

No se halló cambio significativo en la actividad tras el tratamiento farmacológico en pacientes con trastorno bipolar (6 estudios; n=282 valorados en dos ocasiones; SMD=0.35; 95% IC, -0.57 a 1.28; $P=0.45$; $I^2=93\%$). La falta de diferencias se mantuvo al restringir el análisis a muestras analizadas en suero ($P=0.65$), a muestras tomadas en plasma ($P=0.20$) o a las tomadas en hematíes ($P=0.63$) (Figura 51).

Figura 51. Enzima antioxidante SOD en pacientes con trastorno bipolar antes y después del tratamiento farmacológico

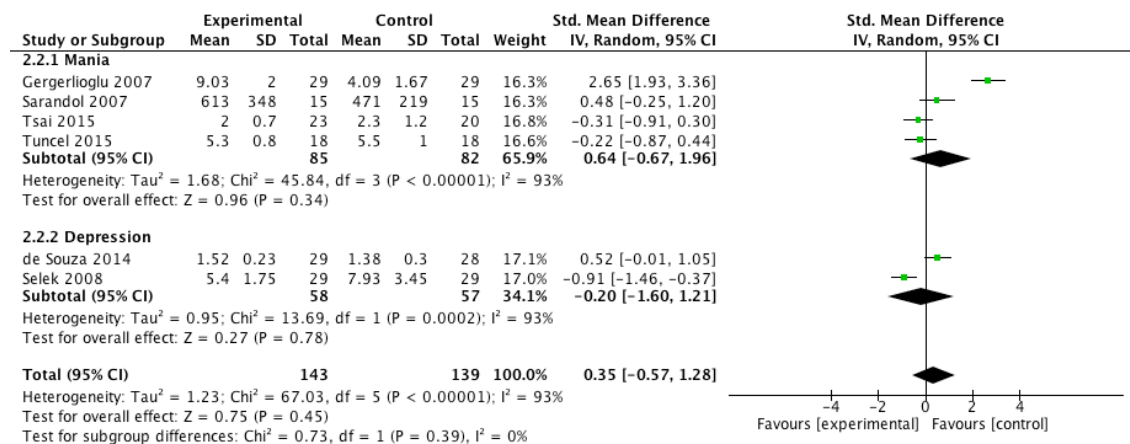


En el análisis estratificado tampoco se encontraron diferencias al inicio y final del tratamiento entre los pacientes con manía (4 estudios; n=167; SMD=0.64; 95% IC, -0.67 a 1.96; $P=0.34$; $I^2=93\%$) y los pacientes con depresión bipolar (2 estudios; n=115; SMD=-0.20; 95% IC, -1.60 a 1.21; $P=0.78$; $I^2=93\%$). La actividad de la enzima en ambos subgrupos era similar ($P=0.39$, en el test de diferencias entre subgrupos) (Figura 52a).

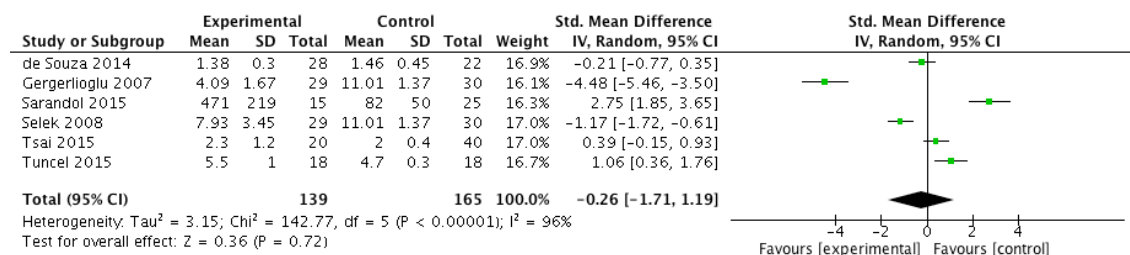
Por último se comparó a pacientes con trastorno bipolar tras el tratamiento farmacológico con el grupo de voluntarios sanos, sin que se hallaran diferencias significativas (Figura 52b).

Figura 52. Análisis por subgrupos de la enzima SOD en pacientes con trastorno bipolar

a) antes y después del tratamiento farmacológico



b) después del tratamiento comparado con controles sanos

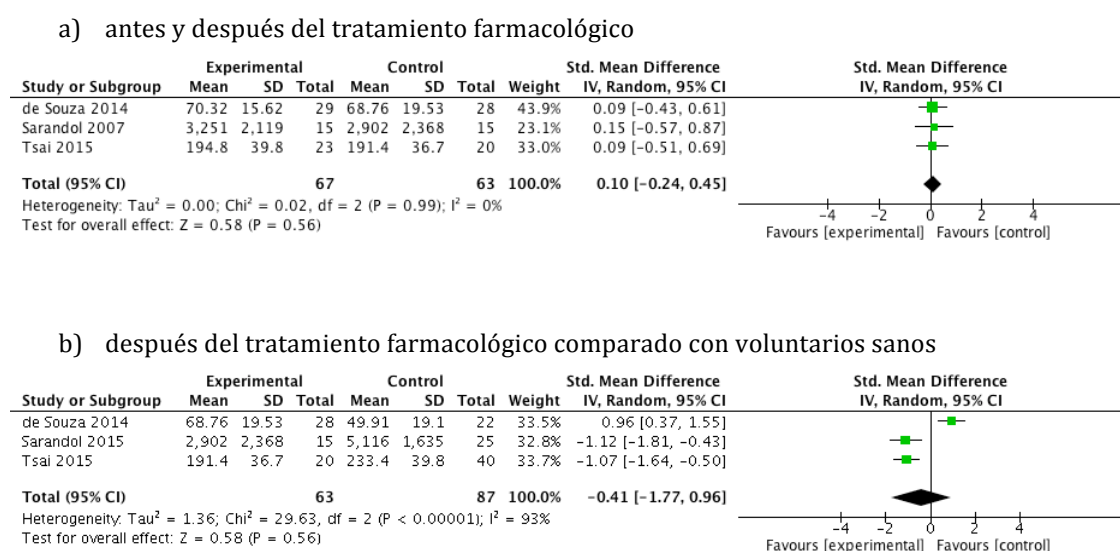


Enzima antioxidante GPx

No se observaron cambios significativo en la actividad de esta enzima tras el tratamiento farmacológico en pacientes con trastorno bipolar (3 estudios; n=130 pacientes valorados en dos ocasiones; SMD=0.10; 95% IC, -0.24 a 0.45; $P=0.56$; $I^2=0\%$) (Figura 53a).

Tampoco se encontraron diferencias entre los pacientes con trastorno bipolar después del tratamiento y el grupo de controles sanos (Figura 53b).

Figura 53. Enzima antioxidante GPx en pacientes con trastorno bipolar



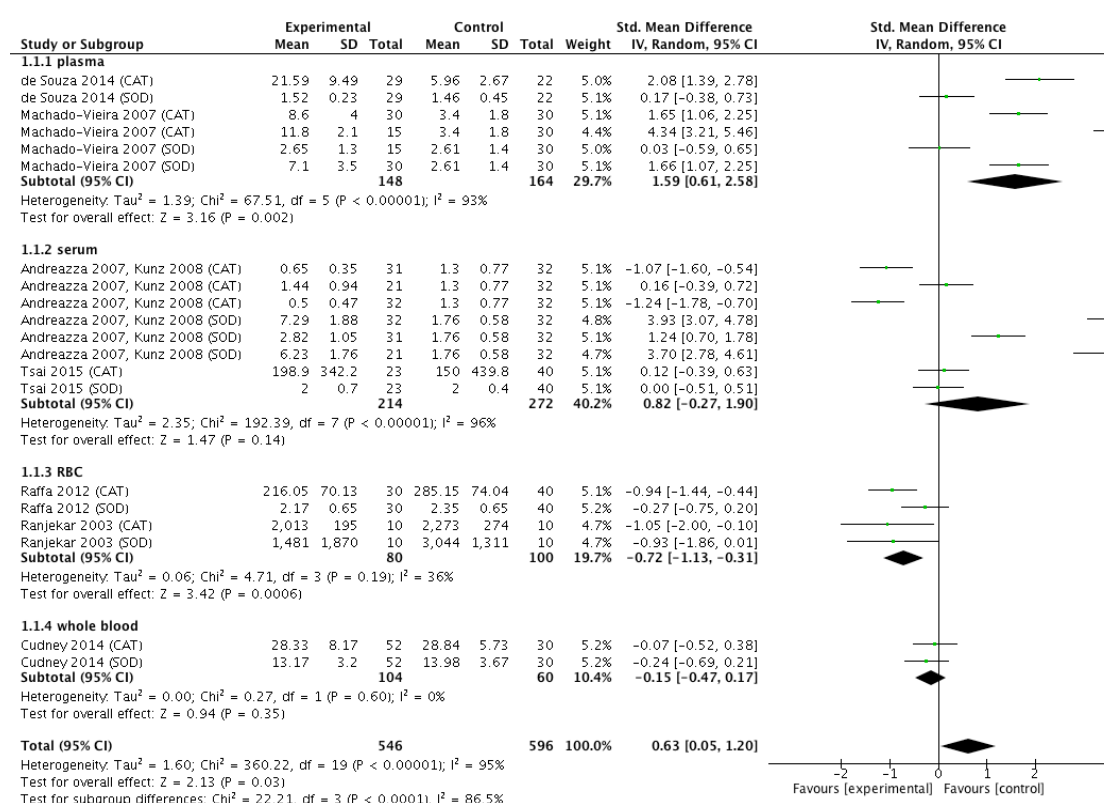
Estado antioxidante en pacientes con trastorno bipolar comparado con voluntarios sanos

Para llevar a cabo este análisis se seleccionan únicamente aquellos estudios en los que se analizan varios antioxidantes simultáneamente. De entre todos los artículos, siete estudios cumplían los requisitos descritos para las enzimas antioxidantes SOD y CAT y cinco para las enzimas SOD, CAT y GPx. Se decidió realizar el análisis

únicamente con aquellas publicaciones que estudian SOD y CAT simultáneamente y así tener una muestra más amplia.

Comparado con el grupo de controles sanos, en pacientes con trastorno bipolar se encontró que existía un incremento significativo de la actividad antioxidante (7 estudios; $n=571$; $SMD=0.63$; 95% IC, 0.05 a 1.20; $P=0.03$; $I^2=95\%$) (Figura 54).

Figura 54. Estado antioxidante



En el análisis de sensibilidad se restringió la muestra a aquellos estudios que incluían pacientes en fase activa: el estado antioxidante continuó significativamente elevado en los pacientes comparado con el grupo de voluntarios sanos (6 estudios; $n=406$; $SMD=1.05$; 95% IC, 0.28 a 1.81; $P=0.007$; $I^2=96\%$).

Los pacientes con eutimia, comparados con controles sanos, no presentaron cambio significativo de los las enzimas antioxidantes (3 estudios; $n=165$ $SMD=-$

0.31; 95% IC, -1.01 a 0.39; $P=0.38$; $I^2=88\%$). La actividad de ambas enzimas se encontraba elevada al combinar manía y depresión con respecto a eutimia ($P=0.01$, en el test de diferencias entre subgrupos) (Figura 55).

La actividad antioxidante no se encontraba elevada en manía ($P=0.06$) pero sí lo estaban en depresión (2 estudios; $n=104$; $SMD=1.49$; 95% IC, 0.03 a 2.96; $P=0.05$; $I^2=95\%$) comparados con el grupo de voluntarios sanos. Sin embargo, entre manía y depresión la actividad era similar ($P=0.48$, en el test de diferencias entre subgrupos) (Figura 56a). Tras excluir el estudio que analiza la actividad de ambas enzimas en hematíes, la concentración de ambos antioxidantes se encuentra significativamente elevada en la manía (2 estudios; $n=169$; $SMD=1.69$; 95% IC, 0.12 a 3.26; $P=0.03$; $I^2=97\%$).

Figura 55. Estado antioxidante: fase activa y eutimia comparadas con controles sanos

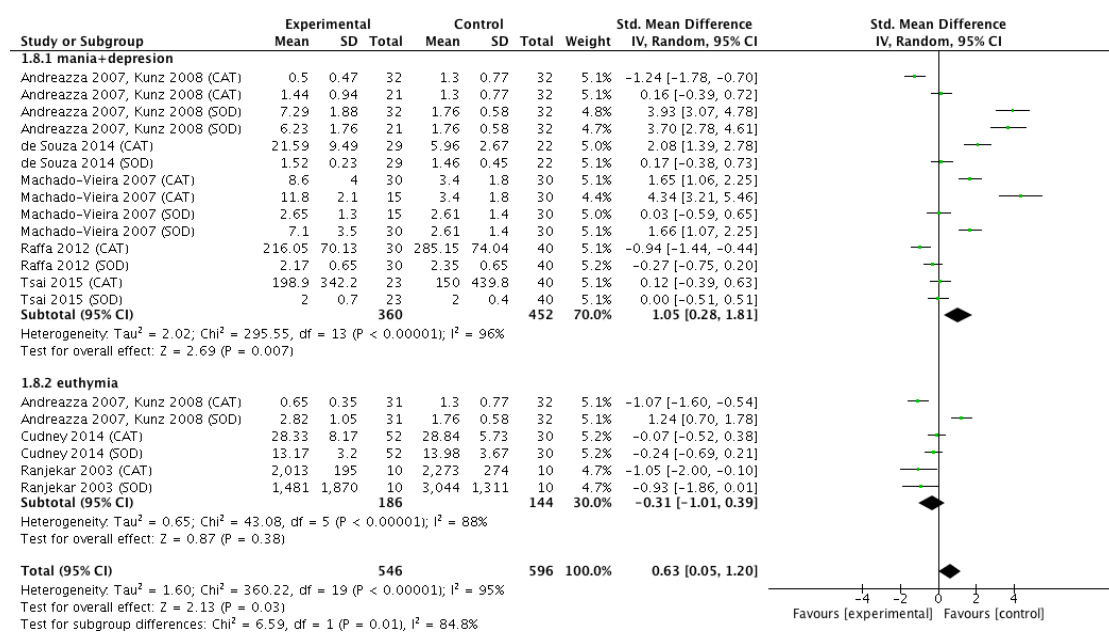
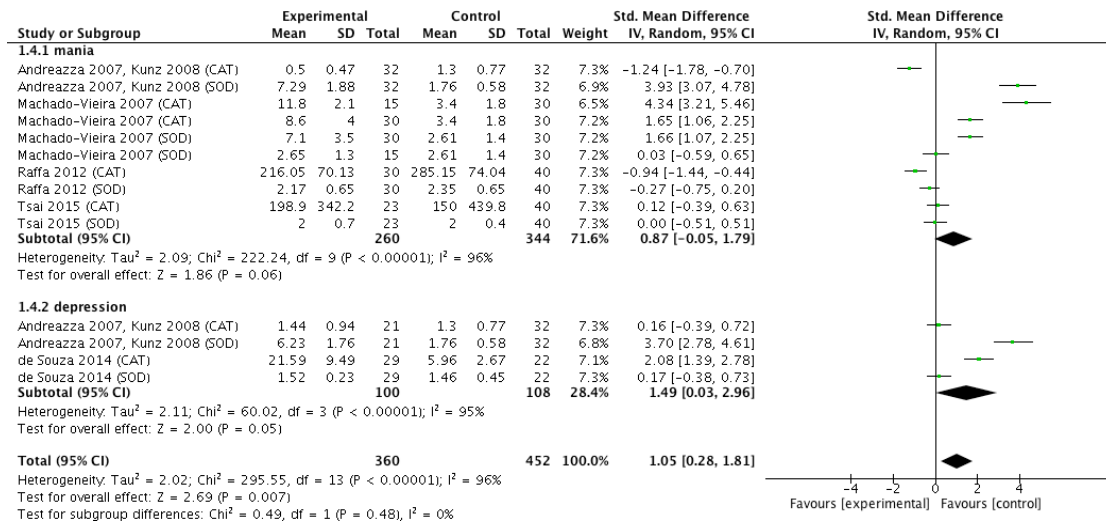
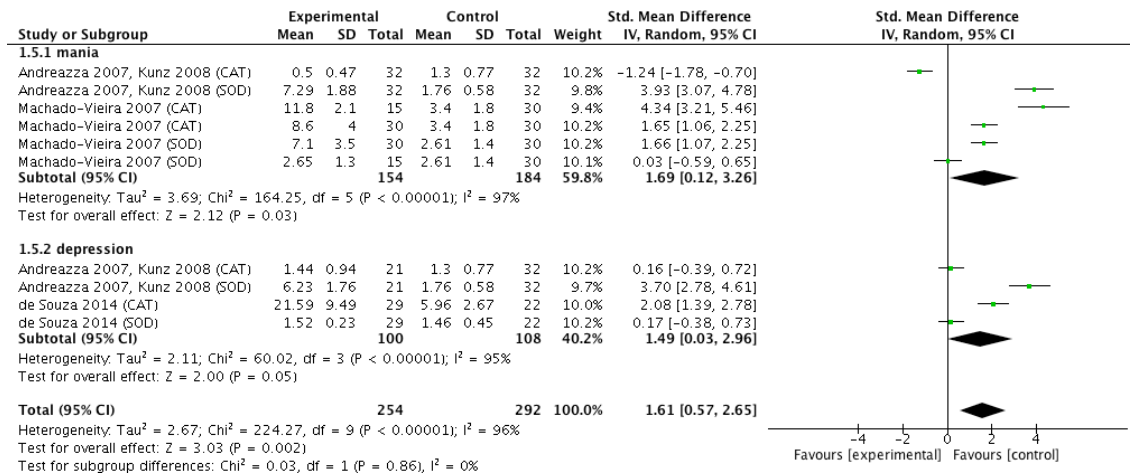


Figura 56. Marcadores de estado antioxidante: manía y depresión

a) suero, plasma y hematíes



b) Suero y plasma



Estos resultados anteriores son recogidos en las tablas 13, 14, 15, 16 y 17.

Tabla 13. Comparación de parámetros de estrés oxidativo y antioxidantes entre pacientes con trastorno bipolar y voluntarios sanos

Parámetros	Número de estudios	Número de pacientes	Diferencia de medias estandarizada	IC 95% inferior	IC 95% superior	Valor <i>P</i>
MDA	6	298	0,82	0,07	1,58	0,03
TBARS	12	723	1,01	0,6	1,41	<0,0001
Nitritos	5	194	1,04	0,78	1,31	<0,0001
Ácido úrico	9	533	0,48	0,2	0,76	0,0007
Zinc	1	129	0,14	-0,56	0,85	0,69
GSH	6	209	-0,43	-0,85	-0,01	0,05
SOD	11	471	0,45	-0,27	1,17	0,22
CAT	8	346	1,36	0,25	2,48	0,02
GPx	11	377	0,24	-0,32	0,81	0,40
GSH-t	3	214	2,49	0,58	4,39	0,01

CAT: catalasa; GPx: glutatión peroxidasa; GSH-t: glutatión transferasa; MDA: malondialdehído; TBARS: *thiobarbituric acid reactive substances*; SOD: superóxido dismutasa.

Tabla 14. Comparación de parámetros de estrés oxidativo y antioxidantes entre pacientes con mania y voluntarios sanos

Parámetros	Número de estudios	Número de pacientes	Diferencia de medias estandarizada	IC 95% inferior	IC 95% superior	Valor <i>P</i>
TBARS	5	143	1,87	1,07	2,68	<0,0001
Ácido úrico	4	129	1,11	0,71	1,5	0,0007
GSH	3	78	-0,33	-1,21	0,54	0,45
SOD	7	192	0,92	-0,08	1,92	0,07
CAT	5	152	1,31	-0,35	2,98	0,12
GPx	6	177	-0,09	-1,12	0,95	0,87

CAT: catalasa; GPx: glutathion peroxidasa; MDA: malondialdehído; TBARS: *thiobarbituric acid reactive substances*; SOD: superóxido dismutasa.

Tabla 15. Comparación de parámetros de estrés oxidativo y antioxidantes entre pacientes con depresión bipolar y voluntarios sanos

Parámetros	Número de estudios	Número de pacientes	Diferencia de medias estandarizada	IC 95% inferior	IC 95% superior	Valor <i>P</i>
TBARS	5	161	0,92	0,12	1,72	0,02
Ácido úrico	3	91	0,08	-0,27	0,42	0,67
SOD	3	79	0,11	-3,44	3,66	0,95
CAT	3	74	2,00	-0,12	4,12	0,06
GPx	2	50	0,6	-0,51	1,7	0,29
CAT: catalasa; GPx: glutatión peroxidasa; GSH-t: glutatión transferasa;MDA: malondialdehido; TBARS: <i>thiobarbituric acid reactive substances</i> ; SOD: superóxido dismutasa.						

Tabla 16. Comparación de parámetros de estrés oxidativo y antioxidantes entre pacientes con trastorno bipolar en estado de eutimia y voluntarios sanos

Parámetros	Número de estudios	Número de pacientes	Diferencia de medias estandarizada	IC 95% inferior	IC 95% superior	Valor <i>P</i>
MDA	4	260	0,35	-0,37	1,08	0,34
TBARS	8	273	0,31	-0,07	0,68	0,11
Ácido úrico	3	87	0,37	0,09	0,65	0,009
GSH	2	101	-0,3	-0,71	0,11	0,16
SOD	7	285	0,32	-0,35	0,98	0,35
CAT	4	120	0,97	-1,53	3,46	0,45
GPx	3	72	0,59	-0,22	1,41	0,16

CAT: catalasa; GPx: glutathione peroxidase; GSH: glutathione; MDA: malondialdehyde; TBARS: *thiobarbituric acid reactive substances*; SOD: superoxide dismutase

Tabla 17. Comparación de parámetros de estrés oxidativo y antioxidantes entre pacientes con trastorno bipolar: antes y después del tratamiento farmacológico; y después del tratamiento farmacológico comparados con voluntarios sanos

Parámetros		Número de estudios	Número de pacientes	Diferencia de medias estandarizada	IC 95% inferior	IC 95% superior	Valor P
SOD	antes y después	6	143	-0,57	1,28	1,17	0,45
	después y vs.	6	139	-1,71	1,19	2,48	0,72
GPx	antes y después	3	67	-0,24	0,45	0,81	0,56
	después y vs.	3	63	-1,71	0,96	4,39	0,56

GPx: glutation peroxidasa; SOD: superóxido dismutasa; vs: voluntarios sanos

5.3. Marcadores de estrés oxidativo y antioxidantes en pacientes con depresión bipolar y en pacientes con depresión unipolar comparado con voluntarios sanos (resultados de un metaanálisis)

En este estudio se incluyen las publicaciones presentes en los dos anteriores estudios, pero los criterios de búsqueda en el caso de la depresión unipolar se amplió hasta el 31/12/2017. De todos los artículos estudiados en el metaanálisis de pacientes con trastorno bipolar, para en este estudio, se seleccionan únicamente los que incluyen a pacientes con depresión bipolar.

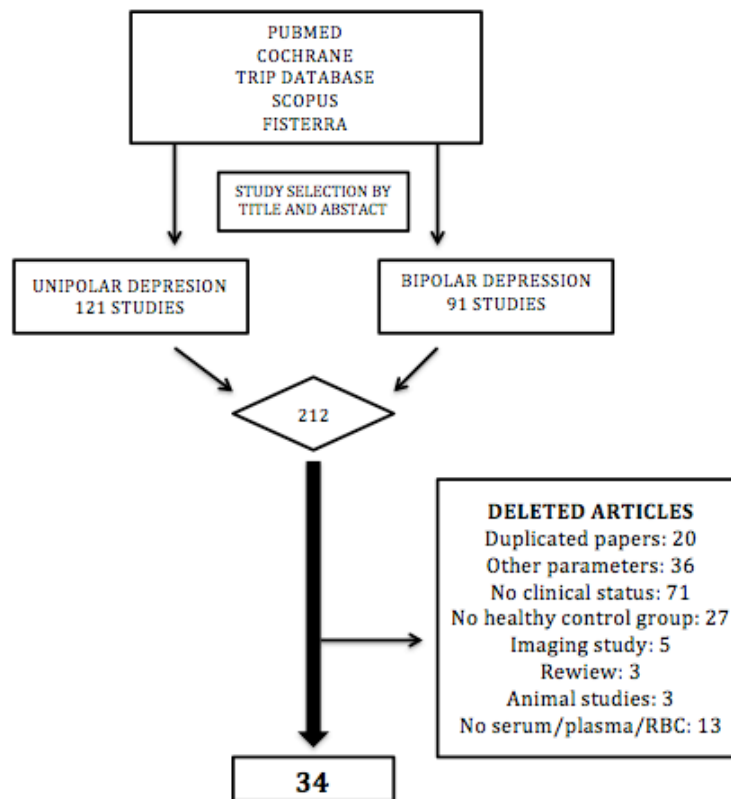
Selección de estudios

Se resume en el siguiente diagrama el proceso de localización de estudios, el número de excluidos, así como los motivos de exclusión y el número total de estudios incluidos. Finalmente fueron elegidos 32 estudios que cumplieran con las características señaladas anteriormente.

Tras la restricción por título y resumen, quedan 212 estudios potencialmente elegibles y, de ellos, 180 fueron excluidos tras la lectura completa del artículo, por las siguientes razones:

- a) Artículos duplicados.
- b) Los datos presentados no corresponden a los marcadores de estrés oxidativo seleccionados, no aportan media $\pm$ D.E. o no son muestras biológicas distintas a las estudiadas (plasma, suero, hemáties).
- c) El diagnóstico no corresponde a depresión bipolar o a depresión unipolar o bien no incluyen grupo control.
- d) Estudios de imagen, de revisión o de modelos animales.

Figura 57. Diagrama de flujo



Valoración de calidad de los estudios incluidos en el trabajo

La calidad de los estudios incluidos en este trabajo fue valorada por medio de los criterios de la guía STROBE (vom Elm *et al.*, 2007). Sólo 9 de los estudios incluidos (26.5%) cumplían todos los criterios de calidad, lo que supone que la calidad global de la muestra era media-baja.

Los métodos y la fuente de selección de los participantes no quedaban claramente especificados en siete estudios, par el diagnóstico de depresión bipolar y de depresión unipolar la valoración realizada no era clara en cuatro artículos, además en una publicación no se describían correctamente los parámetros de estrés oxidativos estudiados y en dos estudios no se detalló el procesamiento de los datos (Tabla 11).

Tabla 18. Valoración de la calidad de los estudios de pacientes con depresión unipolar y de pacientes depresión bipolar según los criterios STROBE

	Clear Description of Participant Eligibility and Sources/ Methods of Participant Selection	Clearly Defined Exposure Ascertainment: Depression and Bipolar disorder	Clearly Defined Outcome Ascertainment: Oxidative Stress / Antioxidant	Clear Description of Handling of Depression /Bipolar disoreder and Oxidative Stress in the Analyses	Control for Potential Confounders by Exclusion or Statistical Adjustment
Stoklasová et al. (1990)			X		
Bilici et al. (2001)	X	X	X	X	
Khanzode et al. (2003)	X	X	X	X	
Herken et al. (2007)	X	X	X	X	
Sarandol et al. (2007)	X	X	X	X	
De Berardis et al. (2008)		X		X	X
Andreazza et al (2007), Kunz et al. (2008)	X	X	X	X	X
Selek et al. (2008)	X	X	X	X	
Szuster-Ciesielska <i>et al.</i> , (2008)	X	X	X	X	
Galecki et al. (2009)		X	X	X	
Chaudhari et al. (2010)	X	X	X	X	
Russo (2010)			X		
Kapczinski et al. (2011)	X	X	X	X	
Kotan et al. (2011)		X	X	X	X
Maes et al. (2011)	X	X	X	X	
Stefanescu et al. (2012)	X	X	X	X	
Wen et al. (2012)	X		X	X	X

Baek y Park (2013)	X	X	X	X	X
Rybka et al. (2013)	X	X	X	X	X
Bajpai et al. (2014)	X	X	X	X	X
De Sousa et al. (2014)	X	X	X	X	X
Kesebir et al. (2014)		X	X	X	X
Mico et al. (2011), Martez-Centitabengoa et al. (2014)	X	X	X	X	
Spanemberg et al. (2014)	X	X	X	X	
Tao and Li (2015)	X	X	X	X	
Kaufmann et al. (2015)	X	X	X	X	
Özten et al. (2015)	X	X	X	X	
Selek et al. (2015)	X		X	X	
Camkurt et al. (2016)	X	X	X	X	
Jordan et al. (2016)	X	X	X	X	X
Magalhaes 2012, Weiner 2014, Mondin et al. (2016)	X	X	X	X	X
Siwek et al. (2016, 2016b)		X	X	X	X
Tsai and Huang (2016)	X	X	X	X	
Lindqvist et al. (2017)	X	X	X	X	X
	27/34 (79.4%)	30/34 (88.24%)	33/34 (97%)	32/34 (94%)	13/34 (38.2%)

Características de los estudios incluidos

En total se incluyen en el análisis 34 estudios. En dos estudios se presentan datos en pacientes con depresión unipolar y depresión bipolar, en siete en pacientes con depresión bipolar únicamente y en 25 estudios se presentan datos en pacientes con depresión unipolar.

Características de los estudios de depresión bipolar

En total se incluyeron nueve estudios de pacientes con depresión bipolar (n=290; edad media $\pm$ D.E = 36.22 ± 8.63 ; mujeres 47.9%; duración de la enfermedad media $\pm$ D.E = 10.75 ± 5.44) y controles sanos (n=451; edad media $\pm$ D.E = 34.88 ± 9.36 ; mujeres 48.19%).

Los pacientes y el grupo control fueron emparejados según las variables edad y sexo en cuatro estudios; según la edad, en un estudio; según el sexo, el hábito tabáquico y la edad en otro estudio; y por último, según el sexo en un estudio. En todos los estudios se utilizaron criterios DSM-IV para realizar el diagnóstico de depresión bipolar.

Al inicio, en dos estudios los pacientes estaban en tratamiento: el 34.1% de los pacientes tratados tomaban antidepresivos, el 30.28% antipsicóticos, el 24.8% litio y el 51.05% otros estabilizadores. Tras el seguimiento, el 22.4 % de los pacientes tratados tomaban antidepresivos, el 33.3% antipsicóticos, el 50% litio y el 34.5% tomaban otros estabilizadores.

La puntuación HDRS al inicio, en 5 estudios, era de 23.58 ± 5.96 . No hay datos longitudinales para observar el cambio tras el tratamiento farmacológico.

Características de los estudios de depresión unipolar

Se incluyeron 27 estudios de pacientes con depresión unipolar (n = 1330; edad media $\pm$ D.E = 38.62 ± 10.6 ; mujeres 47.9%; duración de la enfermedad media $\pm$ D.E = 7.21 ± 5.92) y controles sanos (n=1292; edad media $\pm$ D.E = 40.28 ± 5.3 ; mujeres 66.17%).

Los pacientes y el grupo control fueron emparejados según las variables edad y sexo en trece estudios; según la edad, el sexo, el hábito tabáquico y el IMC en dos estudios; según edad en un estudio y según el sexo en otro. En 23 estudios se

utilizaron criterios DSM-IV para realizar el diagnóstico de depresión unipolar; en uno criterios CIE-10; y tres estudios no indicaron qué criterios diagnósticos habían sido utilizados.

En 8 estudios los pacientes se encontraban en tratamiento al inicio: el 28.7% de los pacientes tratados tomaban antidepresivos, el 4.69% antipsicóticos, el 2.97% litio y el 8.03% otros estabilizadores. Tras el seguimiento, el 100 % de los pacientes tratados tomaban antidepresivos y ninguno antipsicóticos o estabilizadores, incluido litio. La puntuación HDRS al inicio, en 16 estudios, era de 26.6 ± 4.24 ; y tras el tratamiento, con mejoría, de 13.8 ± 3.6 puntos.

Tabla 19. Características de los pacientes con depresión bipolar, depresión unipolar y los voluntarios sanos

		HC Bipolar D	Bipolar Depression	HC Unipolar D	Unipolar Depression
Sample size		481	290	1292	1330
Age	(mean+SD)	34.88±9.36	36.22±8.63	35.07±6.91	38.62±10.6
Female	(%)	48.19	47.9	40.65	47.9
Illness duration	(mean+SD)	-	10.75±5.44	-	7.2±5.92
HDRS base-line	(mean+SD)	-	23.58±5.96	-	26.6±4.24
HDRS follow-up	(mean+SD)	-	-	-	13.8±3.6
BMI	(mean+SD)	24.95±2.86	25.5±3.57	23.84±4.82	23.9±3.74
Smoking	(%)	35.4	56.5	18.94	28.02
Treatment base-line					
AD	(%)	-	34.1	-	28.7
AP	(%)	-	30.3	-	4.7
MS	(%)	-	51.1	-	8.03
Lithium	(%)	-	24.8	-	2..97
Treatment follow-up					
AD	(%)	-	22.4	-	100
AP	(%)	-	33.3	-	-
MS	(%)	-	34.5	-	-
Lithium	(%)	-	50	-	-

Resultados

Pacientes con depresión bipolar y depresión unipolar comparado con controles sanos

Se incluyen en total 34 estudios en el análisis, que presentan simultáneamente datos de los marcadores de estrés oxidativo analizados en pacientes con depresión unipolar y los pacientes con depresión bipolar simultáneamente (en cada uno de los grupos diagnósticos, cada parámetro es estudiado en al menos dos estudios). Se incluyen el marcador TBARS (cinco estudios de depresión bipolar; cuatro en suero y uno en plasma; cuatro estudios de depresión unipolar, todos en suero), el antioxidante ácido úrico (tres estudios en depresión bipolar, dos con parámetros en suero y uno en plasma; ocho estudios de depresión unipolar, analizados cuatro en suero y cuatro en plasma) y las enzimas antioxidantes [SOD [tres estudios en depresión bipolar; analizados dos en suero y uno en plasma; 16 estudios de depresión unipolar, analizados nueve en suero, uno en plasma y seis en hematíes], CAT [tres estudios en depresión bipolar; analizados dos en suero y uno en plasma; cinco estudios de depresión unipolar, analizados dos en suero y tres en hematíes], GPX [dos estudios en depresión bipolar; analizados uno en suero y uno en plasma; 11 estudios de depresión unipolar, analizados dos en suero, dos en plasma, tres en sangre total y cuatro en hematíes]].

TBARS (marcador de estrés oxidativo)

Comparado con controles sanos, se encontró un aumento significativo de TBARS en pacientes con depresión unipolar y en pacientes con depresión bipolar (4 estudios; $n=403$ SMD=0.31; 95% IC, 0.04 a 0.58; $P=0.02$; $I^2=89\%$ y 5 estudios; $n=439$ SMD=0.92; 95% IC, 0.12 a 1.72; $P=0.02$; $I^2=92\%$). La concentración de TBARS fue similar en ambos grupos ($P=0.15$, en el test de diferencias entre subgrupos; $I^2=50.6\%$) (Figura 58a).

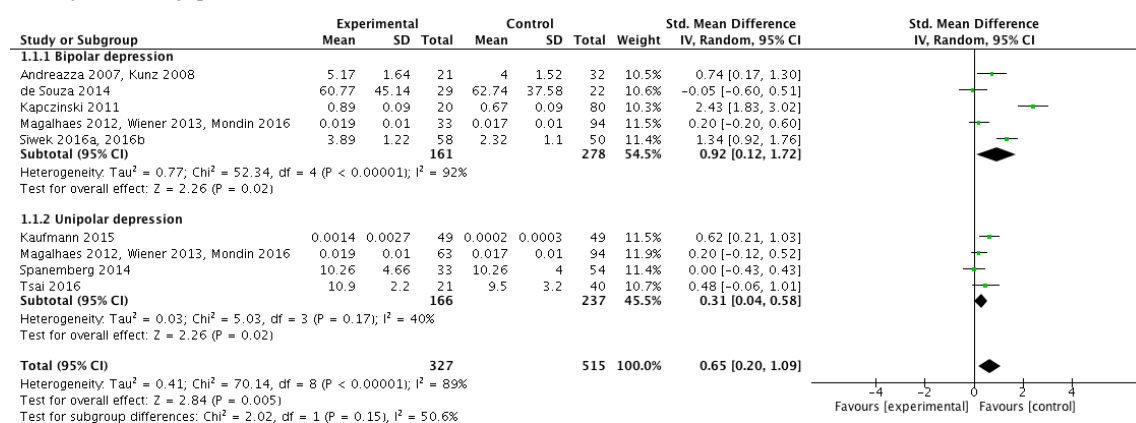
Se realizó el diagrama de dispersión de ambos diagnósticos comparados con el grupo control de voluntarios sanos. El dibujo descrito por la gráfica de depacientes

con depresión bipolar era simétrica, mientras que la de depresión unipolar era asimétrica (Figura 59). Por lo tanto, no se puede descartar el sesgo de selección entre los estudios de pacientes con depresión unipolar.

Durante el análisis de sensibilidad se excluyeron los estudios que analizaban parámetros en suero. La concentración de TBARS continuó siendo similar entre ambos grupos comparados con el grupo control ($P=0.25$, en el test de diferencias entre subgrupos), pero la heterogeneidad en ambos grupos se hizo más pequeña (Figura 58b).

Figura 58. TBARS en pacientes con depresión bipolar y en pacientes con depresión unipolar comparados con controles sanos

a) Suero y plasma



b) Suero

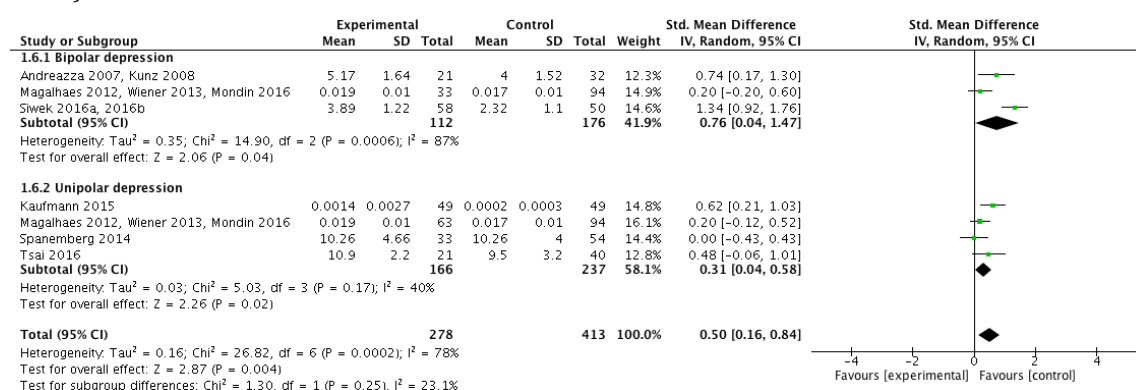
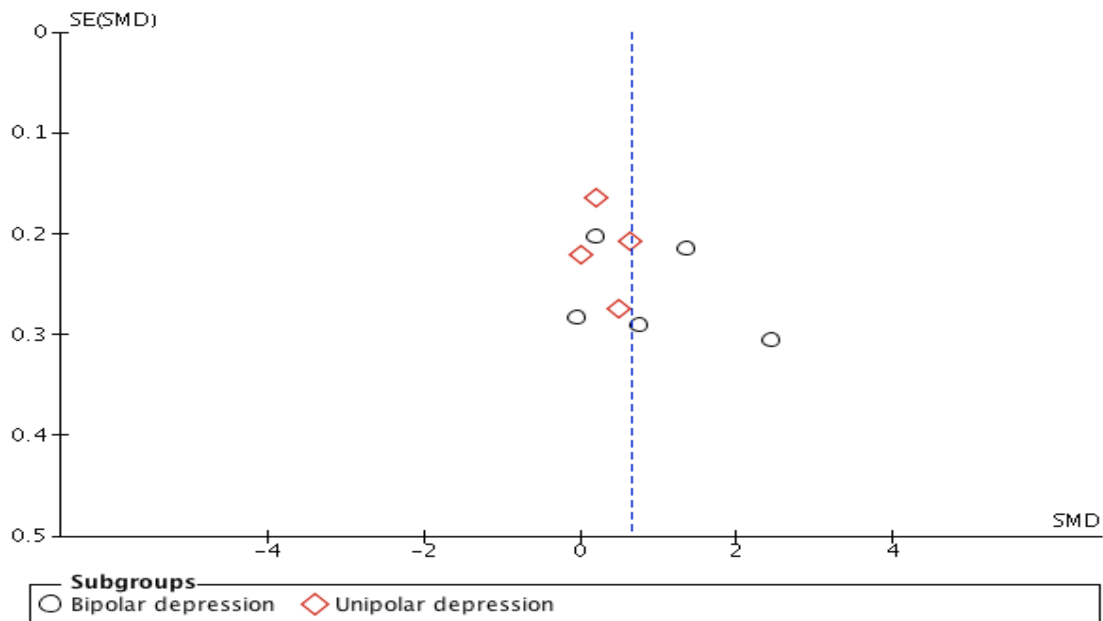


Figura 59. Funnel plot de TBARS en pacientes con depresión bipolar y depresión unipolar comparados con voluntarios sanos



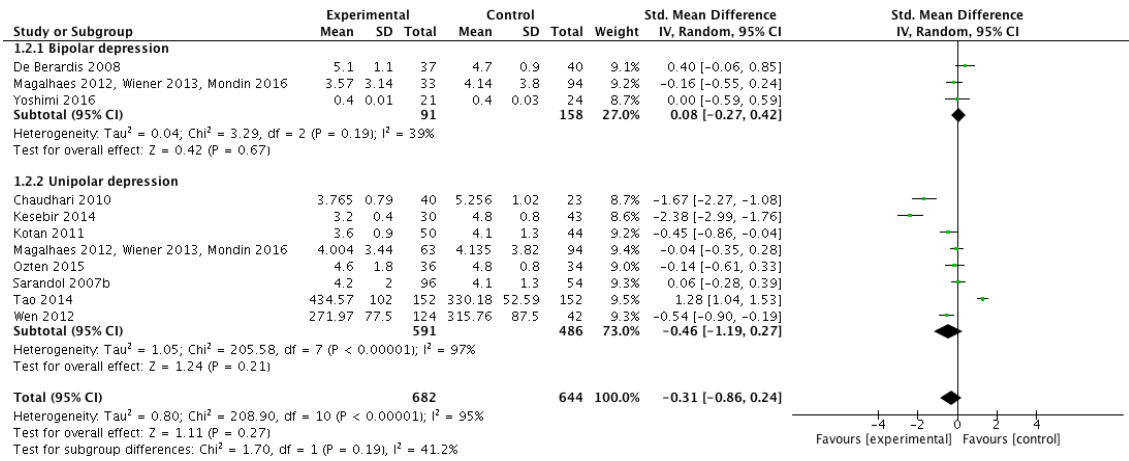
Ácido úrico (antioxidante no enzimático)

No se encontró diferencia significativa en la concentración de ácido úrico en pacientes con depresión unipolar y bipolar comparado con el grupo control (8 estudios; $n=1326$ $SMD=-0.46$; 95% IC, -1.19 a 0.27; $P=0.21$; $I^2=97\%$; 3 estudios; $n=249$ $SMD=0.08$; 95% IC, -0.27 a 0.42; $P=0.67$; $I^2=39\%$) y la concentración resultó similar en pacientes con depresión unipolar y depresión bipolar ($P=0.19$, en el test de diferencias entre subgrupos; $I^2=41.2\%$) (Figura 60a).

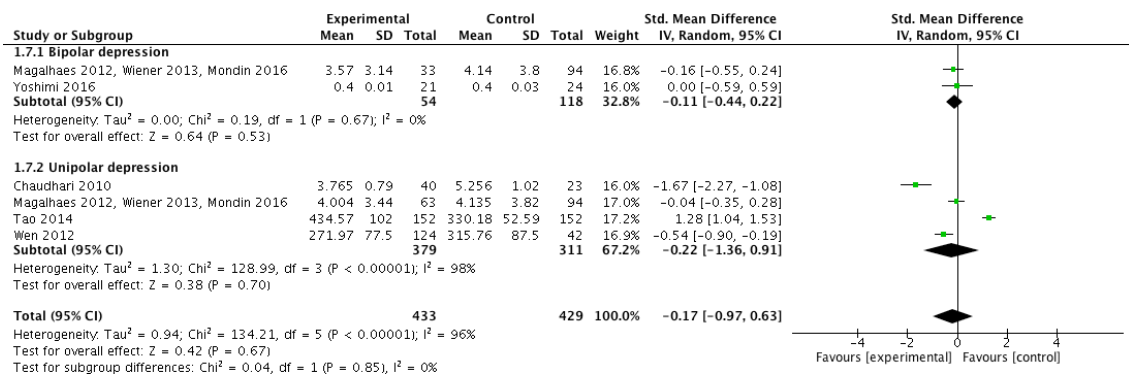
Al realizar un análisis de sensibilidad, el análisis quedó restringido a aquellos estudios que analizaban el ácido úrico en suero. Persistió la ausencia de diferencias en la concentración de ácido úrico en pacientes con depresión unipolar y en pacientes con depresión bipolar comparados con el grupo de voluntarios sanos (4 estudios, $n=690$ $SMD=-0.22$; 95% IC, -1.36 a 0.91; $P=0.70$; $I^2=98\%$; 2 estudios, $n=172$ $SMD=-0.11$; 95% IC, -0.44 a 0.22; $P=0.53$; $I^2=0\%$). Y la concentración también continuó siendo similar entre ambos subgrupos ($P=0.85$, en el test de diferencias entre subgrupos) (Figura 60b).

Figura 60. Antioxidante ácido úrico en pacientes con depresión bipolar y en pacientes con depresión unipolar comparados con controles sanos

a) Suero y plasma

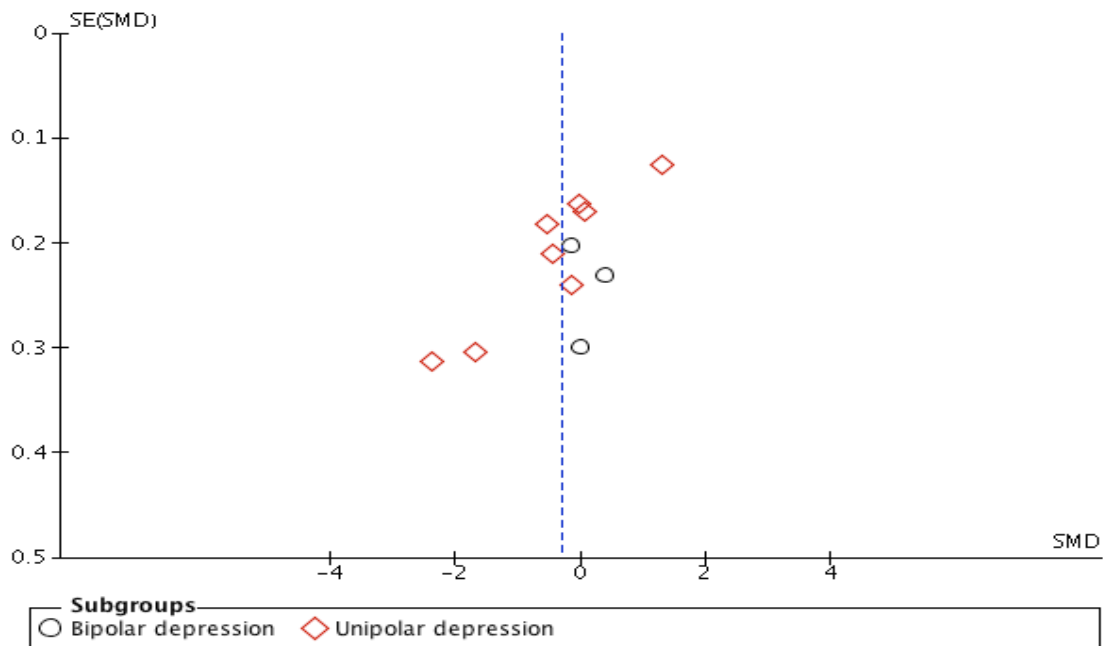


b) Suero



El *funnel plot* para ambos subgrupos mostró una imagen asimétrica, que impedía descartar el sesgo de selección (Figura 61).

Figura 61. Funnel plot de ácido úrico en pacientes con depresión bipolar y en pacientes con depresión unipolar comparados con voluntarios sanos



Antioxidantes enzimáticos: SOD, CAT, GPx, GSH-t.

No se observaron cambios significativos de la actividad de las **enzimas antioxidantes SOD, CAT y GPx** en pacientes con depresión unipolar y en pacientes con depresión bipolar comparados con controles sanos (SOD [16 estudios, $n = 792$ SMD = 0.40; 95% IC -0.07 a 0.87; $P = 0.10$; $I^2 = 94\%$; 3 estudios, $n=163$ SMD=0.11; 95% IC, -3.44 a 3.66; $P=0.95$; $I^2 = 98\%$), CAT [5 estudios, $n = 254$ SMD = 1.23; 95% IC 0.39 a 2.06; $P=0.04$; $I^2 = 95\%$; 3 estudios, $n=201$ SMD=-2.00; 95% IC, -0.12 a 4.12; $P=0.06$; $I^2 = 97\%$] y GPx (11 estudios, $n=844$ SMD=-0.42; 95% IC, -0.86 a 0.01; $P=0.06$; $I^2 = 88\%$; 2 estudios, $n=104$ SMD=-0.60; 95% IC, -0.51 a 1.70; $P=0.29$; $I^2 = 86\%$)] (Figura 62a; Figura 63a; Figura 64a).

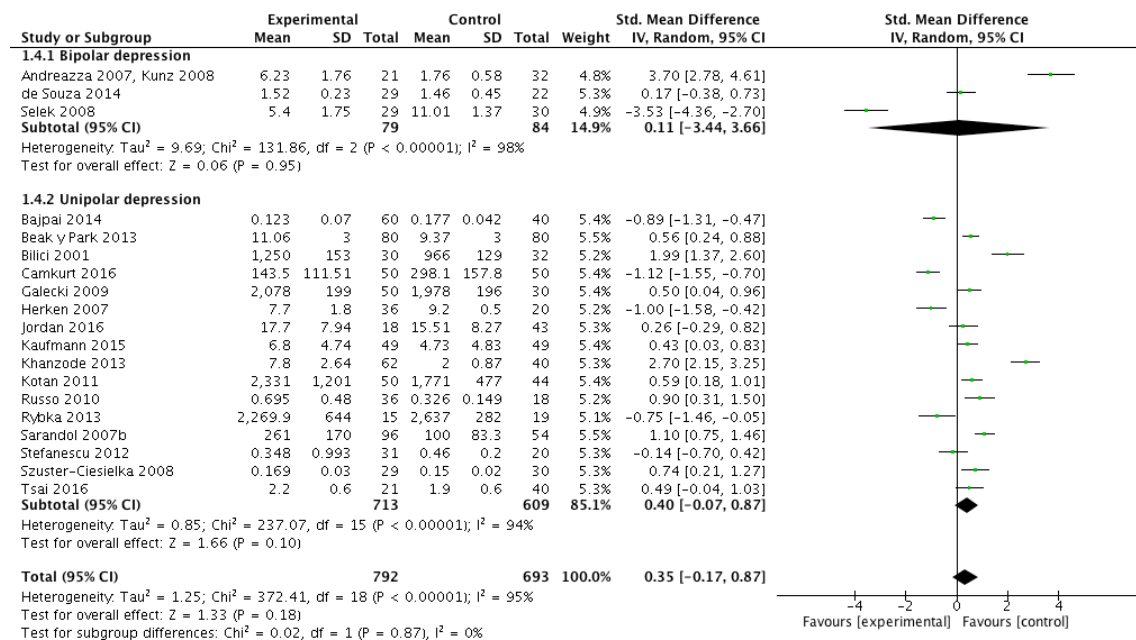
Al restringir el análisis únicamente a aquellos estudios que analizan los antioxidantes en suero, persistieron similares resultados, sin cambios en la heterogeneidad. La actividad de SOD, CAT y GPx en pacientes con depresión unipolar y en pacientes con depresión bipolar continuó siendo similar (SOD,

$P=0.87$; CAT, $P=0.28$; GPx, $P=0.09$) comparados con controles sanos (Figura 62b; Figura 63b; Figura 64b).

Se obtuvieron los tres gráficos de nube de puntos, uno para cada una de las tres enzimas antioxidantes. Las gráficas descritas fueron asimétricas para la actividad de las enzimas CAT y GPx, pero no para la enzima SOD, por lo que solo en este último caso pudo descartarse el sesgo de selección (Figura 66).

Figura 62. Enzima antioxidante SOD en pacientes con depresión bipolar y pacientes con depresión unipolar comparados con controles sanos

a) Suero, plasma y hematíes



b) suero

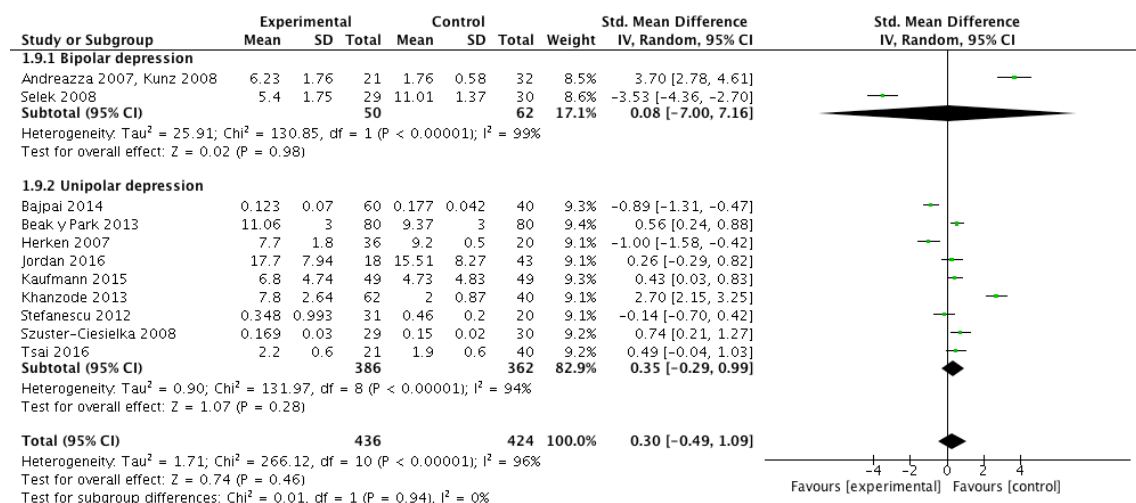
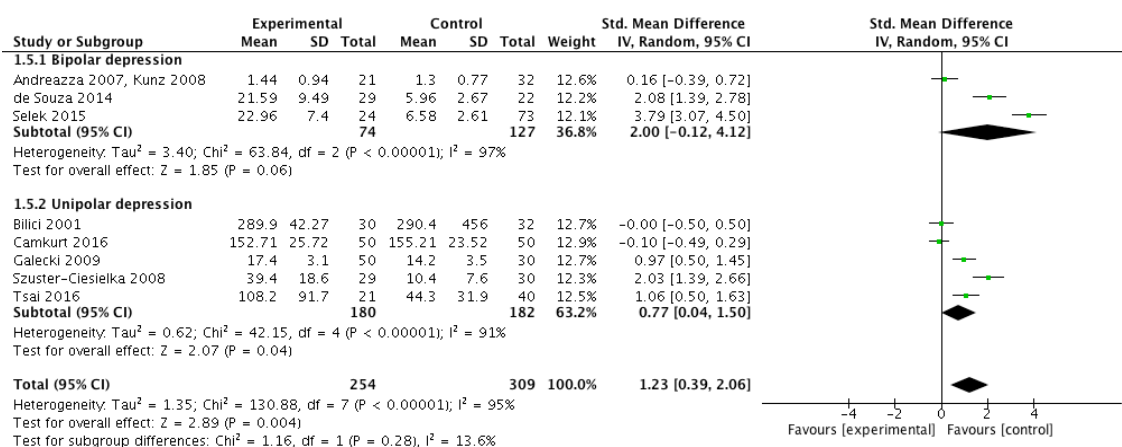


Figura 63. Enzima antioxidante CAT, pacientes con depresión bipolar y pacientes con unipolar comparados con controles sanos

a) Suero, plasma y hematíes



b) suero

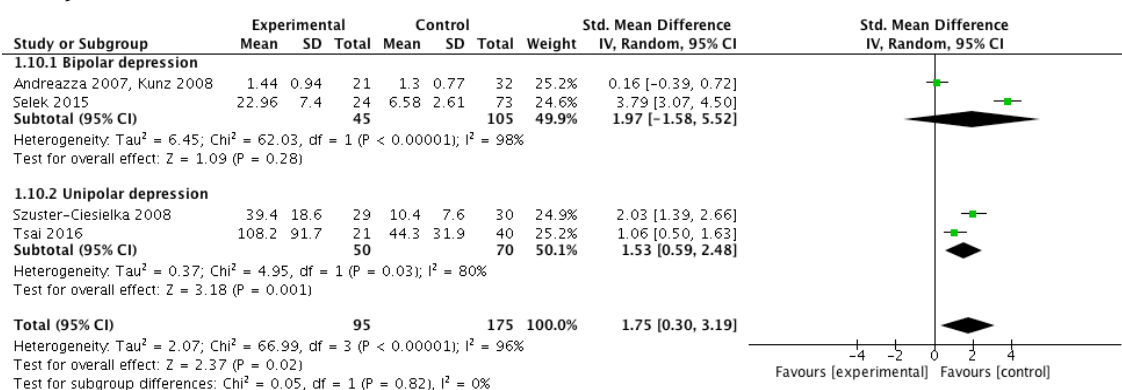
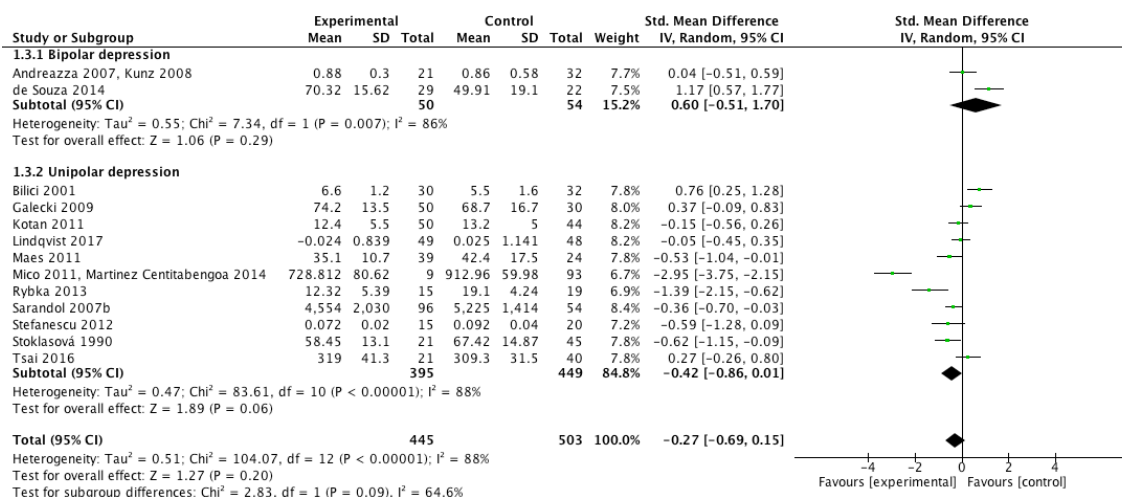
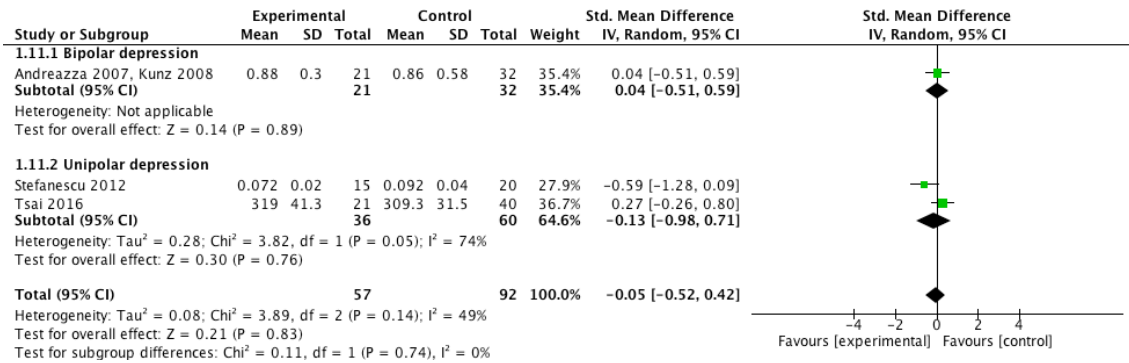


Figura 64. Enzima antioxidante GPx, pacientes con depresión bipolar y de pacientes con unipolar comparados con controles sanos

a) Suero, plasma y hematíes



b) suero



Por último se estudió qué sucedía con la actividad enzima antioxidante SOD tras el tratamiento farmacológico. No se encontraron diferencias en pacientes con depresión unipolar y en pacientes con depresión bipolar antes y después del tratamiento (8 estudios, n=719 SMD=0.18; 95% IC, -0.42 a 0.77; $P=0.56$; $I^2=93\%$; 2 estudios, n=115 SMD=-0.20; 95% IC, -1.60 a 1.21; $P=0.78$; $I^2=93\%$) y la concentración entre ambos subgrupos también resultó similar ($P=0.63$, en el test de diferencias entre subgrupos) (Figura 65).

Figura 65. Enzima antioxidante SOD en pacientes con depresión bipolar y en pacientes con depresión unipolar, comparando los niveles antes con los niveles después del tratamiento farmacológico

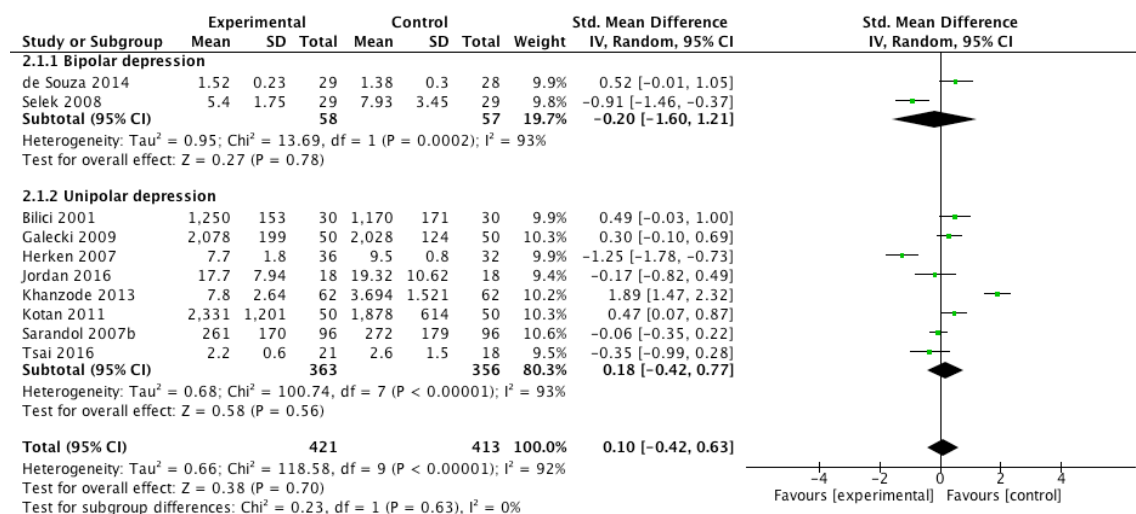
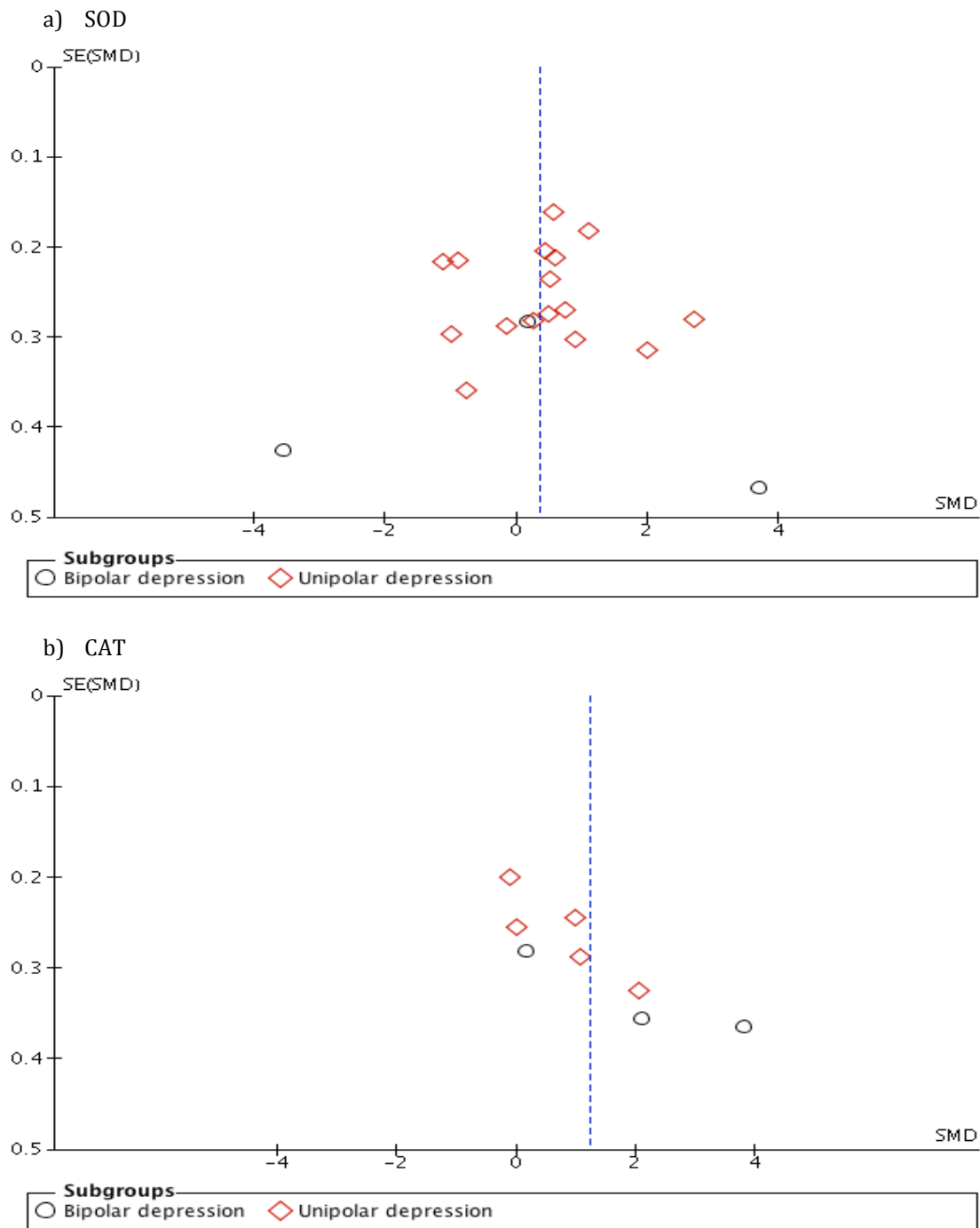


Figura 66. Funnel plot de las enzimas antioxidantes en pacientes con depresión bipolar y pacientes con depresión unipolar comparados con voluntarios sanos



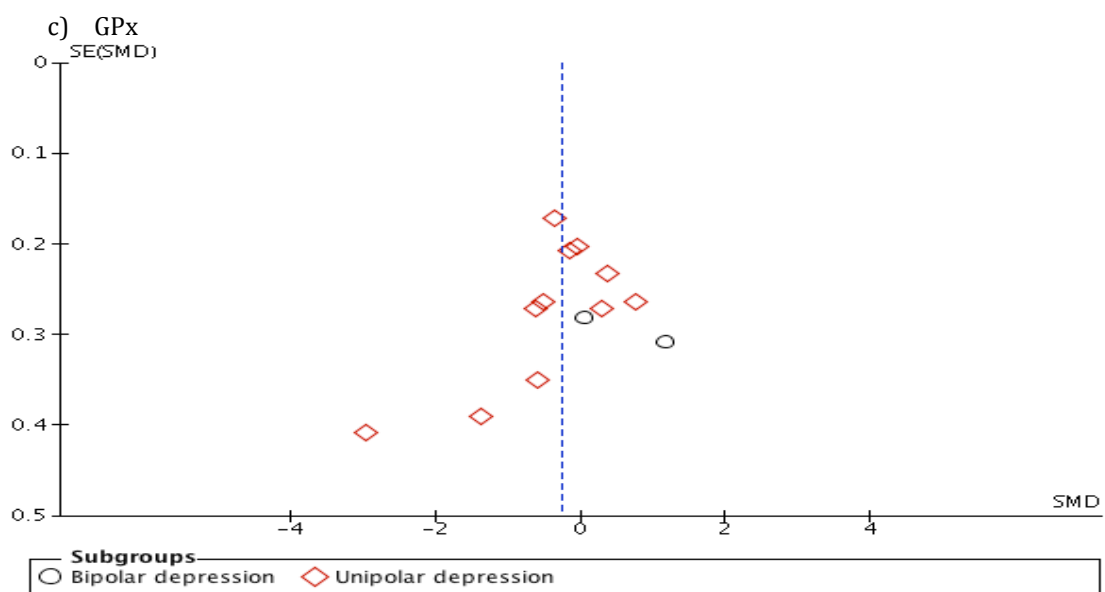


Tabla 20. Comparación de parámetros de estrés oxidativo y antioxidantes entre pacientes con depresión bipolar y depresión unipolar con voluntarios sanos

Parámetros		Número de estudios	Número de pacientes	Diferencia de medias estandarizada	IC 95% inferior	IC 95% superior	Valor <i>P</i>	Diferencia entre subtipos de depresión Valor <i>P</i>
TBARS	depresión unipolar	4	166	0,31	0,04	0,58	0,02	0,15
	depresión bipolar	5	161	0,92	0,12	1,72	0,02	
Ácido úrico	depresión unipolar	8	591	-0,46	-1,19	0,27	0,21	0,19
	depresión bipolar	3	91	0,08	-0,27	0,42	0,67	
SOD	depresión unipolar	16	713	0,4	-0,07	0,97	0,1	0,87
	depresión bipolar	3	79	0,11	-3,44	3,66	0,94	
CAT	depresión unipolar	5	180	0,77	0,04	1,5	0,04	0,28
	depresión bipolar	3	74	2,0	-0,12	4,12	0,06	
GPx	depresión unipolar	11	395	-0,42	-0,86	0,01	0,06	0,09
	depresión bipolar	2	50	0,6	-0,51	1,79	0,29	

CAT: catalasa; GPx: glutathione peroxidase; TBARS: *thiobarbituric acid reactive substances*; SOD: superóxido dismutasa

5.4. RESUMEN DE LOS RESULTADOS

Tabla 21. Resumen de los resultados de los estudios de metaanálisis realizados en parámetros de estrés oxidativo y antioxidantes

	MDA	TBARS	Nitritos	Zinc	AU	GSH	SOD	CAT	GPx	GSH-t
Depresión vs. controles	↑ RBC ↑		=	↓ calidad ↓	↓		↑ RBC ↑	= RBC =	= RBC =	
Depresión inicio vs. seguimiento	↓ calidad ↓			↑	↑		= RBC ↓		=	
Depresión seguimiento vs. controles	=			=	=		↑ RBC: =			
T.Bipolar vs. controles	↑ suero = plasma ↑	↑ suero ↑ plasma ↑	↑	=	↑ suero = plasma ↑	↓	= suero = plasma = g. rojos =	↑ suero ↑ plasma ↑	= suero = g. rojos =	↑
	eutimia = f activa =	depr ↑ mania ↑ eutimia =			depr = mania ↑ eutimia ↑		depr = mania = m-no tto ↑ eutimia =	depr = mania = f activa ↑	f activa ↑ m-no tto ↓	
							Estado antioxidante ↑ mania ↑ depr ↑ eutimia =			
T.Bipolar inicio vs. seguimiento							= depr = mania =		=	
T.Bipolar seguimiento vs. controles							= depr = mania =		=	
Depresión bipolar y Depresión unipolar vs. controles	DB ↑ DU ↑ (similar conct) plasma DB ↑ DU ↑ (similar conct)				DB = DU = (similar conct) suero DB = DU = (similar conct)		DB = DU = (similar conct) suero DB = DU = (similar conct)	DB = DU = (similar conct) suero DB = DU = (similar conct)	DB = DU = (similar conct) suero DB = DU = (similar conct)	
DB y DU inicio vs. seguimiento							DB = DU = (similar conct)			

Depr: depresión; DB: depresión bipolar; DU: depresión unipolar; f activa: fase activa (mania+depresión); m-no tto: mania sin tratamiento; similar conct: concentración en BD y DU similar

Tabla 22. Resumen de los resultados de los estudios de metaanálisis realizados en parámetros de estrés oxidativo y antioxidantes comparados con otros meta-análisis.

	MDA	TBARS	Nitritos	Zinc	AU	GSH	SOD	CAT	GPx	GSH-t
Depr vs. CS	↑ RBC ↑		=	↓ calidad ↓	↓		↑ RBC ↑	= RBC =	= RBC =	
Depr I vs S	↓ calidad ↓			↑	↑		= RBC ↓		=	
Liu et al., (2015)										
Depr vs CS	↕		=				=	=	=	
Depr I vs S			↓				=	=	=	
Swardfager et al., (2013)										
Depr vs CS				↓						
Depr I vs S				↑						
TB vs. CS	↑ suero = plasma ↑	↑ suero ↑ plasma ↑	↑	=	↑ suero = plasma ↑	↓	= suero = plasma = g. rojos =	↑ suero ↑ plasma ↑	= suero = g. rojos =	↑ ↑
	eutimia = f activa =	depr ↑ mania ↑ eutimia =			depr = mania ↑ eutimia ↑		depr = mania = m-no tto ↑ eutimia =	depr = mania = f activa ↑		f activa ↑ m-no tto ↓
TB I vs S							Estado antioxidante ↑ mania ↑ depr ↑ eutimia =			
							=		=	
							depr = mania =			
Bartolli et al., (2016)										
TB vs CS					↑ mania ↑ mixto ↑					
Brown et al., (2013)										
TB vs CS							=	=	=	ssb ↓
Andreazza et al., (2008)										
TB vs CS		↑	=				=	=	=	

CS: controles sanos; Depr: depresión; TB: trastorno bipolar; f activa: fase activa (mania+depresión); I: inicio; m-no tto: mania sin tratamiento; S: seguimiento

VI. DISCUSIÓN

VI. DISCUSIÓN

6.1. Hallazgos principales

En este trabajo de metaanálisis se estudian exhaustivamente los distintos marcadores de estrés oxidativo y los antioxidantes en pacientes con depresión y trastorno bipolar comparados con voluntarios sanos. Los resultados obtenidos permiten concluir que en ambos trastornos psiquiátricos se produce un estado oxidativo caracterizado por un aumento de los radicales libres. Estos radicales libres interactúan en la célula con distintas moléculas y dan lugar a productos de daño oxidativo.

Se halló un aumento significativo de los marcadores de estrés oxidativo MDA y TBARS, productos de daño oxidativo sobre los lípidos en pacientes con depresión y en los pacientes con trastorno bipolar, con respecto al grupo de individuos voluntarios sanos. En el caso del trastorno bipolar, la concentración de MDA se observó significativamente elevada tanto durante la fases activas de la enfermedad como en los momentos de estabilidad sintomática o fase de eutimia. Lo mismo sucede con el producto TBARS, que se encontró significativamente elevado las fases de manía, depresión y eutimia. La concentración de nitritos también se encontró significativamente elevada en los pacientes con trastorno bipolar, comparados con el grupo de voluntarios sanos, aunque el tamaño de la muestra no permitía un análisis por fases del trastorno.

En los pacientes con depresión, comparados con el grupo de controles sanos, los antioxidantes no enzimáticos, zinc y ácido úrico se encontraron significativamente disminuídos; y la enzima SOD, significativamente elevada. Entre los pacientes con trastorno bipolar, comparados con los voluntarios sanos, se encontró disminución de la concentración de glutatión y aumento de la concentración de ácido úrico y de la actividad de las enzimas GSH-t y CAT, diferencias todas estas estadísticamente significativas.

Al realizar un análisis de subgrupos, el ácido úrico se observó significativamente elevado en los pacientes en fase de manía y de eutimia, mientras que la enzima CAT resultó incrementada de manera casi estadísticamente significativa ($P = 0.06$) en los pacientes en fase depresiva. La GPx aparece significativamente elevada cuando se excluyeron del análisis a los pacientes en fase maniaca. De hecho, se observó un descenso significativo de esta enzima en los pacientes en fase de manía sin tratamiento farmacológico. Por el contrario, la actividad de la enzima SOD resultó elevada en pacientes con manía sin tratamiento comparados con controles sanos. En los pacientes con trastorno bipolar se observó un aumento significativo del estado antioxidante (resultante de la combinación de las medias estandarizadas de las enzimas CAT y SOD) durante las fase de manía y depresión pero no en fase de eutimia.

En el tercer estudio se compararon a pacientes con depresión bipolar y pacientes con depresión unipolar respecto a voluntarios sanos. La muestra de pacientes con depresión unipolar fue ampliada, al ser actualizada, con respecto al primer estudio. La concentración de TBARS -que estaba significativamente elevada-, la concentración de ácido úrico, y la actividad de las enzimas SOD, CAT y GPx fue similar entre ambos tipos de depresión, que tampoco mostraron diferencias respecto al grupo de voluntarios sanos (excepto en la concentración de TBARS y de CAT en pacientes con depresión unipolar). Sin embargo, se observa un descenso, próximo a la significación estadística, de la actividad de la enzima GPx ($P = 0.06$).

En los trabajos de metaanálisis de estudios longitudinales se observó que el tratamiento con antidepresivos en los pacientes con depresión iba asociado a mejoría de las alteraciones observadas. Se observó una disminución significativa del marcador de estrés oxidativo MDA y de la actividad de la enzima antioxidante SOD (cuando la determinación se realizó en los hematíes) y un aumento significativo de las concentraciones de los antioxidantes ácido úrico y zinc. Además, los niveles de MDA, zinc y ácido úrico de los pacientes tras el tratamiento ya no se distinguían de las del grupo de voluntarios sanos. No se llegó a normalizar

la actividad de la enzima antioxidante SOD, que continuó elevada después del tratamiento. Sin embargo, en los pacientes con trastorno bipolar no se halló diferencia en la actividad de las enzimas antioxidantes SOD y GPx entre antes y después del tratamiento farmacológico (tratamiento combinado con antipsicóticos, estabilizadores del ánimo y/o antidepresivos); estos pacientes tampoco mostraron diferencias con los voluntarios sanos antes del tratamiento farmacológico.

En el primer estudio, en pacientes con depresión comparados con voluntarios sanos, se realizaron análisis de sensibilidad, para lo cual se combinan únicamente aquellos estudios en los que la muestra era analizada en hematíes. Los hematíes reflejan de modo preciso el estado oxidativo cerebral (Stock *et al.*, 1972), porque son muy sensibles a la acción de los radicales libres y fácilmente pueden determinarse en sangre, a diferencia del tejido cerebral. Con el análisis de sensibilidad en el que confirmaron los resultados obtenidos inicialmente, se consigue disminuir la heterogeneidad y es posible encontrar un aumento significativo de la actividad de la enzima antioxidante SOD. En el estudio de pacientes con trastorno bipolar, solo para los antioxidantes SOD y GPx pudieron llevarse a cabo estos análisis de sensibilidad (incluyendo sólo muestras de hematíes), que tampoco mostraron diferencias significativas. El análisis de sensibilidad en plasma y en suero confirmó el incremento significativo de la concentración de TBARS, de MDA, de ácido úrico y de la actividad de la enzima CAT, pero sin que se consiguiera reducir la heterogeneidad.

Los resultados encontrados sugieren que los pacientes con depresión o con trastorno bipolar presentan una alteración del equilibrio oxidativo celular, que queda reflejada en el aumento de los productos de daño oxidativo de los ácidos grasos (MDA, TBARS). En cambio la actividad de los distintos antioxidantes mostró una disparidad entre los diferentes estados clínicos: por ejemplo, la enzima antioxidante SOD resultó elevada en la fase maniaca del trastorno bipolar sin tratamiento y en la depresión (unipolar); y la de GPx resultó reducida en la fase maniaca del trastorno bipolar (sin tratamiento) y aumentada al combinar los pacientes en fase depresiva o eutímica.

Los radicales libres se sintetizan durante el proceso de respiración celular, atacan los distintos componentes celulares y, como resultado, dan lugar a un aumento de productos de daño oxidativo por el ataque de los radicales libres a distintas moléculas de la célula. El organismo compensa este exceso de radicales libres mediante la activación de los factores de transcripción que sintetizan los distintos antioxidantes enzimáticos, y hace también uso de distintos antioxidantes no enzimáticos, como el ácido úrico o el zinc (Valko *et al.*, 2007) (Figura 3.1). Esta explicación es consistente con el resultado que se se ha obtenido en el conjunto de este trabajo.

6.2. Comparación de los resultados obtenidos con los de otros metaanálisis

Nuestros resultados coinciden con los resultados hallados en otros metaanálisis, en los cuales también se observa que existe un estado oxidativo en los pacientes con depresión y en los pacientes con trastorno bipolar, que queda reflejado en el aumento de productos de daño oxidativo por peroxidación de los lípidos a causa del exceso de especies reactivas (Andreazza *et al.*, 2008; Brown *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2015; Mazereeuw *et al.*, 2015) (Tabla 11.2). Este hallazgo también se ha observado en la esquizofrenia (Grignon y Chianetta, 2007; Zhang *et al.*, 2010; Bošković *et al.*, 2011; Flatow *et al.*, 2013), de lo que se concluye que el estrés oxidativo está implicado en los tres grandes trastornos psiquiátricos: la esquizofrenia, el trastorno bipolar y la depresión.

En el presente trabajo, los pacientes con trastorno bipolar y los pacientes con depresión, al igual que en otros metaanálisis, no presentaron cambio significativo de la actividad de las enzimas SOD y GPx (Andreazza *et al.*, 2008; Brown *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2015). Sin embargo, el análisis de subgrupos sí reveló un incremento de la actividad de la enzima SOD y un descenso de la actividad de la enzima GPx en pacientes en fase de manía sin tratamiento farmacológico y un aumento de la enzima GPx en pacientes en fase depresiva o en eutimia. Estos resultados de pacientes de trastorno bipolar son similares a los hallados en pacientes con esquizofrenia. Flatow *et al.* (2013) observan una disminución de la

actividad de la enzima GPx durante las recaídas de la esquizofrenia y un incremento de la actividad de SOD en pacientes que presentan un primer episodio de psicosis que también lo observan en la fase estable de la esquizofrenia.

Las diferencias encontradas en los pacientes con depresión, comparados con voluntarios sanos, en la concentración de ácido úrico y en la actividad de la enzima SOD, se pierden al aumentar el tamaño de la muestra, aunque es cierto que no se realizan análisis de sensibilidad con hematíes exclusivamente, por el bajo número de estudios incluidos en el subgrupo de depresión bipolar. La dificultad para encontrar diferencias puede ser debido a un error de tipo II; es decir, no rechazar la hipótesis nula en la muestra cuando es falsa en la población. Este hecho también puede ser debido a la gran heterogeneidad de las muestras, que se mantiene a pesar de los análisis de sensibilidad y por estratos. Puede deberse a que en el análisis no se consideraron distintos factores de confusión que pueden interferir en los mecanismos del estrés oxidativo, como son duración de la enfermedad, la fase en la que se encuentran los pacientes, el sexo o la edad, la dieta y el estado nutricional, el hábito tabáquico, el estilo de vida (activa o sedentaria) y otros factores que intervienen directamente sobre los mecanismos que mantienen el equilibrio oxidativo, como defectos en la síntesis o en la expresión de los distintos antioxidantes.

En nuestro trabajo, la actividad de la enzima CAT se mostró elevada en el trastorno bipolar, mostró una tendencia a la elevación en los pacientes con depresión bipolar y un aumento significativo en los pacientes con depresión unipolar. Aunque no fue posible encontrar una diferencia entre los pacientes con depresión bipolar y los pacientes con depresión unipolar. La actividad de la enzima CAT también se encuentra elevada durante los primeros episodios de psicosis y en las recaídas de esquizofrenia (Flatow *et al.*, 2013).

¿Qué ocurre con los antioxidantes ácido úrico, GSH y zinc? La concentración de ácido urico se encontró incrementada en los pacientes con trastorno bipolar en fase de manía. Este resultado también es hallado en otro estudio de metaanálisis que realizaron Bartoli *et al.* (2016). Además, la concentración de ácido úrico está

disminuída en los pacientes con depresión, comparado con controles sanos, y aunque al aumentar el tamaño de la muestra se pierde la diferencia (el intervalo de confianza es muy amplio) la concentración es menor en pacientes con depresión unipolar que en los que sufren depresión bipolar. Otros estudios también encuentran un descenso de la concentración de ácido úrico durante los primeros episodios psicóticos o durante las recaídas que requieren hospitalización en los pacientes con esquizofrenia crónica (Flatow *et al.*, 2013). La edad y el sexo son factores que pueden influir en la concentración de ácido úrico y deben ser tenidos en cuenta para interpretar los resultados (Bartoli *et al.*, 2016).

La elevación de productos derivados de la peroxidación lipídica y la alteración de la concentración del ácido úrico aparecen también en las distintas enfermedades cardiovasculares, en la diabetes mellitus y en general en las enfermedades inflamatorias crónicas, las cuales a su vez son más frecuentes en pacientes con trastornos mentales graves (Sato y Yeh, 2013; Carrá *et al.*, 2014; Correll *et al.*, 2017), lo que sugiere la existencia de alteraciones genéticas comunes (De Hert *et al.*, 2009; McIntyre *et al.*, 2009; Kahl *et al.*, 2012; Malhotra *et al.*, 2013; Agarwal *et al.*, 2016; Dose *et al.*, 2016). En el caso del ácido úrico, diversos estudios han sugerido que los pacientes con enfermedades mentales graves pueden presentar alteraciones en su metabolismo (Bortolasci *et al.*, 2015; Chiu *et al.*, 2015) y se ha afirmado que el ácido úrico puede ser responsable de la regulación del estado de ánimo y de otras funciones controladas por el sistema nervioso central como son el sueño, el apetito o la actividad motora (Ortiz *et al.*, 2015).

6.3. El tratamiento farmacológico

En los pacientes con depresión, tras el tratamiento con antidepresivos, hay una normalización de la mayoría de los parámetros alterados. Además, no ha sido posible encontrar diferencias entre los pacientes con depresión unipolar y los pacientes con depresión bipolar, comparados con controles sanos, lo que podría indicar una dependencia de la intensidad sintomática o de la ansiedad acompañante (Steenkamp *et al.*, 2017), más que del trastorno psiquiátrico

específico. Sin embargo, el escaso número de estudios disponibles sobre parámetros de estrés oxidativo en el trastorno bipolar no permite llevar a cabo un metaanálisis para estudiar la eficacia del tratamiento farmacológico en las distintas fases del trastorno bipolar. Por otro lado, las alteraciones de la concentración de ácido úrico sí parecen dependientes del trastorno psiquiátrico específico, concretamente del trastorno bipolar. Por lo tanto, son necesarios más estudios y metaanálisis que corroboren estos resultados preliminares y la implicación del estrés oxidativo en la patofisiología de la depresión y del trastorno bipolar, para abrir la puerta al diseño de nuevas dianas terapéuticas (Jiménez-Fernández *et al.*, 2015).

El tratamiento farmacológico actualmente disponible es eficaz para controlar la sintomatología aguda psicótica y afectiva, pero el uso a largo plazo tiene limitaciones, entre las que destacan la presencia de efectos adversos como el incremento del riesgo cardiovascular (Correll *et al.*, 2015), las alteraciones de la esfera sexual (Crawford *et al.*, 2014), la presencia de síntomas residuales durante los periodos libres de enfermedad (Goodwing *et al.*, 2016; Woo *et al.*, 2016) y la presencia de recaídas del trastorno bipolar a pesar del tratamiento estable (Goodwing *et al.*, 2016). En un intento de mejorar la eficacia de los tratamientos, los estudios de suplementación con antioxidantes sugieren un beneficio de su uso como neuroprotector en tratamientos crónicos (Pillai, 2008).

6.4. La depresión unipolar y la depresión bipolar

La falta de diferencias entre la depresión bipolar y la depresión unipolar puede llevarnos a pensar que no existen diferencias entre ambos constructos patológicos, como otros autores han señalado, para quienes la manía sería una enfermedad más infrecuente y homogénea que la depresión (Joffe *et al.*, 1999). Sin embargo, esta falta de diferencias hay que considerarla con cautela, porque, aunque existe un solapamiento neurobiológico, también se han observado importantes diferencias clínicas (por ejemplo, la depresión bipolar se asocia con un inicio más temprano, con síntomas psicóticos e hipomaniacos, con la presencia de síntomas depresivos

atípicos y con una peor respuesta a antidepresivos entre otras diferencias), diferencias neurobioquímicas (en la depresión bipolar hay niveles mayores de citoquinas proinflamatorias, más alteraciones neuroendocrinas y en ambos constructos hay diferencias en las vías de señalización intracelular) (Gupegui et al., 1984; Cuellar *et al.*, 2005; Bai et al., 2015) y diferencias en pruebas de neuroimagen (en los pacientes con depresión bipolar se observan más anomalías e hiperintensidades en sustancia blanca, una reducción del volumen de la hipófisis y ambos trastornos presentan distintas alteraciones funcionales) (Cardoso de Almeida y Philips, 2013; Diler *et al.*, 2014; Tan *et al.*, 2016; Ambrosi *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2017). Estas diferencias biológicas también se han observado entre estos dos grupos nosológicos en relación con el polimorfismo Q192R y su interacción con el hábito tabáquico en condicionar el riesgo de desarrollar depresión unipolar o trastorno bipolar (Bortoslaci *et al.*, 2014). A pesar de que los grandes trastornos psiquiátricos pueden compartir distintos polimorfismos genéticos, en el trastorno bipolar la principal causa de este trastorno es la genética; su tasa de heredabilidad es alta, pues llega al 59-89% (Leussis *et al.*, 2012) y es uno de los trastornos con mayor tasa de heredabilidad en Medicina (Potash y De Paulo, 2000). Sin embargo, no se ha podido identificar un único gen responsable del trastorno (Seifuddin et al., 2012), además de que los genes implicados también lo están en otras enfermedades mentales graves (Valles *et al.*, 2000; Gutiérrez *et al.*, 2007).

6.5. Factores de confusión

Los resultados obtenidos permiten refutar la hipótesis nula de igualdad entre los pacientes con trastorno bipolar y depresión (unipolar) y el grupo de individuos sanos. Las alteraciones del estrés oxidativo parecen estar influenciadas por la intensidad del episodio presentado, más que existir alteraciones propias de cada diagnóstico psiquiátrico dependientes de la polaridad anímica en el trastorno bipolar. El exceso de radicales libres y de especies reactivas precipitan la activación del sistema inflamatorio (Haddad, 2000). Los distintos antioxidantes endógenos actúan de modo coordinado al incrementar la síntesis y activación de

enzimas antioxidantes de un modo organizado y así contrarrestan este estado oxidativo. Por ejemplo, en situaciones de estrés oxidativo se sintetiza y activa la enzima CAT mientras que la enzima GPx tendría un papel más importante en la eliminación de modo constante de radicales libres producidos durante los procesos de respiración celular (Halliwell y Gutteridge, 2007; p. 123). En este estado de estrés oxidativo, el exceso de especies reactivas ataca los distintos componentes celulares (los lípidos, las proteínas y el ADN) y produce daño celular. Este exceso de radicales libres y los productos de daño oxidativo son la señal de activación del sistema inmune al formarse nuevos epítomos celulares o al favorecer la presentación de moléculas no expuestas habitualmente (Maes *et al.*, 2011 b; Leonard y Maes, 2012). En el sistema nervioso central estas reacciones son capaces de desencadenar la apoptosis y la neurodegeneración (Bazan *et al.*, 2005; Halliwell, 2006). Además, tanto la depresión como el trastorno bipolar se asocian con determinados polimorfismos en genes prooxidantes y antioxidantes, que incrementan la susceptibilidad de padecer estas enfermedades mentales (Fullerton *et al.*, 2010; Galecki *et al.*, 2010; Bartolasci *et al.*, 2014).

El equilibrio oxidativo está regulado por distintos factores constitucionales aunque también se deben considerar distintos factores ambientales por su capacidad de interaccionar con los mecanismos encargados de mantener este equilibrio y por su capacidad de contribuir al desarrollo de distintas enfermedades mentales. Entre los factores ambientales se encuentran el consumo de tabaco, el ejercicio físico y la dieta (Seet *et al.*, 2011; Halliwell, 2012; Tumova *et al.*, 2013; Bengesser *et al.*, 2015).

El sexo estado oxidativo del organismo varía con el sexo; concretamente, el sexo femenino parece asociarse a una mayor capacidad antioxidante, como se deduce del hecho de que la concentración de productos de daño oxidativo del ADN, de las proteínas y de los lípidos es menor en mujeres que en varones (Nakano *et al.*, 2003). Las ratas macho castradas tienen mayor esperanza de vida y se cree que la testosterona es responsable de estimular la síntesis de radicales libres, mientras que los estrógenos inhiben *in vitro* las reacciones de peroxidación lipídica (Liehr y Roy, 1998), disminuyen la síntesis de radicales libres y aumentan la síntesis de

antioxidantes (Vina *et al.*, 2006). La edad también parece afectar a los mecanismos que mantienen el equilibrio oxidativo. Con el paso del tiempo, la capacidad del organismo para aumentar sus barreras antioxidantes ante situaciones de estrés se ve comprometida (Barja, 2004; Suh *et al.*, 2004).

Otro factor que afecta al estado oxidativo es el ejercicio físico. El ejercicio aeróbico de intensidad moderada permite el desarrollo de una mayor resistencia física contra el estrés oxidativo (Radak *et al.*, 2002; Radak *et al.*, 2008; Camiletti-Moirón *et al.*, 2013) capaz de combatir las secuelas del paso del tiempo (Shephard y Baladi, 1999). Además, el ejercicio tiene un papel muy importante en la prevención y tratamiento de las enfermedades neuropsiquiátricas (Mattson *et al.*, 2004; Radak *et al.*, 2008). La práctica regular de ejercicio físico incrementa la síntesis y activación de distintos antioxidantes endógenos a nivel cerebral (Aguiar *et al.*, 2008; Um *et al.*, 2008; Tuon *et al.*, 2012), activa el proteosoma (Radak *et al.*, 2006) e inhibe el sistema inflamatorio, reduciendo de este modo las principales fuentes de producción de radicales libres (Sallam y Laer, 2016). Todos estos cambios se asocian a una mejora del rendimiento cognitivo (Radak *et al.*, 2001; Roig *et al.*, 2013).

La dieta rica en grasas poliinsaturadas junto con un estilo de vida sedentario inducen el exceso de acúmulo lipídico en el organismo, dando lugar a obesidad. La obesidad se acompaña de un estado inflamatorio crónico y de una desregulación del sistema inmune y del equilibrio oxidativo (Tinahones *et al.*, 2009; Rocha y Folco, 2011). Por el contrario, la dieta saludable y el ejercicio físico ofrecen importantes beneficios al organismo, incluso cuando el cambio de vida se acompañe únicamente de pérdidas de peso moderadas. Entre las bondades de la dieta mediterránea, rica en antioxidantes, grasas monoinsaturadas y ácido ω -3, se incluyen la modulación de las vías inflamatorias y la potenciación de la capacidad antioxidante del organismo (Storniolo *et al.*, 2017; Koloveryou *et al.*, 2016; Hadziabdić *et al.*, 2012). Se han demostrado menores tasas de depresión incidente asociadas a adherencia a la dieta mediterránea (Sánchez Villegas *et al.*, 2009). Los principales trastornos psiquiátricos –la depresión, el trastorno bipolar y la esquizofrenia–, se benefician del suplemento dietético con ácido ω -3 (Sorgi *et al.*,

2007; Sinn *et al.*, 2010; Zhang y Yao, 2013; McNamara y Welge, 2016) y la suplementación con este ácido graso (ácido ω -3) también es beneficiosa para la prevención del desarrollo de patología mental grave (Amminger y McGorry, 2012; Patrick y Ames, 2015) por su capacidad para inhibir la síntesis de ácido araquínódico (Günther *et al.*, 2010), modular los mecanismos implicados en el mantenimiento del equilibrio oxidativo y asegurar la fluidez de las membranas lipídicas neuronales (Salem *et al.*, 2001; Heinrichs *et al.*, 2010; Calder, 2012).

6.6. Fortalezas y limitaciones

En este trabajo también se han tenido en cuenta distintas condiciones que lo hacen globalmente de elevada calidad:

- a) Se han analizado de modo independiente tres marcadores de estrés oxidativo (TBARS, MDA y nitritos) y siete antioxidantes (el ácido úrico, el zinc y GSH y las enzimas antioxidantes SOD, CAT, GPx y GSH-t). Este punto es especialmente importante si tenemos en cuenta que hasta la fecha no todos estos parámetros habían sido estudiados y, además, en el caso del tercer estudio, que compara a pacientes afectados de depresión unipolar con pacientes afectados de depresión bipolar y con voluntarios sanos, solo se había estudiado el ácido úrico (Bartoli *et al.*, 2016).
- b) Se ha estudiado el efecto del tratamiento farmacológico en los distintos marcadores de estrés oxidativo y los antioxidantes, tanto en pacientes con depresión como en pacientes con trastorno bipolar. En el caso del trastorno bipolar, solo se pudo evaluar el efecto del tratamiento en los antioxidantes SOD y GPx; sin embargo, previamente no se había realizado un estudio de este tipo.
- c) Se ha evaluado el grado de normalización de los marcadores y antioxidantes después del tratamiento, comparados con el grupo de voluntarios sanos, en pacientes con depresión y en pacientes con trastorno bipolar, para estudiar si el cambio en los parámetros (cuando este se produce) alcanza la normalidad.

- d) Se han realizado análisis de sensibilidad teniendo en cuenta la muestra biológica en todos los estudios; y en el segundo estudio, se realizaron además análisis de subgrupos. La de pacientes en distintas fases del trastorno bipolar comparados con individuos sanos es una aportación totalmente novedosa.

Estos puntos reúnen las diferencias fundamentales con los metaanálisis publicados por Palta *et al.*, (2014) y por Mazereeuw *et al.*, (2015) en pacientes con depresión comparados con voluntarios sanos. Se combinan en dos parámetros el estado oxidativo y la actividad antioxidante, mediante la combinación de los distintos marcadores de estrés oxidativo y de los distintos antioxidantes respectivamente. Además, en el metaanálisis de Palta *et al.*, (2014) se incluyen artículos que quedaron excluidos debido al uso de unos criterios de inclusión menos exigentes. Por ejemplo, permitían la presencia de comorbilidades médicas (con potencialidad para alterar el estado oxidativo), permitían un diagnóstico de depresión más laxo (como es la presencia de síntomas depresivos, de depresión bipolar y de trastorno ansioso); no hacían selección de artículos según fuentes de procedencia de las muestras biológicas, y, por último, no se incluían en el análisis solo aquellos parámetros evaluados en al menos tres estudios. Esta última característica tampoco fue considerada por Liu *et al.*, (2015). Cuyo trabajo confirma los resultados encontrados unos meses antes en nuestro estudio en pacientes con depresión (Jiménez-Fernández *et al.*, 2015), excepto que no encontraban diferencia en la actividad de la enzima SOD; al incrementar el tamaño de la muestra, también se ha desvanecido esta diferencia. *A priori*, puede parecer que el incremento del tamaño muestral siempre es apropiado, sin embargo, no es así si el muestreo no ha sido adecuado y por lo tanto no representa a la población general. En conclusión, son necesarios más estudios que permitan clasificar mejor a la población con el fin de disminuir el problema de la elevada heterogeneidad (Jiménez-Fernández *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2015) y que resuelvan esta incertidumbre.

Los metaanálisis con pacientes con trastorno bipolar, publicados previamente al presente trabajo (Andreazza *et al.*, 2008; Brown *et al.*, 2014, ambos estudios del

mismo grupo brasileño), también usan criterios de selección son menos exigentes que hasta permiten incluir estudios que evalúan los parámetros de estrés oxidativo en tejido cerebral *post-mortem*. El tejido cerebral es más adecuado para estudiar los cambios estructurales causados por estrés oxidativo que para estudiar los parámetros de estrés oxidativo en sí mismos (Gigante *et al.*, 2011). Este hecho contribuye a incrementar la heterogeneidad de la muestra, que tampoco se intenta controlar mediante análisis por estratos según las distintas fases del trastorno bipolar, como tampoco se evalúa la calidad de los distintos estudios incluidos. El presente trabajo también mejora los resultados del grupo de Andreazza *et al.* (2008) y de Brown *et al.* (2014) al estudiar de manera independiente dos distintos productos de daño oxidativo en lípidos (MDA y TBARS) y al incluir en el análisis antioxidantes que no habían sido estudiados, como son el glutatión, el ácido úrico y la enzima GSH-t.

Por último, en el presente trabajo se estudian las diferencias entre los pacientes con depresión unipolar y con depresión bipolar con respecto a voluntarios sanos. Recientemente Bartoli *et al.*, (2016) han publicado un trabajo similar pero únicamente se estudian la concentración ácido úrico.

Junto a estas fortalezas, para poder interpretar los resultados obtenidos es fundamental tener en cuenta las limitaciones de nuestro trabajo de metaanálisis. Los principales puntos que hay que tener en cuenta son el pequeño número de estudios incluidos y la elevada heterogeneidad de los resultados, que se mantiene elevada incluso tras realización de los análisis de sensibilidad o por estratos.

La elevada heterogeneidad puede ser consecuencia de la falta de estratificación de la muestra durante el análisis según el momento clínico en que se encontraban los pacientes (en trastorno bipolar en las distintas fases –mania, depresión o eutimia–; y en el caso de la depresión, si los pacientes se encontraban sintomáticos o en remisión); también según la duración de la enfermedad, según la intensidad de los síntomas psiquiátricos, la fuente biológica utilizada para analizar los distintos marcadores y los antioxidantes, y según la técnica de evaluación para cuantificar los distintos parámetros usada en cada uno de los estudios incluidos.

Otra importante limitación de este trabajo ha sido que no se ha podido evaluar de modo independiente el efecto de los distintos psicofármacos. En el caso del estudio de metaanálisis de pacientes con depresión, se pudo evaluar globalmente el efecto del tratamiento con antidepresivos pero no el efecto de cada familia de antidepresivos individualmente, debido a que en muchos estudios no estaba adecuadamente especificada esta distinción. En el estudio de metaanálisis de pacientes con trastorno bipolar, el efecto del tratamiento farmacológico fue evaluado únicamente sobre la actividad de dos enzimas antioxidantes, por no existir suficientes estudios longitudinales; y tampoco se pudo evaluar los distintos psicofármacos de modo independiente. En este caso, los pacientes con trastorno bipolar recibían tratamiento con antidepresivos, litio y otros estabilizadores y antipsicóticos, según el criterio médico, sin aparecer claramente detallado el grupo de pacientes que tomaban cada uno de estos fármacos.

La calidad global de los estudios incluidos no fue elevada. Aproximadamente un tercio de los estudios incluidos en los análisis cumplían con todos los criterios de calidad requeridos. En el primer estudio, el 38% de los estudios incluidos cumplían todos los criterios; en el segundo estudio los criterios eran cumplidos por el 30% de los estudios incluidos; y en el del tercer estudio el porcentaje descendía hasta el 27%. Además, en la mayoría de estudios los pacientes no habían sido emparejados teniendo en cuenta con los individuos sanos según los principales factores de confusión, como son el hábito tabáquico, el IMC, la dieta o la actividad física (Seet *et al.*, 2011; Halliwell, 2012; Tumova *et al.*, 2013; Bengesser *et al.*, 2015).

En este trabajo tampoco se tuvo en cuenta la variabilidad genética de los individuos. Por ejemplo, existe una asociación entre los distintos polimorfismos de la enzima antioxidante SOD2 y los distintos trastornos psiquiátricos (de Carvalho y Mesquita, 2013) y es conocido que determinados polimorfismos genéticos de enzimas antioxidantes pueden asociarse con un deterioro del funcionamiento cognitivo (Salminen y Paul, 2014).

6.7. Futuras líneas de investigación

Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que el estrés oxidativo juega un papel en la depresión y en el trastorno bipolar. Sin embargo, las alteraciones encontradas no parecen ser específicas de cada uno de estos trastornos, como ocurre también con los distintos marcadores de inflamación (Wang y Miller, 2017). Los resultados tampoco parecen específicos del viraje afectivo dentro del trastorno bipolar (a excepción del ácido úrico). Las alteraciones más bien parecen estar influídas por la intensidad de la psicopatología afectiva, aunque la similitud al comparar con otros metaanálisis también permiten especular sobre la falta de especificidad entre los trastornos psicóticos y los afectivos en relación a al funcionamiento oxidativo (Flatow *et al.*, 2013).

Sí parece existir una relación entre el ácido úrico y el trastorno bipolar, más concretamente durante los episodios de manía. Este hecho es importante por varios motivos. Primero, porque el aumento de ácido úrico es un marcador de riesgo cardiovascular (Grassi *et al.*, 2013); en segundo lugar, porque el ácido urico puede emplearse como biomarcador del trastorno bipolar (Bartoli *et al.*, 2017 a); en tercer lugar, esta asociación permite plantear nuevas dianas terapéuticas y estudiar el uso de moduladores del ciclo de las purinas durante la fase maníacas del trastorno bipolar, aunque los resultados encontrados hasta la fecha han sido contradictorios (Machado-Vieira *et al.*, 2009; Weiser *et al.*, 2014; Ortiz *et al.*, 2015; Bartoli *et al.*, 2017 b), o bien el uso del mismo el ácido úrico como neuroprotector durante los episodios del trastorno bipolar. Se ha demostrado que el ácido úrico es potente antioxidante, con capacidad de impedir el empeoramiento neurológico tras un episodio isquémico (Chamorro *et al.*, 2014; Amaro *et al.*, 2016).

Por último, es necesario descifrar las distintas vías de regulación del estrés oxidativo y conseguir identificar nuevas dianas de intervención para prevenir y tratar las distintas enfermedades mentales graves. Las futuras investigaciones también deben profundizar en el mecanismo de acción de los actuales psicofarmacos, más allá de la hipótesis de la serotonina y de la dopamina, ya que se ha demostrado que juegan un papel fundamental en la regulación y mantenimiento del equilibrio oxidativo (Maes *et al.*, 1995b; Dodd *et al.*, 2013).

Los futuros estudios deben considerar varios puntos para conseguir una muestra más homogénea. Los ya citados factores de confusión y la adecuada categorización de la muestra según la fase de la enfermedad, la severidad, la duración y el distinto tratamiento farmacológico y/psicoterapéutico [que también ha demostrado capacidad para normalizar el estado oxidativo en pacientes con depresión (Kaufmann *et al.*, 2015)]. El estudio del tamaño muestral es otro punto importante a tener en cuenta, pues la muestra debe ser suficientemente grande para ser representativa de la población estudiada. Y por último, los futuros estudios deben incluir los distintos marcadores de estrés oxidativo y antioxidantes en suero plasma y hematíes simultáneamente, debido a que probablemente no hay un solo biomarcador de estrés oxidativo y a la presencia de los diversos marcadores también en individuos sanos (Halliwell y Whiteman, 2005).

VII. CONCLUSIONES

VII. CONCLUSIONES

Primera. Queda confirmado que en la depresión y en el trastorno bipolar hay un estado oxidativo que queda reflejado por el aumento de los productos de daño oxidativo de los lípidos y las alteraciones inespecíficas de los antioxidantes.

Segunda. Dentro del trastorno bipolar, la fase de manía sin tratamiento farmacológico se acompaña de un descenso de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa y un aumento de la actividad de la enzima superóxido dismutasa.

Tercera. Queda confirmado que en la fase maníaca del trastorno bipolar hay un aumento de la concentración plasmática de ácido úrico, que podría ser un biomarcador de manía en trastorno bipolar.

Cuarta. El tratamiento con antidepresivos en los pacientes con depresión va seguido de la normalización de algunas de las alteraciones encontradas en estos pacientes (cambio que no se ha podido delucidar en el conjunto de los pacientes afectos de trastorno bipolar tras el tratamiento con estabilizadores o antipsicóticos).

Quinta. No hay diferencias entre la depresión unipolar y la depresión bipolar en cuanto a los parámetros de estrés oxidativo.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Abdalla DS, Monteiro HP, Oliveira JA, Bechara EJ. Activities of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in schizophrenic and manic-depressive patients. *Clin Chem* 1986;32(5):805-807

Abraira V. Revisiones sistemáticas y metaanálisis. *Semergen*. 2003;29:183-185.

Agarwal A, Agarwal M, Garg K, Dalal PK, Trivedi JK, Srivastava JS. Metabolic syndrome and central obesity in depression: A cross-sectional study. *Indian J Psychiatry* 2016;58(3):281-286

Aguiar AS, Jr, Speck AE, Prediger RD, Kapczinski F, Pinho RA. Downhill training upregulates mice hippocampal and striatal brain-derived neurotrophic factor levels. *J Neural Transm* 2008;115: 1251–1255

Aksenov MY, Aksenova MV, Carney JM, Butterfield DA. Oxidative modification of glutamine synthetase by amyloid beta peptide. *Free Radic Res* 1997;27(3):267-281

Albarracin SL, Stab B, Casas Z, Sutachan JJ, Samudio I, Gonzalez J, Gonzalo L, Capani F, Morales L, Barreto GE. Effects of natural antioxidants in neurodegenerative disease. *Nutr Neurosci* 2012;15(1):1-9

Albelda SM, Smith CW, Ward PA. Adhesion molecules and inflammatory injury. *FASEB J* 1994;8(8):504-512

Amani R, Saeidi S, Nazari Z, Nematpour S. Correlation between dietary zinc intakes and its serum levels with depression scales in young female students. *Biol Trace Elem Res* 2010;137(2):150-158

Amare AT, Schubert KO, Klingler-Hoffmann M, Cohen-Woods S, Baune BT. The genetic overlap between mood disorders and cardiometabolic diseases: a

systematic review of genome wide and candidate gene studies. *Transl Psychiatry* 2017;7(1):e1007

Amaro S, Laredo C, Renú A, Llull L, Rudilosso S, Obach V, Urra X, Planas AM, Chamorro Á; URICO-ICTUS Investigators. Uric Acid Therapy Prevents Early Ischemic Stroke Progression: A Tertiary Analysis of the URICO-ICTUS Trial (Efficacy Study of Combined Treatment With Uric Acid and r-tPA in Acute Ischemic Stroke). *Stroke* 2016;47(11):2874-2876

Ambrosi E, Arciniegas DB, Madan A, Curtis KN, Patriquin MA, Jorge RE1, Spalletta G1, Fowler JC, Frueh BC, Salas R. Insula and amygdala resting-state functional connectivity differentiate bipolar from unipolar depression. *Acta Psychiatr Scand* 2017 [Epub ahead of print]

Amminger GP1, McGorry PD. Update on ω -3 polyunsaturated fatty acids in early-stage psychotic disorders. *Neuropsychopharmacology* 2012;37(1):309-310

Anderson G, Maes M. Bipolar Disorder: Role of Immune-Inflammatory Cytokines, Oxidative and Nitrosative Stress and Tryptophan Catabolites. *Curr Psychiatry Rep* (2015) 17: 8

Andreazza AC, Cassini C, Rosa AR, Leite MC, de Almeida LM, Nardin P, Cunha AB, Ceresér KM, Santin A, Gottfried C, Salvador M, Kapczinski F, Gonçalves CA. Serum S100B and antioxidant enzymes in bipolar patients. *J Psychiatr Res* 2007;41(6):523-529.

Andreazza AC, Kauer-Sant'anna M, Frey BN, Bond DJ, Kapczinski F, Young LT, Yatham LN. Oxidative stress markers in bipolar disorder: a meta-analysis. *J Affect Disord* 2008;111(2-3):135-144

Andreazza AC, Kapczinski F, Kauer-Sant'Anna M, Walz JC, Bond DJ, Gonçalves CA, Young LT, Yatham LN. 3-Nitrotyrosine and glutathione antioxidant system in patients in the early and late stages of bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci*

2009;34(4):263-271

Andreyev AY1, Kushnareva YE, Murphy AN, Starkov AA. Mitochondrial ROS Metabolism: 10 Years Later. *Biochemistry (Mosc)* 2015;80(5):517-531

Assies J, Mocking RJT, Lok A, Ruhe HG, Pouwer F, Schene AH. Effects of oxidative stress on fatty acid- and one-carbon-metabolism in psychiatric and cardiovascular disease comorbidity. *Acta Psychiatr Scand* 2014; 130: 163–180

Atkinson AJ, Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ, Hoth DF, Biomarkers definitions working group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001;69:89-95

Aydemir Ö, Çubukçuoğlu Z, Erdin S, Taş C, Onur E, Berk M. Oxidative stress markers, cognitive functions, and psychosocial functioning in bipolar disorder: an empirical cross-sectional study. *Rev Bras Psiquiatr* 2014;36(4):293-297

Babior BM. NADPH oxidase: an update. *Blood* 1999;93(5):1464-1476

Baek D, Park Y. Association between erythrocyte n-3 polyunsaturated fatty acids and biomarkers of inflammation and oxidative stress in patients with and without depression. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2013;89(5):291-296

Bai YM, Su TP, Li CT, Tsai SJ, Chen MH, Tu PC, Chiou WF. Comparison of pro-inflammatory cytokines among patients with bipolar disorder and unipolar depression and normal controls. *Bipolar Disord* 2015;17(3):269-277

Bajpai A, Verma AK, Srivastava M, Srivastava R. Oxidative stress and major depression. *J Clin Diagn Res* 2014;8(12):CC04-CC07

Ballesteros J. Introducción a las revisiones sistemáticas y metaanálisis. *Rev Cub Farmacia* 2011; 45(suplem No 2):1-10

Banerjee U, Dasgupta A, Rout JK, Singh OP. Effects of lithium therapy on Na⁺-K⁺-ATPase activity and lipid peroxidation in bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2012;37(1):56-61

Barrigón ML, Diaz FJ, Gurpegui M, Ferrin M, Salcedo MD, Moreno-Granados J, Cervilla JA, Ruiz-Veguilla M. Childhood trauma as a risk factor for psychosis: A sib-pair study. *J Psychiatr Res* 2015;70:130-136

Barja G. Aging in vertebrates, and the effect of caloric restriction: a mitochondrial free radical production-DNA damage mechanism?. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2004;79(2):235-251

Bartoli F, Crocamo C, Mazza MG, Clerici M, Carrà G. Uric acid levels in subjects with bipolar disorder: A comparative meta-analysis. *J Psychiatr Res* 2016;81:133-139

Bartoli F a, Carrà G, Clerici M. Update on bipolar disorder biomarker candidates: what about uric acid/adenosine hypothesis?. *Expert Rev Mol Diagn* 2017;17(2):105-106

Bartoli F b, Crocamo C, Clerici M, Carrà G. Allopurinol as add-on treatment for mania symptoms in bipolar disorder: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Psychiatry* 2017;210(1):10-15

Bazan NG, Marcheselli VL, Cole-Edwards K. Brain response to injury and neurodegeneration: endogenous neuroprotective signaling. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1053(1):137-147

Bechdolf A, Wood SJ, Nelson B, Velakoulis D, Yücel M, Takahashi T, Yung AR, Berk M, Wong MT, Pantelis C, McGorry PD. Amygdala and insula volumes prior to illness onset in bipolar disorder: a magnetic resonance imaging study. *Psychiatry Res* 2012;201(1):34-39

Bendich A. Antioxidant vitamins and their functions in immune responses. *Adv Exp Med Biol* 1990;262:35-55

Bengesser SA, Lackner N, Birner A, Fellendorf FT, Platzer M, Mitteregger A, Unterweger R, Reininghaus B, Mangge H, Wallner-Liebmann SJ, Zelzer S, Fuchs D, McIntyre RS, Kapfhammer HP, Reininghaus EZ. Peripheral markers of oxidative stress and antioxidative defense in euthymia of bipolar disorder--Gender and obesity effects. *J Affect Disord* 2015;172:367-374

Beral V. "The practice of meta-analysis": discussion. Meta-analysis of observational studies: a case study of work in progress. *J Clin Epidemiol* 1995; 48: 165-6

Berk M, Kapczinski F, Andreazza AC, Dean OM, Giorlando F, Maes M, Yücel M, Gama CS, Dodd S, Dean B, Magalhães PV, Amminger P, McGorry P, Malhi GS. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neurosci Biobehav Rev* 2011;35(3):804-808

Berk M, Berk L, Dodd S, Cotton S, Macneil C, Daglas R, Conus P, Bechdolf A, Moylan S, Malhi GS. Stage managing bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2014;16(5):471-477

Bergendi L, Benes L, Duracková Z, Ferencik M. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sci* 1999;65(18-19):1865-1874.

Bergink V, Larsen JT, Hillegers MH, Dahl SK, Stevens H, Mortensen PB, Petersen L, Munk-Olsen T. Childhood adverse life events and parental psychopathology as risk factors for bipolar disorder. *Transl Psychiatry* 2016;6(10):e929

Berger GE, Wood S, McGorry PD. Incipient neurovulnerability and neuroprotection in early psychosis. *Psychopharmacol Bull* 2003 Spring;37(2):79-101

Bessette KL, Nave AM, Caprihan A, Stevens MC. White matter abnormalities in adolescents with major depressive disorder. *Brain Imaging Behav* 2014;8(4):531-541

Bierhaus A, Humpert PM, Morcos M, Wendt T, Chavakis T, Arnold B, Stern DM, Nawroth PP. Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *J Mol Med (Berl)* 2005;83(11):876-886

Bilici M, Efe H, Köroğlu MA, Uydu HA, Bekaroğlu M, Değer O. Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression: alterations by antidepressant treatments. *J Affect Disord* 2001 Apr;64(1):43-51.

Black CN, Bot M, Scheffer PG, Cuijpers P, Penninx BW. Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology* 2015;51:164-175

Bora E, Yücel M, Pantelis C. Cognitive functioning in schizophrenia, schizoaffective disorder and affective psychoses: meta-analytic study. *Br J Psychiatry* 2009;195(6):475-482

Bora E, Fornito A, Yücel M, Pantelis C. Voxelwise meta-analysis of gray matter abnormalities in bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 2010 Jun 1;67(11):1097-1105

Bora E, Fornito A, Pantelis C, Yücel M. Gray matter abnormalities in Major Depressive Disorder: a meta-analysis of voxel based morphometry studies. *J Affect Disord* 2012 Apr;138(1-2):9-18

Bora E, Harrison BJ, Davey CG, Yücel M, Pantelis C. Meta-analysis of volumetric abnormalities in cortico-striatal-pallidal-thalamic circuits in major depressive disorder. *Psychol Med* 2012 Apr;42(4):671-681

Bortolaschi CC, Vargas HO, Souza-Nogueira A, Barbosa DS, Moreira EG, Nunes SO, Berk M, Dodd S5, Maes M. Lowered plasma paraoxonase (PON)1 activity is a trait marker of major depression and PON1 Q192R gene polymorphism-smoking interactions differentially predict the odds of major depression and bipolar disorder. *J Affect Disord* 2014;159:23-30.

Bortolaschi CC, Vargas HO, Vargas Nunes SO, de Melo LG, de Castro MR, Moreira EG, Dodd S, Barbosa DS, Berk M, Maes M. Factors influencing insulin resistance in relation to atherogenicity in mood disorders, the metabolic syndrome and tobacco use disorder. *J Affect Disord* 2015;179:148-155

Bortolaschi CC, Vargas HO, Souza-Nogueira A, Barbosa DS, Moreira EG, Nunes SO, Berk M, Dodd S, Maes M. Lowered plasma paraoxonase (PON)1 activity is a trait marker of major depression and PON1 Q192R gene polymorphism-smoking interactions differentially predict the odds of major depression and bipolar disorder. *J Affect Disord* 2014;159:23-30

Bošković M, Vovk T, Kores Plesničar B, Grabnar I. Oxidative stress in schizophrenia. *Curr Neuropsychopharmacol* 2011;9(2):301-312

Boveris A. La evolución del concepto de radicales libres en biología y medicina. Discurso de ingreso en la Academia Iberoamericana de Farmacia. 2005 *Ars Pharm* 2005;46(1):85-95

Brannan TS, Maker HS, Raes IP. Regional distribution of catalase in the adult rat brain. *J Neurochem* 1981;36(1):307-309

Brigelius-Flohé R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic Biol Med* 1999;27(9-10):951-965

Brown NC, Andreazza AC, Young LT. An updated meta-analysis of oxidative stress markers in bipolar disorder. *Psychiatry Res* 2014;218(1-2):61-68

Cadenas E, Sies H. The lag phase. *Free Radic Res* 1998;28(6):601-609

Calder PC. Mechanisms of action of (n-3) fatty acids. *J Nutr* 2012 Mar;142(3):592S-599S

Camiletti-Moirón D, Aparicio VA, Aranda P, Radak Z. Does exercise reduce brain oxidative stress? A systematic review. *Scand J Med Sci Sports* 2013;23(4):e202-e212

Camkurt MA, Fındıklı E, İzci F, Kurutaş EB, Tuman TC. Evaluation of malondialdehyde, superoxide dismutase and catalase activity and their diagnostic value in drug naïve, first episode, non-smoker major depression patients and healthy controls. *Psychiatry Res* 2016;238:81-85

Campos C, Guzmán R, López-Fernández E, Casado Á. Urinary biomarkers of oxidative/nitrosative stress in healthy smokers. *Inhal Toxicol* 2011;23(3):148-156

Cardoso de Almeida JR, Phillips ML. Distinguishing between unipolar depression and bipolar depression: current and future clinical and neuroimaging perspectives. *Biol Psychiatry* 2013; 73(2): 111-118

Carrà G, Bartoli F, Carretta D, Crocamo C, Bozzetti A, Clerici M, Bebbington PE. The prevalence of metabolic syndrome in people with severe mental illness: a mediation analysis. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 2014;49(11):1739-1746

Castilla-Cortázar I, Castilla A, Gurpegui M. Opioid peptides and immunodysfunction in patients with major depression and anxiety disorders. *J Physiol Biochem* 1998;54(4):203-215

Ceylan M, Sener S, Bayraktar AC, Kavutcu M. Oxidative imbalance in child and adolescent patients with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2010;34(8):1491-1494

Chakraborty H, Sen P, Sur A, Chatterjee U, Chakrabarti S. Age-related oxidative inactivation of Na^+ , K^+ -ATPase in rat brain crude synaptosomes. *Exp Gerontol* 2003; 38(6):705-710

Chamorro A, Amaro S, Castellanos M, Segura T, Arenillas J, Martí-Fàbregas J, Gállego J, Krupinski J, Gomis M, Cánovas D, Carné X, Deulofeu R, Román LS, Oleaga L, Torres F, Planas AM; URICO-ICTUS Investigators. Safety and efficacy of uric acid in patients with acute stroke (URICO-ICTUS): a randomised, double-blind phase 2b/3 trial. *Lancet Neurol*. 2014;13(5):453-460

Chapple IL. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J Clin Periodontol* 1997;24(5):287-296

Chaudhari K, Khanzode S, Khanzode S, Dakhale G, Saoji A, Sarode S. Clinical correlation of alteration of endogenous antioxidant-uric acid level in major depressive disorder. *Indian J Clin Biochem* 2010;25(1):77-81

Cherlyn SY, Woon PS, Liu JJ, Ong WY, Tsai GC, Sim K. Genetic association studies of glutamate, GABA and related genes in schizophrenia and bipolar disorder: a decade of advance. *Neurosci Biobehav Rev* 2010;34(6):958-977

Chiu CC, Chen CH, Huang MC, Chen PY, Tsai CJ, Lu ML. The relationship between serum uric acid concentration and metabolic syndrome in patients with schizophrenia or schizoaffective disorder. *J Clin Psychopharmacol* 2012;32(5):585-592.

Chowdhury MI, Hasan M, Islam MS, Sarwar MS, Amin MN, Uddin SM, Rahaman MZ, Banik S, Hussain MS, Yokota K, Hasnat A. Elevated serum MDA and depleted non-enzymatic antioxidants, macro-minerals and trace elements are associated with bipolar disorder. *J Trace Elem Med Biol* 2017;39:162-168

Chrapko W, Jurasz P, Radomski MW, Archer SL, Newman SC, Baker G, Lara N, Le Mellédo JM. Alteration of decreased plasma NO metabolites and platelet NO synthase activity by paroxetine in depressed patients. *Neuropsychopharmacology* 2006;31(6):1286-1293

Christmann M, Tomicic MT, Roos WP, Kaina B. Mechanisms of human DNA repair: an update. *Toxicology* 2003;193(1-2):3-34

Christmann M, Verbeek B, Roos WP, Kaina B. O(6)-Methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) in normal tissues and tumors: enzyme activity, promoter methylation and immunohistochemistry. *Biochim Biophys Acta* 2011;1816(2):179-190

Conus P, Macneil C, McGorry PD. Public health significance of bipolar disorder: implications for early intervention and prevention. *Bipolar Disord* 2014;16(5):548-556

Cook DJ, Guyatt GH, Ryan G, Clifton J, Buckingham L, Willan A. Should unpublished data be included in meta-analysis? Current convictions and controversies. *JAMA* 1993;269:2749-2753

Cornejo JN. Una mujer en la ciencia argentina: Rebeca Gerschman. *Mora (B. Aires)* 2008;14(2):136-143

Correll CU, Detraux J, De Lepeleire J, De Hert M. Effects of antipsychotics, antidepressants and mood stabilizers on risk for physical diseases in people with schizophrenia, depression and bipolar disorder. *World Psychiatry* 2015; 14: 119-136

Correll CU, Solmi M, Veronese N, Bortolato B, Rosson S, Santonastaso P, Thapa-Chhetri N, Fornaro M, Gallicchio D, Collantoni E, Pigato G, Favaro A, Monaco F, Kohler C, Vancampfort D, Ward PB, Gaughran F, Carvalho AF, Stubbs B. Prevalence, incidence and mortality from cardiovascular disease in patients with pooled and specific severe mental illness: a large-scale meta-analysis of 3,211,768 patients and 113,383,368 controls. *World Psychiatry* 2017;16(2):163-180

Cotgreave IA, Moldéus P, Orrenius S. Host biochemical defense mechanisms against prooxidants. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1988;28:189-212

Cousins DA, Butts K, Young AH. The role of dopamine in bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2009;11(8):787-806

Andrew A. Crawford, Sarah Lewis, David Nutt, Tim J. Peters, Philip Cowen, Michael C. O'Donovan, Nicola Wiles, Glyn Lewis. Adverse effects from antidepressant treatment: randomised controlled trial of 601 depressed individuals. *Psychopharmacology (Berl)* 2014;231(15):2921-2931

Crayton JW, Walsh WJ. Elevated serum copper levels in women with a history of post-partum depression. *J Trace Elem Med Biol* 2007;21(1):17-21

Cudney LE, Sassi RB, Behr GA, Streiner DL, Minuzzi L, Moreira JC, Frey BN. Alterations in circadian rhythms are associated with increased lipid peroxidation in females with bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 2014;17(5):715-722

Cuellar AK, Johnson SL, Winters R. Distinctions between bipolar and unipolar depression. *Clin Psychol Rev* 2005;25(3):307-339

Gurpegui M, Casanova J, Cervera S. Clinical and neuroendocrine features of endogenous unipolar and bipolar depression. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 1985; 320:30-37

Danese A, Moffitt TE, Pariante CM, Ambler A, Poulton R, Caspi A. Elevated inflammation levels in depressed adults with a history of childhood maltreatment. *Arch Gen Psychiatry* 2008;65(4):409-415

De Berardis D, Conti CM, Campanella D, Carano A, Di Giuseppe B, Valchera A, Tancredi L, Serroni N, Pizzorno AM, Fulcheri M, Gambi F, Sepede G, Moschetta FS, Salerno RM, Ferro FM. Evaluation of plasma antioxidant levels during different phases of illness in adult patients with bipolar disorder. *J Biol Regul Homeost Agents* 2008;22(3):195-200

de Carvalho MD, De Mesquita JF. Structural modeling and in silico analysis of human superoxide dismutase 2. *PLoS One* 2013 Jun 13;8(6):e65558

De Hert M, Schreurs V, Vancampfort D, van Winkel R. Metabolic syndrome in people with schizophrenia: A review. *World Psychiatry* 2009;8:15–22

Sánchez Villegas y Martínez-González. Metaanálisis. En : De Irala Estévez J, Martínez-González MA, Seguí-Gómez M. Epidemiología aplicada. First edition. Barcelona: Ariel. 2004; pp. 427-462

Sánchez Villegas A, Delgado-Rodríguez M, Alonso A, Schlatter J, Lahortiga F, Serra Majem L, Martínez-González MA. Association of the Mediterranean dietary pattern with the incidence of depression: the Seguimiento Universidad de Navarra/University of Navarra follow-up (SUN) cohort. *Arch Gen Psychiatry* 2009;66(10):1090-1098

de Sousa RT, Zarate CA Jr, Zanetti MV, Costa AC, Talib LL, Gattaz WF, Machado-Vieira R. Oxidative stress in early stage Bipolar Disorder and the association with response to lithium. *J Psychiatr Res* 2014;50:36-41

Dervic K, Garcia-Amador M, Sudol K, Freed P, Brent DA, Mann JJ, Harkavy-Friedman JM, Oquendo MA. Bipolar I and II versus unipolar depression: clinical differences and impulsivity/aggression traits. *Eur Psychiatry* 2015;30(1):106-113

Di Dalmazi G, Hirshberg J, Lyle D, Freij JB, Caturegli P. Reactive oxygen species in organ-specific autoimmunity. *Auto Immun Highlights* 2016;7(1):11

Diler RS, Pan LA, Segreti A, Ladouceur CD, Forbes E, Cella SR, Almeida JR, Birmaher B, Axelson DA, Phillips ML. Differential Anterior Cingulate Activity during Response Inhibition in Depressed Adolescents with Bipolar and Unipolar Major Depressive Disorder. *J Can Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2014;23(1):10-9.

Dodd S, Maes M, Anderson G, Dean OM, Moylan S, Berk M. Putative neuroprotective agents in neuropsychiatric disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2013;42:135-145

Dos Santos LM, da Silva TM, Azambuja JH, Ramos PT, Oliveira PS, da Silveira EF, Pedra NS, Galdino K, do Couto CA, Soares MS, Tavares RG, Spanevello RM, Stefanello FM, Braganhol E. Methionine and methionine sulfoxide treatment induces M1/classical macrophage polarization and modulates oxidative stress and purinergic signaling parameters. *Mol Cell Biochem* 2017;424(1-2):69-78

Dose J, Huebbe P, Nebel A, Rimbach G. APOE genotype and stress response - a mini review. *Lipids Health Dis* 2016;15:121

Dutta A, Yang C, Sengupta S, Mitra S, Hegde ML. New Paradigms in the Repair of Oxidative Damage in Human Genome: Mechanisms ensuring repair of mutagenic base lesions during replication and involvement of accessory proteins. *Cell Mol Life Sci* 2015;72(9):1679–1698

Egger M, Zellweger-Zähner T, Schneider M, Junker C, Lengeler C, Antes G. Language bias in randomised controlled trials published in English and German. *Lancet* 1997; 350:326-329

Engelmann B. Plasmalogens: targets for oxidants and major lipophilic antioxidants. *Biochem Soc Trans* 2004;32(Pt 1):147-150

Espejel S, Franco S, Rodriguez-Perales S, Bouffler SD, Cigudosa JC, Blasco MA. Mammalian Ku86 mediates chromosomal fusions and apoptosis caused by critically short telomeres. *EMBO J* 2002;21(9):2207-2219

Esterbauer H, Zollner H. Methods for determination of aldehydic lipid peroxidation products. *Free Radic Biol Med* 1989;7(2):197-203

Eysenbach G. Research questions for systematic reviews must be unambiguous from protocol stage. *BMJ* 1999;319:1265-1266

Ezzaher A, Haj Mouhamed D, Mechri A, Neffati F, Douki W, Gaha L, Najjar MF. TBARS and non-enzymatic antioxidant parameters in Tunisian bipolar I patients. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 2012; 27:315-324

Fagiolini A, Forgione R, Maccari M, Cuomo A, Morana B, Dell'Osso MC, Pellegrini F, Rossi A. Prevalence, chronicity, burden and borders of bipolar disorder. *J Affect Disord* 2013;148(2-3):161-169

Fan F, Liu C, Tavaré S, Arnheim N. Polymorphisms in the human DNA repair gene XPF. *Mutat Res* 1999;406(2-4):115-120

Fathy H, Bayoumy HAH, Mawla SMA, Al-adrousy M, Al-Hanafi H. Assessment of serum level of total glutathione in a sample of schizophrenic patients versus bipolar patients. *MECPsych* 2015;22(4):198-202

Ferrari AJ, Charlson FJ, Norman RE, Patten SB, Freedman G, Murray CJ, Vos T, Whiteford HA. Burden of depressive disorders by country, sex, age, and year: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *PLoS Med* 2013;10(11):e1001547.

Ferreira González I, Urrutia G, Alonso-Coello P. Revisiones sistemáticas y metaanálisis: bases conceptuales e interpretación. *Rev Esp Cardiol* 2011;64(8):688-696

Flatow J, Buckley P, Miller BJ. Meta-analysis of oxidative stress in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2013;74(6):400-409

Fornito A, Malhi GS, Lagopoulos J, Ivanovski B, Wood SJ, Velakoulis D, Saling MM, McGorry PD, Pantelis C, Yücel M. In vivo evidence for early neurodevelopmental

anomaly of the anterior cingulate cortex in bipolar disorder. *Acta Psychiatr Scand* 2007;116(6):467-472

Forty L1, Smith D, Jones L, Jones I, Caesar S, Cooper C, Fraser C, Gordon-Smith K, Hyde S, Farmer A, McGuffin P, Craddock N. Clinical differences between bipolar and unipolar depression. *Br J Psychiatry* 2008;192(5):388-389

Frey BN, Andreazza AC, Houenou J, Jamain S, Goldstein BI, Frye MA, Leboyer M, Berk M, Malhi GS, Lopez-Jaramillo C, Taylor VH, Dodd S, Frangou S, Hall GB, Fernandes BS, Kauer-Sant'Anna M, Yatham LN, Kapczinski F, Young LT. Biomarkers in bipolar disorder: a positional paper from the International Society for Bipolar Disorders Biomarkers Task Force. *Aust N Z J Psychiatry* 2013;47(4):321-332

Fullerton JM, Tiwari Y, Agahi G, Heath A, Berk M, Mitchell PB, Schofield PR. Assessing oxidative pathway genes as risk factors for bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2010;12(5):550-556

Galecki P, Szemraj J, Bieńkiewicz M, Florkowski A, Gałęcka E. Lipid peroxidation and antioxidant protection in patients during acute depressive episodes and in remission after fluoxetine treatment. *Pharmacol Rep* 2009;61(3):436-447

Gałęcki P, Maes M, Florkowski A, Lewiński A, Gałęcka E, Bieńkiewicz M, Szemraj J. An inducible nitric oxide synthase polymorphism is associated with the risk of recurrent depressive disorder. *Neurosci Lett* 2010;486(3):184-187

Gałęcki P, Szemraj J, Bieńkiewicz M, Florkowski A, Gałęcka E. Lipid peroxidation and antioxidant protection in patients during acute depressive episodes and in remission after fluoxetine treatment. *Pharmacol Rep* 2009;61(3):436-447

Garcia-Portilla MP, Saiz PA, Bascaran MT, Martínez A S, Benabarre A, Sierra P, Torres P, Montes JM, Bousoño M, Bobes J; General Health Status in Bipolar

Disorder Collaborative Group. Cardiovascular risk in patients with bipolar disorder. *J Affect Disord* 2009;115(3):302-308

García Triana BE, Saldaña Bernabeu A, García Piñeiro JC, Bastarrechea Milián M. NADPH-Oxidasa fagocítica: componentes, ensamblaje y mecanismo de acción. *Rev Cubana Invest Biomed* 2001;20(1):59-63

Gergerlioglu HS, Savas HA, Bulbul F, Selek S, Uz E, Yumru M. Changes in nitric oxide level and superoxide dismutase activity during antimanic treatment. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007;31(3):697-702. Erratum in: *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007;31(6):1345

Gerschman R, Gilbert D, Daniel, Nye S, Dwyer P, Fenn WO. Oxygen poisoning and X-irradiation: a mechanism in common. *Science* 1954;119(3097): 623-626

Gigante AD, Young LT, Yatham LN, Andreazza AC, Nery FG, Grinberg LT, Heinsen H, Lafer B. Morphometric post-mortem studies in bipolar disorder: possible association with oxidative stress and apoptosis. *Int J Neuropsychopharmacol* 2011 Sep;14(8):1075-1089

Giorgio M, Migliaccio E, Orsini F, Paolucci D, Moroni M, Contursi C, Pelliccia G, Luzi L, Minucci S, Marcaccio M, Pinton P, Rizzuto R, Bernardi P, Paolucci F, Pelicci PG. Electron transfer between cytochrome c and p66Shc generates reactive oxygen species that trigger mitochondrial apoptosis. *Cell* 2005;122(2):221-233

Glass GV. Primary, secondary, and meta-analysis of research. *Educational Researcher* 1976;10:3-8

Goldstein BI, Kemp DE, Soczynska JK, McIntyre RS. Inflammation and the phenomenology, pathophysiology, comorbidity, and treatment of bipolar disorder: a systematic review of the literature. *J Clin Psychiatry* 2009;70(8):1078-1090

Gómez J, Artés M, Segú JL. Importancia del metaanálisis como técnica cuantitativa de revisión de estudios en ciencias de la salud. *Med Clin (Barc)* 1989;93:295-297

Goodwin GM, Haddad PM, Ferrier IN, Aronson JK, Barnes THR, Cipriani A, Coghill DR, Fazel S, Geddes JR, Grunze H, Holmes EA, Howes O, Hudson S, Hunt N, Jones I, Macmillan IC, McAllister-Williams H, Miklowitz DM, Morriss R, Munafò M, Paton C, Saharkian BJ, Saunders KEA, Sinclair JMA, Taylor D, Vieta E, Young AH. Evidence-based guidelines for treating bipolar disorder: revised third edition Recommendations from the British Association for Psychopharmacology. *J Psychopharmacol* 2016; 30(6): 495-553

Grassi D, Ferri L, Desideri G, Di Giosia P, Cheli P, Del Pinto R, Properzi G, Ferri C. Chronic hyperuricemia, uric acid deposit and cardiovascular risk. *Curr Pharm Des* 2013;19(13):2432-2438

Graziewicz MA, Day BJ, Copeland WC. The mitochondrial DNA polymerase as a target of oxidative damage. *Nucleic Acids Res* 2002;30(13):2817-2824

Grieger JA, Nowson CA, Ackland LM. Nutritional and functional status indicators in residents of a long-term care facility. *J Nutr Elder* 2009;28(1):47-60

Grignon S, Chianetta JM. Assessment of malondialdehyde levels in schizophrenia: a meta-analysis and some methodological considerations. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007;31(2):365-369

Grootveld M, Halliwell B. Aromatic hydroxylation as a potential measure of hydroxyl-radical formation in vivo. Identification of hydroxylated derivatives of salicylate in human body fluids. *Biochem J* 1986;237(2):499-504

Gubert C, Stertz L, Pfaffenseller B, Panizzutti BS, Rezin GT, Massuda R, Streck EL, Gama CS, Kapczinski F, Kunz M. Mitochondrial activity and oxidative stress markers in peripheral blood mononuclear cells of patients with bipolar disorder, schizophrenia, and healthy subjects. *J Psychiatr Res* 2013;47(10):1396-1402

Gültekin BK, Kesebir S, Kabak SG, Ergün FF, Tatlıdil Yaylaci E. Are Uric Acid Levels Different from Healthy Subjects in Bipolar Affective Disorder and Schizophrenia?: Relationship Between Clinical Improvement and Episode Severity in Male Patients. *Archives of Neuropsychiatry* 2014; 51: 229-232

Günther J, Schulte K, Wenzel D, Malinowska B, Schlicker E. Prostaglandins of the E series inhibit monoamine release via EP3 receptors: proof with the competitive EP3 receptor antagonist L-826,266. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2010;381(1):21-31

Günther J, Vogt N, Hampel K, Bikker R, Page S, Müller B, Kandemir J, Kracht M, Dittrich-Breiholz O, Huber R, Brand K. Identification of two forms of TNF tolerance in human monocytes: differential inhibition of NF- κ B/AP-1 and PP1-associated signaling. *J Immunol* 2014;192(7):3143-3155

Gutiérrez B, Rosa A, Papiol S, Arrufat FJ, Catalán R, Salgado P, Peralta V, Cuesta MJ, Fañanás L. Identification of two risk haplotypes for schizophrenia and bipolar disorder in the synaptic vesicle monoamine transporter gene (SVMT). *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2007;144B(4):502-507

Haapakoski R, Mathieu J, Ebmeier KP, Alenius H, Kivimäki M. Cumulative meta-analysis of interleukins 6 and 1 β , tumour necrosis factor α and C-reactive protein in patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun* 2015;49:206-215

Haddad JJ. Glutathione depletion is associated with augmenting a proinflammatory signal: evidence for an antioxidant/pro-oxidant mechanism regulating cytokines in the alveolar epithelium. *Cytokines Cell Mol Ther* 2000;6(4):177–187

Hadziabdić MO, Bozikov V, Pavić E, Romić Z. The antioxidative protecting role of the Mediterranean diet. *Coll Antropol* 2012;36(4):1427-1434

Halliwell B. Vitamin C: poison, prophylactic or panacea? *Trends Biochem Sci* 1999;24(7):255-259

Halliwell B, Zhao K, Whiteman M. Nitric oxide and peroxynitrite. The ugly, the uglier and the not so good: a personal view of recent controversies. *Free Radic Res* 1999;31(6):651-669

Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol* 2004;142(2):231-255

Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Fourth edition. New York: Oxford. 2007

Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutr Rev* 2012;70(5):257-265

Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. *J Neurochem* 2006;97(6):1634-1658

Hampton MB, Fadeel B, Orrenius S. Redox regulation of the caspases during apoptosis. *Ann N Y Acad Sci* 1998;854:328-335

Handin RI, Karabin R, Boxer GJ. Enhancement of platelet function by superoxide anion. *J Clin Invest* 1977;59(5):959-965

Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956;11(3):298-300

Hayakawa M, Miyashita H, Sakamoto I, Kitagawa M, Tanaka H, Yasuda H, Karin M, Kikugawa K. Evidence that reactive oxygen species do not mediate NF-kappaB activation. *EMBO J* 2003;22(13):3356-3366

Heinrichs SC. Dietary omega-3 fatty acid supplementation for optimizing neuronal structure and function. *Mol Nutr Food Res* 2010;54(4):447-456

Herken H, Gurel A, Selek S, Armutcu F, Ozen ME, Bulut M, Kap O, Yumru M, Savas HA, Akyol O. Adenosine deaminase, nitric oxide, superoxide dismutase, and xanthine oxidase in patients with major depression: impact of antidepressant treatment. *Arch Med Res* 2007;38(2):247-252

Hitchon CA, El-Gabalawy HS. Oxidation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2004;6(6):265-278.

Hobbs AJ, Higgs A, Moncada S. Inhibition of nitric oxide synthase as a potential therapeutic target. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999;39:191-220

Howard LA, Miksys S, Hoffmann E, Mash D, Tyndale RF. Brain CYP2E1 is induced by nicotine and ethanol in rat and is higher in smokers and alcoholics. *Br J Pharmacol* 2003;138(7):1376-1386

Im E, Chung KC. Precise assembly and regulation of 26S proteasome and correlation between proteasome dysfunction and neurodegenerative diseases. *BMB Rep* 2016;49(9):459-473

Ishibashi T, Hayakawa H, Sekiguchi M. A novel mechanism for preventing mutations caused by oxidation of guanine nucleotides. *EMBO Rep* 2003;4(5):479-483

Jackson SH, Devadas S, Kwon J, Pinto LA, Williams MS. T cells express a phagocyte-type NADPH oxidase that is activated after T cell receptor stimulation. *Nat Immunol* 2004;5(8):818-827

Jiménez-Fernández S, Gurpegui M, Díaz-Atienza F, Pérez-Costillas L, Gerstenberg M, Correll CU. Oxidative stress and antioxidant parameters in patients with major depressive disorder compared to healthy controls before and after antidepressant

treatment: results from a meta-analysis. *J Clin Psychiatry* 2015;76(12):1658-1667

Joffe RT, Young LT, MacQueen GM. A two-illness model of bipolar disorder. *Bipolar Disord* 1999;1(1):25-30

Jordan W, Dobrowolny H, Bahn S, Bernstein HG, Brigadski T, Frodl T, Isermann B, Lessmann V, Pilz J, Rodenbeck A, Schiltz K, Schwedhelm E, Tumani H, Wiltfang J, Guest PC, Steiner J. Oxidative stress in drug-naïve first episode patients with schizophrenia and major depression: effects of disease acuity and potential confounders. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2016. [Epub ahead of print]

Kahl KG, Greggersen W, Schweiger U, Cordes J, Balijepalli C, Löscher C, et al. Prevalence of the metabolic syndrome in unipolar major depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2012;262:313–320

Kamata H, Honda S, Maeda S, Chang L, Hirata H, Karin M. Reactive oxygen species promote TNF α -induced death and sustained JNK activation by inhibiting MAP kinase phosphatases. *Cell* 2005;120(5):649-661

Kang SM, Beverly B, Tran AC, Brorson K, Schwartz RH, Lenardo MJ. Transactivation by AP-1 is a molecular target of T cell clonal anergy. *Science* 1992;257(5073):1143-1148

Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Teixeira AL, Magalhaes PV, Kauer-Sant'Anna M, Klamt F, Moreira JC, de Bittencourt Pasquali MA, Fries GR, Quevedo J, Gama CS, Post R. Peripheral biomarkers and illness activity in bipolar disorder. *J Psychiatr Res* 2011;45(2):156-161

Karin M, Liu Zg, Zandi E. AP-1 function and regulation. *Curr Opin Cell Biol* 1997;9(2):240-246

Kaufmann FN, Gazal M, Mondin TC, Cardoso TA, Quevedo LÁ, Souza LD, Jansen K, Braganhol E, Oses JP, Pinheiro RT, Kaster MP, da Silva RA, Ghisleni G. Cognitive

psychotherapy treatment decreases peripheral oxidative stress parameters associated with major depression disorder. *Biol Psychol* 2015;110:175-181

Kemp DE, Gao K, Chan PK, Ganocy SJ, Findling RL, Calabrese JR. Medical comorbidity in bipolar disorder: Relationship between illnesses of the endocrine/metabolic system and treatment outcome. *Bipolar Disord* 2010; 12:404–413

Kesebir S, Tatlıdil Yaylacı E, Süner O, Gültekin BK. Uric acid levels may be a biological marker for the differentiation of unipolar and bipolar disorder: the role of affective temperament. *J Affect Disord* 2014;165:131-134

Kessing LV, Andersen PK, Mortensen PB. Predictors of recurrence in affective disorder. A case register study. *J Affect Disord* 1998 May;49(2):101-108

Khairova R, Pawar R, Salvatore G, Juruena MF, de Sousa RT, Soeiro-de-Souza MG, Salvador M, Zarate CA, Gattaz WF, Machado-Vieira R. Effects of lithium on oxidative stress parameters in healthy subjects. *Mol Med Rep* 2012 Mar;5(3):680-682

Khanzode SD, Dakhale GN, Khanzode SS, Saoji A, Palasodkar R. Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors. *Redox Rep* 2003;8(6):365-370

Kikugawa K. Evidence that reactive oxygen species do not mediate NF- κ B activation. *EMBO J* 2003; 22(13): 3356–3366

Knipschild P. Some examples. *BMJ* 1994;309:719-721

Koekkoek WA, van Zanten AR. Antioxidant Vitamins and Trace Elements in Critical Illness. *Nutr Clin Pract* 2016;31(4):457-474

Koloverou E, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysoshoou C, Georgousopoulou EN, Grekas A, Christou A, Chatzigeorgiou M, Skoumas I, Tousoulis D, Stefanadis C; ATTICA Study Group. Adherence to Mediterranean diet and 10-year incidence

(2002-2012) of diabetes: correlations with inflammatory and oxidative stress biomarkers in the ATTICA cohort study. *Diabetes Metab Res Rev* 2016;32(1):73-81

Kotan VO, Sarandol E, Kirhan E, Ozkaya G, Kirli S. Effects of long-term antidepressant treatment on oxidative status in major depressive disorder: a 24-week follow-up study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2011;35(5):1284-1290

Kravariti E, Dixon T, Frith C, Murray R, McGuire P. Association of symptoms and executive function in schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophr Res* 2005;74(2-3):221-231

Kronfol Z, House JD, Silva J Jr, Greden J, Carroll BJ. Depression, urinary free cortisol excretion and lymphocyte function. *Br J Psychiatry* 1986;148(1):70-73

Kuloglu M, Ustundag B, Atmaca M, Canatan H, Tezcan AE, Cinkilinc N. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Cell Biochem Funct* 2002;20(2):171-175

Kunz M, Gama CS, Andreazza AC, Salvador M, Ceresér KM, Gomes FA, Belmonte-de-Abreu PS, Berk M, Kapczinski F. Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in different phases of bipolar disorder and in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008;32(7):1677-1681.

Kuraoka I, Bender C, Romieu A, Cadet J, Wood RD, Lindahl T. Removal of oxygen free-radical-induced 5',8-purine cyclodeoxynucleosides from DNA by the nucleotide excision-repair pathway in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(8):3832-3837

Kurutas EB. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutr J* 2016;15(1):71

Lawrence T, Bebien M, Liu GY, Nizet V, Karin M. IKKalpha limits macrophage NF-kappaB activation and contributes to the resolution of inflammation. *Nature* 2005;434(7037):1138-1143

Leonard B, Maes M. Mechanistic explanations how cell-mediated immune activation, inflammation and oxidative and nitrosative stress pathways and their sequels and concomitants play a role in the pathophysiology of unipolar depression. *Neurosci Biobehav Rev* 2012;36(2):764–785

Leussis MP, Madison JM, Petryshen TL. Ankyrin 3: genetic association with bipolar disorder and relevance to disease pathophysiology. *Biol Mood Anxiety Disord* 2012;2:18

Liehr JG, Roy D. Pro-oxidant and antioxidant effects of estrogens. *Methods Mol Biol* 1998;108:425-435

Lindqvist D, Dhabhar FS, James SJ, Hough CM, Jain FA, Bersani FS, Reus VI, Verhoeven JE, Epel ES, Mahan L, Rosser R, Wolkowitz OM, Mellon SH. Oxidative stress, inflammation and treatment response in major depression. *Psychoneuroendocrinology* 2017;76:197-205.

Liu C, Srihari S, Cao KA, Chenevix-Trench G, Simpson PT, Ragan MA, Khanna KK. A fine-scale dissection of the DNA double-strand break repair machinery and its implications for breast cancer therapy. *Nucleic Acids Res* 2014;42(10):6106-6127

Liu T, Zhong S, Liao X, Chen J, He T, Lai S, Jia Y. A Meta-Analysis of Oxidative Stress Markers in Depression. *PLoS One* 2015;10(10):e0138904.

Liukkonen T, Silvennoinen-Kassinen S, Jokelainen J, Räsänen P, Leinonen M, Meyer-Rochow VB, Timonen M. The association between C-reactive protein levels and depression: Results from the northern Finland 1966 birth cohort study. *Biol Psychiatry* 2006;60(8):825-830

Lopresti AL, Maker GL, Hood SD, Drummond PD. A review of peripheral biomarkers in major depression: the potential of inflammatory and oxidative stress biomarkers. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2014;48:102-111

Machado-Vieira R, Andreazza AC, Viale CI, Zanatto V, Cereser V Jr, da Silva Vargas R, Kapczinski F, Portela LV, Souza DO, Salvador M, Gentil V. Oxidative stress parameters in unmedicated and treated bipolar subjects during initial manic episode: a possible role for lithium antioxidant effects. *Neurosci Lett* 2007;421(1):33-36

Rodrigo Machado-Vieira, Jair C. Soares, Diogo R. Lara, David A. Luckenbaugh, João V. Busnello, Getulio Marca, Angelo Cunha, Diogo O. Souza, Carlos A. Zarate, Jr, Flavio Kapczinski A double-blind, Randomized, Placebo-Controlled 4-Week Study on the Efficacy and Safety of the Purinergic Agents Allopurinol and Dipyridamole Adjunctive to Lithium in Acute Bipolar Mania. *J Clin Psychiatry* 2008; 69(8): 1237-1245

MacRae M, Macrina T, Khoury A, Migliore MM, Kentner AC. Tracing the trajectory of behavioral impairments and oxidative stress in an animal model of neonatal inflammation. *Neuroscience* 2015;298:455-466

Maes M, Bosmans E, Suy E, Vandervorst C, DeJonckheere C, Raus J. Depression-related disturbances in mitogen-induced lymphocyte responses and interleukin-1 beta and soluble interleukin-2 receptor production. *Acta Psychiatr Scand* 1991;84(4):379-386

Maes M, Scharpé S, Meltzer HY, Bosmans E, Suy E, Calabrese J, Cosyns P. Relationships between interleukin-6 activity, acute phase proteins, and function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in severe depression. *Psychiatry Res* 1993;49(1):11-27

Maes M, D'Haese PC, Scharpé S, D'Hondt P, Cosyns P, De Broe ME. Hypozincemia in depression. *J Affect Disord* 1994;31(2):135-140

Maes M, Meltzer HY, D'Hondt P, Cosyns P, Blockx P. Effects of serotonin precursors on the negative feedback effects of glucocorticoids on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in depression. *Psychoneuroendocrinology* 1995;20(2):149-167

Maes M, Bosmans E, Calabrese J, Smith R, Meltzer HY. Interleukin-2 and interleukin-6 in schizophrenia and mania: effects of neuroleptics and mood stabilizers. *J Psychiatr Res* 1995 b;29(2):141-152

Maes M, Vandoolaeghe E, Neels H, Demedts P, Wauters A, Meltzer HY, Altamura C, Desnyder R. Lower serum zinc in major depression is a sensitive marker of treatment resistance and of the immune/inflammatory response in that illness. *Biol Psychiatry* 1997;42(5):349-358

Maes M, Christophe A, Delanghe J, Altamura C, Neels H, Meltzer HY. Lowered omega3 polyunsaturated fatty acids in serum phospholipids and cholesteryl esters of depressed patients. *Psychiatry Res* 1999;85(3):275-291

Maes M, Mihaylova I, Leunis JC. Increased serum IgM antibodies directed against phosphatidyl inositol (Pi) in chronic fatigue syndrome (CFS) and major depression: evidence that an IgM-mediated immune response against Pi is one factor underpinning the comorbidity between both CFS and depression. *Neuro Endocrinol Lett* 2007;28(6):861-867

Maes M, Kubera M, Leunis JC. The gut-brain barrier in major depression: intestinal mucosal dysfunction with an increased translocation of LPS from gram negative enterobacteria (leaky gut) plays a role in the inflammatory pathophysiology of depression. *Neuro Endocrinol Lett* 2008;29(1):117-124

Maes M, Yirmiya R, Noraberg J, Brene S, Hibbeln J, Perini G, Kubera M, Bob P, Lerer B, Maj M. The inflammatory & neurodegenerative (I&ND) hypothesis of depression: leads for future research and new drug developments in depression.

Metab Brain Dis 2009;24(1):27-53

Maes M, Mihaylova I, Kubera M, Leunis JC, Geffard M. IgM-mediated autoimmune responses directed against multiple neoepitopes in depression: new pathways that underpin the inflammatory and neuroprogressive pathophysiology. *J Affect Disord* 2011 b;135(1-3):414-418

Maes M, Mihaylova I, Kubera M, Uytterhoeven M, Vrydags N, Bosmans E. Lower whole blood glutathione peroxidase (GPX) activity in depression, but not in myalgic encephalomyelitis / chronic fatigue syndrome: another pathway that may be associated with coronary artery disease and neuroprogression in depression. *Neuro Endocrinol Lett* 2011;32(2):133-140

Magalhães PV, Jansen K, Pinheiro RT, Colpo GD, da Motta LL, Klamt F, da Silva RA, Kapczinski F. Peripheral oxidative damage in early-stage mood disorders: a nested population-based case-control study. *Int J Neuropsychopharmacol* 2012;15(8):1043-1050

Malhotra N, Kulhara P, Chakrabarti S, Grover S. A prospective, longitudinal study of metabolic syndrome in patients with bipolar disorder and schizophrenia. *J Affect Disord* 2013;150:653–658

Mansur RB, Rizzo LB, Santos CM, Asevedo E, Cunha GR, Noto MN, Pedrini M, Zeni-Graiff M, Gouvea ES, Cordeiro Q, Reininghaus EZ, McIntyre RS, Brietzke E. Bipolar disorder course, impaired glucose metabolism and antioxidant enzymes activities: A preliminary report. *J Psychiatr Res* 2016;80:38-44

Mansur RB b, Santos CM, Rizzo LB, Cunha GR, Asevedo E, Noto MN, Pedrini M, Zeni M, Cordeiro Q, McIntyre RS, Brietzke E. Inter-relation between brain-derived neurotrophic factor and antioxidant enzymes in bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2016;18(5):433-439

Marín Martínez F, Sánchez Meca J, López López JA. El metaanálisis en el ámbito de las Ciencias de la Salud: una metodología imprescindible para la eficiente acumulación del conocimiento. *Fisioterapia* 2009;31(3):107-114

Martínez A, Pérez P, Ossa C, Corbalán R, Jalil J, Castro P, Acevedo M. Hyperuricemia as a marker for anaerobic threshold in chronic cardiac failure. *Rev Med Chil* 2001;129(5): 503-508

Martínez-Cengotitabengoa M, Mac-Dowell KS, Leza JC, Micó JA, Fernandez M, Echevarría E, Sanjuan J, Elorza J, González-Pinto A. Cognitive impairment is related to oxidative stress and chemokine levels in first psychotic episodes. *Schizophr Res* 2012;137(1-3):66-72

Martínez-Cengotitabengoa M, Micó JA, Arango C, Castro-Fornieles J, Graell M, Payá B, Leza JC, Zorrilla I, Parellada M, López MP, Baeza I, Moreno C, Rapado-Castro M, González-Pinto A. Basal low antioxidant capacity correlates with cognitive deficits in early onset psychosis. A 2-year follow-up study. *Schizophr Res* 2014;156(1):23-29

Martinon F, Pétrilli V, Mayor A, Tardivel A, Tschopp J. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature* 2006;440(7081):237-341

Matalon S, Hardiman KM, Jain L, Eaton DC, Kotlikoff M, Eu JP, Sun J, Meissner G, Stamler JS. Regulation of ion channel structure and function by reactive oxygen-nitrogen species. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003;285(6):L1184-L1189

Mattson MP, Chan SL. Neuronal and glial calcium signaling in Alzheimer's disease. *Cell Calcium* 2003;34(4-5):385-397

Mattson MP, Maudsley S, Martin B. A neural signaling triumvirate that influences ageing and age-related disease: insulin/IGF-1, BDNF and serotonin. *Ageing Res Rev* 2004; 3: 445-464

Mazereeuw G, Herrmann N, Andreazza AC, Khan MM, Lanctôt KL. A meta-analysis of lipid peroxidation markers in major depression. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2015;11:2479-2491

McCord JM, Fridovich I. The reduction of cytochrome c by milk xanthine oxidase. *J Biol Chem* 1968;243(21):5753-5760

McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969;244: 6049-6055

McIntyre RS, Rasgon NL, Kemp DE, Nguyen HT, Law CW, Taylor VH, et al. Metabolic syndrome and major depressive disorder: Co-occurrence and pathophysiologic overlap. *Curr Diab Rep*. 2009;9:51–59 McLoughlin IJ, Hodge JS. Zinc in depressive disorder. *Acta Psychiatr Scand* 1990;82(6):451-453

McMahon M, Itoh K, Yamamoto M, Hayes JD. Keap1-dependent proteasomal degradation of transcription factor Nrf2 contributes to the negative regulation of antioxidant response element-driven gene expression. *J Biol Chem* 2003;278(24): 21592-21600

McNamara RK, Welge JA. Meta-analysis of erythrocyte polyunsaturated fatty acid biostatus in bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2016;18(3):300-306

Meister A. Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals. *J Biol Chem* 1994;269(13):9397-9400

Merikangas KR, Akiskal HS, Angst J, Greenberg PE, Hirschfeld RM, Petukhova M, Kessler RC. Lifetime and 12-month prevalence of bipolar spectrum disorder in the National Comorbidity Survey replication. *Arch Gen Psychiatry* 2007;64(5):543-552

Merikangas KR, Jin R, He JP, Kessler RC, Lee S, Sampson NA, Viana MC, Andrade LH, Hu C, Karam EG, Ladea M, Medina-Mora ME, Ono Y, Posada-Villa J, Sagar R, Wells

JE, Zarkov Z. Prevalence and correlates of bipolar spectrum disorder in the world mental health survey initiative. *Arch Gen Psychiatry* 2011;68(3):241-251

Micó JA, Rojas-Corrales MO, Gibert-Rahola J, Parellada M, Moreno D, Fraguas D, Graell M, Gil J, Irazusta J, Castro-Fornieles J, Soutullo C, Arango C, Otero S, Navarro A, Baeza I, Martínez-Cengotitabengoa M, González-Pinto A. Reduced antioxidant defense in early onset first-episode psychosis: a case-control study. *BMC Psychiatry* 2011;11:26

Mittal CK, Murad F. Activation of guanylate cyclase by superoxide dismutase and hydroxyl radical: a physiological regulator of guanosine 3',5'-monophosphate formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977;74(10):4360-4364

Modabbernia A1, Taslimi S, Brietzke E, Ashrafi M. Cytokine alterations in bipolar disorder: a meta-analysis of 30 studies. *Biol Psychiatry* 2013 Jul 1;74(1):15-25

Moher D, Tetzlaff J, Tricco AC, Sampson M, Altman DG. Epidemiology and Reporting Characteristics of Systematic Reviews. *PLoS Med* 2007; 4(3): e78

Mondin TC, de Azevedo Cardoso T, Moreira FP, Wiener C, Oses JP, de Mattos Souza LD, Jansen K, da Silva Magalhães PV, Kapczinski F, da Silva RA. Circadian preferences, oxidative stress and inflammatory cytokines in bipolar disorder: A community study. *J Neuroimmunol* 2016;301:23-29

Moniczewski A, Gawlik M, Smaga I, Niedzielska E, Krzek J, Przegaliński E, Pera J, Filip M. Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 1. Chemical aspects and biological sources of oxidative stress in the brain. *Pharmacol Rep* 2015;67(3):560-568

Moraes EC, Keyse SM, Tyrrell RM. Mutagenesis by hydrogen peroxide treatment of mammalian cells: a molecular analysis. *Carcinogenesis* 1990;11(2):283-293

Moylan S, Berk M, Dean OM, Samuni Y, Williams LJ, O'Neil A, Hayley AC, Pasco JA, Anderson G, Jacka FN, Maes M. Oxidative & nitrosative stress in depression: why so much stress?. *Neurosci Biobehav Rev* 2014;45:46-62.

Munkholm K, Braüner JV, Kessing LV, Vinberg M. Cytokines in bipolar disorder vs. healthy control subjects: a systematic review and meta-analysis. *J Psychiatr Res* 2013;47(9):1119-1133

Murray CJL, Barber RM, Foreman KJ, Ozgoren AA, Abd-Allah F, Abera SF et al. Global, regional, and national disability-adjusted life years (DALYs) for 306 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 188 countries, 1990-2013: Quantifying the epidemiological transition. *Lancet* 2015; 386: 2145–2191

Musazzi L, Tornese P, Sala N, Popoli M. Acute stress is not acute: sustained enhancement of glutamate release after acute stress involves readily releasable pool size and synapsin I activation. *Mol Psychiatry* 2016; [Epub ahead of print]

Myint AM, Kim YK, Verkerk R, Park SH, Scharpé S, Steinbusch HW, Leonard BE. Tryptophan breakdown pathway in bipolar mania. *J Affect Disord* 2007;102(1-3):65-72

Nakano M, Kawanishi Y, Kamohara S, Uchida Y, Shiota M, Inatomi Y, Komori T, Miyazawa K, Gondo K, Yamasawa I. Oxidative DNA damage (8-hydroxydeoxyguanosine) and body iron status: a study on 2507 healthy people. *Free Radic Biol Med* 2003;35(7):826-832

Narang RL, Gupta KR, Narang AP, Singh R. Levels of copper and zinc in depression. *Indian J Physiol Pharmacol* 1991;35(4):272-274

Nava N, Treccani G, Alabsi A, Kaastrup Mueller H, Elfving B, Popoli M, Wegener G, Nyengaard JR. Temporal Dynamics of Acute Stress-Induced Dendritic Remodeling in Medial Prefrontal Cortex and the Protective Effect of Desipramine. *Cereb Cortex* 2017;27(1):694-705

Newton DF, Naiberg MR, Goldstein BI. Oxidative stress and cognition amongst adults without dementia or stroke: Implications for mechanistic and therapeutic research in psychiatric disorders. *Psychiatry Res* 2015;227(2-3):127-134

Nguyen T, Sherratt PJ, Nioi P, Yang CS, Pickett CB. Nrf2 controls constitutive and inducible expression of ARE-driven genes through a dynamic pathway involving nucleocytoplasmic shuttling by Keap1. *J Biol Chem* 2005;280(37):32485-32492

Nguyen PH, Grajeda R, Melgar P, Marcinkevage J, DiGirolamo AM, Flores R, Martorell R. Micronutrient supplementation may reduce symptoms of depression in Guatemalan women. *Arch Latinoam Nutr* 2009;59(3):278-286

Niki E, Noguchi N, Tsuchihashi H, Gotoh N. Interaction among vitamin C, vitamin E, and beta-carotene. *Am J Clin Nutr* 1995;62(6 Suppl):1322S-1326S.

Nogueira CW, Zeni G, Rocha JB. Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology. *Chem Rev* 2004 ;104(12):6255-6285

Ohaeri JU, Akanji AO. Metabolic syndrome in severe mental disorders. *Metab Syndr Relat Disord* 2011;9: 91–98

Olza-Fernández I, Palanca-Maresca I, Jiménez-Fernández S, Cazorla-Calleja MR. Trichotillomania, bipolar disorder and white matter hyperintensities in a six-year old girl. *J Can Acad Child Adolesc Psychiatry* 2012;21(3):213-215

Ong WY, Lu XR, Hu CY, Halliwell B. Distribution of hydroxynonenal-modified proteins in the kainate-lesioned rat hippocampus: evidence that hydroxynonenal formation precedes neuronal cell death. *Free Radic Biol Med* 2000;28(8):1214-21

Ortiz R, Ulrich H, Zarate CA Jr, Machado-Vieira R. Purinergic system dysfunction in mood disorders: a key target for developing improved therapeutics. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2015;57:117-131

Özten E, Kesebir S, Eryılmaz G, Tarhan N, Karamustafalıoğlu O. Are uric acid plasma levels different between unipolar depression with and without adult attention deficit hyperactivity disorder?. *J Affect Disord* 2015;177:114-7. Retraction in: *J Affect Disord*. 2016;206:350

Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 2007;87(1):315-424

Palta P, Samuel LJ, Miller ER 3rd, Szanton SL. Depression and oxidative stress: results from a meta-analysis of observational studies. *Psychosom Med* 2014;76(1):12-19

Pani G, Colavitti R, Bedogni B, Anzevino R, Borrello S, Galeotti T. A redox signaling mechanism for density-dependent inhibition of cell growth. *J Biol Chem* 2000;275(49):38891-38899

Pantelis C, Velakoulis D, McGorry PD, Wood SJ, Suckling J, Phillips LJ, Yung AR, Bullmore ET, Brewer W, Soulsby B, Desmond P, McGuire PK. Neuroanatomical abnormalities before and after onset of psychosis: a cross-sectional and longitudinal MRI comparison. *Lancet* 2003;361(9354):281-288

Pasco JA, Nicholson GC, Williams LJ, Jacka FN, Henry MJ, Kotowicz MA, Schneider HG, Leonard BE, Berk M. Association of high-sensitivity C-reactive protein with de novo major depression. *Br J Psychiatry* 2010;197(5):372-377

Patrick RP, Ames BN. Vitamin D and the omega-3 fatty acids control serotonin synthesis and action, part 2: relevance for ADHD, bipolar disorder, schizophrenia, and impulsive behavior. *FASEB J* 2015;29(6):2207-2222

Pavlovic D, Dordevic V, Kocic G. A “cross-talk” between oxidative stress and redox cell signalling . *Facta Univ Series: Med Biol* 2002;9:131-137

Pegg AE. Functions of Polyamines in Mammals. *J Biol Chem* 2016;291(29):14904-14912

Phillis JW, O'Regan MH. A potentially critical role of phospholipases in central nervous system ischemic, traumatic, and neurodegenerative disorders. *Brain Res Rev* 2004;44(1):13-47

Phumala N, Porasuphatana S, Unchern S, Pootrakul P, Fucharoen S, Chantharaksri U. Hemin: a possible cause of oxidative stress in blood circulation of beta-thalassemia/hemoglobin E disease. *Free Radic Res* 2003;37(2):129-135

Pillai A. Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in the pathogenesis and novel pharmacotherapy of schizophrenia. *Neurosignals* 2008; 16:183-193

Poli G, Leonarduzzi G, Biasi F, Chiarpotto E. Oxidative stress and cell signalling. *Curr Med Chem* 2004;11(9):1163-1182

Potash JB, DePaulo J-RJ. Searching high and low: a review of the genetics of bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2000;2:8-26

Pryor WA. Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes, and reactions. *Annu Rev Physiol* 1986;48:657-667

Puppo A, Halliwell B. Formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron. Is haemoglobin a biological Fenton reagent? *Biochem J* 1988;249(1):185-190

Quintanar Escorza and Calderón Salinas. La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Reb* 2009;28(3): 89-101

Radák Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Pucsok J, Sasvári M, Nyakas C, Goto S. Regular exercise improves cognitive function and decreases oxidative damage in rat brain. *Neurochem Int* 2001;38(1):17-23

Radak Z, Naito H, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Takahashi R, Cardozo-Pelaez F, Goto S. Exercise training decreases DNA damage and increases DNA repair and resistance against oxidative stress of proteins in aged rat skeletal muscle. *Pflugers Arch* 2002; 445: 273–278

Radak Z, Toldy A, Szabo Z, Siamilis S, Nyakas C, Silye G, Jakus J, Goto S. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. *Neurochem Int* 2006;49(4):387-392

Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radic Biol Med* 2008; 44: 153–159

Raffa M, Barhoumi S, Atig F, Fendri C, Kerkeni A, Mechri A. Reduced antioxidant defense systems in schizophrenia and bipolar I disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2012;39(2):371-375

Ramkumar S, Raghunath A, Raghunath S. Statin Therapy: Review of Safety and Potential Side Effects. *Acta Cardiol Sin* 2016;32(6):631-639

Ranjekar PK, Hinge A, Hegde MV, Ghate M, Kale A, Sitasawad S, Wagh UV, Debsikdar VB, Mahadik SP. Decreased antioxidant enzymes and membrane essential polyunsaturated fatty acids in schizophrenic and bipolar mood disorder patients. *Psychiatry Res* 2003;121(2):109-122

Rees JN, Florang VR, Anderson DG, Doorn JA. Lipid peroxidation products inhibit dopamine catabolism yielding aberrant levels of a reactive intermediate. *Chem Res Toxicol* 2007;20(10):1536-1542

Rocha VZ, Folco EJ. Inflammatory concepts of obesity. *Int J Inflam* 2011;2011:529061

Roig M, Nordbrandt S, Geertsen SS, Nielsen JB. The effects of cardiovascular exercise on human memory: a review with meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev* 2013;37(8):1645-1666

Rosa AR, Singh N, Whitaker E, de Brito M, Lewis AM, Vieta E, Churchill GC, Geddes JR, Goodwin GM. Altered plasma glutathione levels in bipolar disorder indicates higher oxidative stress; a possible risk factor for illness onset despite normal brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels. *Psychol Med* 2014;44(11):2409-2418

Rosmond R, Björntorp P. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity as a predictor of cardiovascular disease, type 2 diabetes and stroke. *J Int Med* 2000; 247: 188–197

Rusconi F, Grillo B, Ponzoni L, Bassani S, Toffolo E, Paganini L, Mallei A, Braidà D, Passafaro M, Popoli M, Sala M, Battaglioli E. LSD1 modulates stress-evoked transcription of immediate early genes and emotional behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016;113(13):3651-3656

Russo AJ. Increased Serum Cu/Zn SOD in Individuals with Clinical Depression Normalizes After Zinc and Anti-oxidant Therapy. *Nutr Metab Insights* 2010;3:37-42

Rybka J, Kędziora-Kornatowska K, Banaś-Leżańska P, Majsterek I, Carvalho LA, Cattaneo A, Anacker C, Kędziora J. Interplay between the pro-oxidant and antioxidant systems and proinflammatory cytokine levels, in relation to iron metabolism and the erythron in depression. *Free Radic Biol Med* 2013;63:187-194. Erratum in: *Free Radic Biol Med* 2014;69:197

Sablina AA, Budanov AV, Ilyinskaya GV, Agapova LS, Kravchenko JE, Chumakov PM. The antioxidant function of the p53 tumor suppressor. *Nat Med* 2005;11 (12):1306-1313

Sakano N, Takahashi N, Wang DH, Sauriasari R, Takemoto K, Kanbara S, Sato Y,

Takigawa T, Takaki J, Ogino K. Plasma 3-nitrotyrosine, urinary 8-isoprostane and 8-OHdG among healthy Japanese people. *Free Radic Res* 2009;43(2):183-192

Salem N Jr, Litman B, Kim HY, Gawrisch K. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. *Lipids* 2001;36(9):945-959

Salimi S, Kianpoor M, Abassi M R, Abdani M, E.S. Moghaddam E S. Lower Total Serum Protein, Albumin and Zinc in Depression in an Iranian Population. *J Med Sci* 2008;8 (6):587-590

Sallam N, Laher I. Exercise Modulates Oxidative Stress and Inflammation in Aging and Cardiovascular Diseases. *Oxid Med Cell Longev* 2016;2016:7239639

Salminen LE, Paul RH. Oxidative stress and genetic markers of suboptimal antioxidant defense in the aging brain: a theoretical review. *Rev Neurosci* 2014;25(6):805-819

Salomon RG. Distinguishing levuglandins produced through the cyclooxygenase and isoprostane pathways. *Chem Phys Lipids* 2005;134(1):1-20

Salustri C, Squitti R, Zappasodi F, Ventriglia M, Bevacqua MG, Fontana M, Tecchio F. Oxidative stress and brain glutamate-mediated excitability in depressed patients. *J Affect Disord* 2010;127(1-3):321-325

Salvadore G, Viale CI, Luckenbaugh DA, Zanatto VC, Portela LV, Souza DO, Zarate CA Jr, Machado-Vieira R. Increased uric acid levels in drug-naïve subjects with bipolar disorder during a first manic episode. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2010;34(6):819-821

Salvatore P, Tohen M, Khalsa HM, Baethge C, Tondo L, Baldessarini RJ. Longitudinal research on bipolar disorders. *Epidemiol Psychiatr Soc* 2007;16(2):109-117

Sánchez-Carbente MR, Castro-Obregón S, Covarrubias L, Narváez V. Motoneuronal death during spinal cord development is mediated by oxidative stress. *Cell Death Differ* 2005;12(3):279-91

Sanchez-Moreno J, Martinez-Aran A, Tabarés-Seisdedos R, Torrent C, Vieta E, Ayuso-Mateos JL. Functioning and disability in bipolar disorder: an extensive review. *Psychother Psychosom* 2009;78(5):285-297

Sánchez Román J, Castillo Palma M, García Hernández FJ, González León R. Marcadores biológicos. Utilidad para el control del paciente con hipertensión pulmonar. *Arch Bronconeumol* 2011;47 Suppl 7:21-25

Sandi C, Bisaz R. A model for the involvement of neural cell adhesion molecules in stress-related mood disorders. *Neuroendocrinology* 2007;85(3):158-176

Santus R, Patterson LK, Filipe P, Morlière P, Hug GL, Fernandes A, Mazière JC. Redox reactions of the urate radical/urate couple with the superoxide radical anion, the tryptophan neutral radical and selected flavonoids in neutral aqueous solutions. *Free Radic Res* 2001;35(2):129-136

Sarandol A, Sarandol E, Eker SS, Erdinc S, Vatansever E, Kirli S. Major depressive disorder is accompanied with oxidative stress: short-term antidepressant treatment does not alter oxidative-antioxidative systems. *Hum Psychopharmacol* 2007;22(2):67-73

Sarandol A, Sarandol E, Acikgoz HE, Eker SS, Akkaya C, Dirican M. First-episode psychosis is associated with oxidative stress: Effects of short-term antipsychotic treatment. *Psychiatry Clin Neurosci* 2015;69(11):699-707

Sardina JL, López-Ruano G, Sánchez-Sánchez B, Llanillo M, Hernández-Hernández A. Reactive oxygen species: are they important for haematopoiesis?. *Crit Rev Oncol Hematol* 2012;81(3):257-274

Sato S, Yeh TL. Challenges in treating patients with major depressive disorder: the impact of biological and social factors. *CNS Drugs* 2013;27 Suppl 1:S5-S10

Savaraj N, Wei Y, Unate H, Liu PM, Wu CJ, Wangpaichitr M, Xia D, Xu HJ, Hu SX, Tien Kuo M. Redox regulation of matrix metalloproteinase gene family in small cell lung cancer cells. *Free Radic Res* 2005;39(4):373-381

Savaş HA, Herken H, Yürekli M, Uz E, Tutkun H, Zoroğlu SS, Ozen ME, Cengiz B, Akyol O. Possible role of nitric oxide and adrenomedullin in bipolar affective disorder. *Neuropsychobiology* 2002;45(2):57-61

Savas HA, Gergerlioglu HS, Armutcu F, Herken H, Yilmaz HR, Kocoglu E, Selek S, Tutkun H, Zoroglu SS, Akyol O. Elevated serum nitric oxide and superoxide dismutase in euthymic bipolar patients: impact of past episodes. *World J Biol Psychiatry* 2006;7(1):51-55

Schafer FQ, Buettner GR. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic Biol Med* 2001;30(11):1191-212

Schiavone S, Jaquet V, Trabace L, Krause KH. Severe life stress and oxidative stress in the brain: from animal models to human pathology. *Antioxid Redox Signal* 2013;18(12):1475-1490

Scott JA, Rabito CA. Oxygen radicals and plasma membrane potential. *Free Radic Biol Med* 1988;5(4):237-246

Sedlack TW, Zinder SH. Bilirubin benefits: cellular protection by a biliverdin reductase antioxidant cycle. *Pediatrics* 2004; 113: 1776-1782

Sedlak TW, Sqaleh M, Higgison DS, Paul BD, Juluri KR, Snyder SH. Bilirubin and glutathione have complementary antioxidant and cytoprotective roles. *PNAS* 2009; 106: 5171-5176

Seet RC, Lee CY, Loke WM, Huang SH, Huang H, Looi WF, Chew ES, Quek AM, Lim EC, Halliwell B. Biomarkers of oxidative damage in cigarette smokers: which biomarkers might reflect acute versus chronic oxidative stress? *Free Radic Biol Med* 2011;50(12):1787-1789

Seifuddin F, Mahon PB, Judy J, Pirooznia M, Jancic D, Taylor J, Goes FS, Potash JB, Zandi PP. Meta-analysis of genetic association studies on bipolar disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2012;159B(5):508-518

Selek S, Savas HA, Gergerlioglu HS, Bulbul F, Uz E, Yumru M. The course of nitric oxide and superoxide dismutase during treatment of bipolar depressive episode. *J Affect Disord* 2008;107(1-3):89-94

Selek S, Altindag A, Saracoglu G, Aksoy N. Oxidative markers of Myeloperoxidase and Catalase and their diagnostic performance in bipolar disorder. *J Affect Disord* 2015;181:92-95

Sesti F, Tsitsilonis OE, Kotsinas A, Trougakos IP. Oxidative stress-mediated biomolecular damage and inflammation in tumorigenesis. *In Vivo* 2012;26(3):395-402

Sevanian A, Nordenbrand K, Kim E, Ernster L, Hochstein P. Microsomal lipid peroxidation: the role of NADPH--cytochrome P450 reductase and cytochrome P450. *Free Radic Biol Med* 1990;8(2):145-152

Shaulian E, Karin M. AP-1 as a regulator of cell life and death. *Nat Cell Biol* 2002;4(5):E131-136

Shephard RJ, Balady GJ. Exercise as cardiovascular therapy. *Circulation* 1999;99(7):963-972

Singh I, Pahan K, Khan M, Singh AK. Cytokine-mediated induction of ceramide production is redox-sensitive. Implications to proinflammatory cytokine-mediated apoptosis in demyelinating diseases. *J Biol Chem* 1998;273(32):20354-20362

Sinn N, Milte C, Howe PR. Oiling the brain: a review of randomized controlled trials of omega-3 fatty acids in psychopathology across the lifespan. *Nutrients* 2010;2(2):128-170

Siwek M, Sowa-Kućma M, Styczeń K, Szewczyk B, Reczyński W, Misztak P, Topór-Mądry R, Nowak G, Dudek D, Rybakowski JK. Decreased serum zinc concentration during depressive episode in patients with bipolar disorder. *J Affect Disord* 2016;190:272-277

Siwek M b, Sowa-Kucma M, Styczen K, Misztak P, Szewczyk B, Topor-Madry R, Nowak G, Dudek D, Rybakowski JK. Thiobarbituric Acid-Reactive Substances: Markers of an Acute Episode and a Late Stage of Bipolar Disorder. *Neuropsychobiology* 2016;73(2):116-122

Smith AJ, Stone TW, Smith RA. Neurotoxicity of tryptophan metabolites. *Biochem Soc Trans* 2007;35(Pt 5):1287-1289

Sorgi PJ, Hallowell EM, Hutchins HL, Sears B. Effects of an open-label pilot study with high-dose EPA/DHA concentrates on plasma phospholipids and behavior in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Nutr J* 2007;6:16

Spanemberg L, Caldieraro MA, Vares EA, Wollenhaupt-Aguiar B, Kauer-Sant'Anna M, Kawamoto SY, Galvão E, Parker G, Fleck MP. Biological differences between melancholic and nonmelancholic depression subtyped by the CORE measure. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2014;10:1523-3151

Spies M, Fishel R. Mismatch repair during homologous and homeologous recombination. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2015 2;7(3):a022657

Stanley PC, Wakwe VC. Toxic trace metals in the mentally ill patients. *Niger Postgrad Med J* 2002;9(4):199–204

Steenkamp LR, Hough CM, Reus VI, Jain FA, Epel ES, James SJ, Morford AE2, Mellon SH, Wolkowitz OM, Lindqvist D. Severity of anxiety- but not depression- is associated with oxidative stress in Major Depressive Disorder. *J Affect Disord* 2017;219:193-200

Stefanescu C, Ciobica A. The relevance of oxidative stress status in first episode and recurrent depression. *J Affect Disord* 2012;143(1-3):34-38

Stern JM, Simes RJ. Publication bias: evidence of delayed publication in a cohort study of clinical research projects. *BMJ* 1997; 315: 640-645

Stocks J, Offerman EL, Modell CB, Dormandy TL. The susceptibility to autoxidation of human red cell lipids in health and disease. *Br J Haematol* 1972;23(6):713-724

Stoklasová A, Petráková K, Michalicková J, Zapletálek M. Activities of blood glutathione peroxidase in schizophrenic and depressive patients. *Sb Ved Pr Lek Fak Karlovy Univerzity Hradci Kralove* 1990;33(5):495-500.

Storniolo CE, Casillas R, Bulló M, Castañer O, Ros E, Sáez GT, Toledo E, Estruch R, Ruiz-Gutiérrez V, Fitó M, Martínez-González MA, Salas-Salvadó J, Mitjavila MT, Moreno JJ. A Mediterranean diet supplemented with extra virgin olive oil or nuts improves endothelial markers involved in blood pressure control in hypertensive women. *Eur J Nutr* 2017;56(1):89-97

Suh JH, Shenvi SV, Dixon BM, Liu H, Jaiswal AK, Liu RM, Hagen TM. Decline in transcriptional activity of Nrf2 causes age-related loss of glutathione synthesis, which is reversible with lipoic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101(10):3381-3386

Sullivan R, Wilson DA, Feldon J, Yee BK, Meyer U, Richter-Levin G, Avi A, Michael T, Gruss M, Bock J, Helmeke C, Braun K. The International Society for Developmental Psychobiology annual meeting symposium: Impact of early life experiences on brain and behavioral development. *Dev Psychobiol* 2006;48(7):583-602.

Swann AC, Bowden CL, Calabrese JR, Dilsaver SC, Morris DD. Differential effect of number of previous episodes of affective disorder on response to lithium or divalproex in acute mania. *Am J Psychiatry* 1999;156(8):1264-1266

Swardfager W, Herrmann N, Mazereeuw G, Goldberger K, Harimoto T, Lanctôt KL. Zinc in depression: a meta-analysis. *Biol Psychiatry* 2013;74(12):872-878.

Szuster-Ciesielska A, Słotwińska M, Stachura A, Marmurowska-Michałowska H, Dubas-Slemp H, Bojarska-Junak A, Kandefer-Szerszeń M. Accelerated apoptosis of blood leukocytes and oxidative stress in blood of patients with major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008;32(3):686-694

Tabas I, Glass CK. Anti-inflammatory therapy in chronic disease: challenges and opportunities. *Science* 2013;339(6116):166-172.

Talarowska M, Gałęcki P, Maes M, Gardner A, Chamielec M, Orzechowska A, Bobińska K, Kowalczyk E. Malondialdehyde plasma concentration correlates with declarative and working memory in patients with recurrent depressive disorder. *Mol Biol Rep* 2012;39(5):5359-5366

Tan HZ, Li H, Liu CF, Guan JT, Guo XB, Wen CH, Ou SM, Zhang YN, Zhang J, Xu CT, Shen ZW, Wu RH, Wang XQ. Main effects of diagnoses, brain regions, and their interaction effects for cerebral metabolites in bipolar and unipolar depressive disorders. *Sci Rep* 2016;6:37343

Tang J-L, Liu JLY. Misleading funnel plot for detection of bias in meta-analysis. *J Clin Epidemiol* 2000;53:477-484

Tao R, Li H. High serum uric acid level in adolescent depressive patients. *J Affect Disord* 2015;174:464-466

Teoh ML1, Turner PV, Evans DH. Tumorigenic poxviruses up-regulate intracellular superoxide to inhibit apoptosis and promote cell proliferation. *J Virol* 2005;79(9):5799-811

Thannickal VJ, Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;279(6):L1005-L1028

Tinahones FJ, Murri-Pierri M, Garrido-Sánchez L, García-Almeida JM, García-Serrano S, García-Arnés J, García-Fuentes E. Oxidative stress in severely obese persons is greater in those with insulin resistance. *Obesity (Silver Spring)* 2009;17(2):240-246

Tramèr MR, Reynolds DJM, Moore RA, McQuay HJ. Impact of cover duplicate publication on meta-analysis: a case study. *BMJ* 1997; 315: 635-634

Tsai MC, Huang TL. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) is a state biomarker of oxidative stress in bipolar patients in a manic phase. *J Affect Disord* 2015;173:22-26

Tsai MC, Huang TL. Increased activities of both superoxide dismutase and catalase were indicators of acute depressive episodes in patients with major depressive disorder. *Psychiatry Res* 2016;235:38-42

Tumova E, Sun W, Jones PH, Vrablik M, Ballantyne CM, Hoogeveen RC. The impact of rapid weight loss on oxidative stress markers and the expression of the metabolic syndrome in obese individuals. *J Obes* 2013;2013:729515

Tunçel ÖK, Sarısoy G, Bilgici B, Pazvantoglu O, Çetin E, Ünverdi E, Avcı B, Böke Ö. Oxidative stress in bipolar and schizophrenia patients. *Psychiatry Res* 2015;228(3):688-694

Tuon T, Valvassori SS, Borges JL, Luciano T, Trom CB, Silva LA, Quevedo JL, Souza CT, Lira FS, Pinho RA. Physical training exerts neuroprotective effects in the regulation of neurochemical factors in an animal model of Parkinson's disease. *Neuroscience* 2012; 227: 305–312

Um HS, Kang EB, Leem YH, Cho IH, Yang CH, Chae KR, Hwang DY, Cho JY. Exercise training acts as a therapeutic strategy for reduction of the pathogenic phenotypes for Alzheimer's disease in an NSE/APPsw-transgenic model. *Int J Mol Med* 2008; 22: 529–539

Upthegrove R, Chard C, Jones L, Gordon-Smith K, Forty L, Jones I, Craddock N. Adverse childhood events and psychosis in bipolar affective disorder. *Br J Psychiatry* 2015;206(3):191-197

Valkanova V, Ebmeier KP, Allan CL. CRP, IL-6 and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Affect Disord* 2013;150(3):736-744

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39(1):44-84

Vallès V, Van Os J, Guillamat R, Gutiérrez B, Campillo M, Gento P, Fañanás L. Increased morbid risk for schizophrenia in families of in-patients with bipolar illness. *Schizophr Res* 2000;42(2):83-90

Vega GB. Inmunología básica y su correlación clínica. Primera edición. México: Ed. Panamericana. 2014

Vina J, Borras C, Gomez-Cabrera MC, Orr WC. Part of the series: from dietary antioxidants to regulators in cellular signalling and gene expression. Role of reactive oxygen species and (phyto)oestrogens in the modulation of adaptive response to stress. *Free Radic Res* 2006;40(2):111-119

von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP; STROBE Initiative. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *Lancet* 2007;370(9596):1453-1357

Vrijzen JN, Becker ES, Arias-Vásquez A, van Dijk MK, Speckens A, Oostrom Iv. What is the contribution of different cognitive biases and stressful childhood events to the presence and number of previous depressive episodes? *Psychiatry Res* 2014;217(3):134-142

Wang AK, Miller BJ. Meta-analysis of Cerebrospinal Fluid Cytokine and Tryptophan Catabolite Alterations in Psychiatric Patients: Comparisons Between Schizophrenia, Bipolar Disorder, and Depression. *Schizophr Bull* 2017 [Epub ahead of print]

Weiser M, Burshtein S, Gershon AA, Marian G, Vlad N, Grecu IG, Tocari E, Tiugan A, Hotineanu M, Davis JM. Allopurinol for mania: a randomized trial of allopurinol versus placebo as add-on treatment to mood stabilizers and/or antipsychotic agents in manic patients with bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2014;16(4):441-447

Wen S, Cheng M, Wang H, Yue J, Wang H, Li G, Zheng L, Zhong Z, Peng F. Serum uric acid levels and the clinical characteristics of depression. *Clin Biochem* 2012;45(1-2):49-53

Whiteford HA, Degenhardt L, Rehm J, Baxter AJ, Ferrari AJ, Erskine HE et al. Global burden of disease attributable to mental and substance use disorders: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2013; 382: 1575–1586

Wiener C, Rassier GT, Kaster MP, Jansen K, Pinheiro RT, Klamt F, Magalhães PV, Kapczinski F, Ghisleni G, da Silva RA. Gender-based differences in oxidative stress parameters do not underlie the differences in mood disorders susceptibility between sexes. *Eur Psychiatry* 2014;29(1):58-63

Wilson CB, McLaughlin LD, Ebenezer PJ, Nair AR, Francis J. Valproic acid effects in the hippocampus and prefrontal cortex in an animal model of post-traumatic stress disorder. *Behav Brain Res* 2014;268:72-80

Winkelstein W. The first use of meta-analysis?. *Am J Epidemiol* 1998; 147(8)

Wium-Andersen MK, Ørsted DD, Nielsen SF, Nordestgaard BG. Elevated C-reactive protein levels, psychological distress, and depression in 73, 131 individuals. *JAMA Psychiatry* 2013;70(2):176-184

Woo YS, Rosenblat JD, Kakar R, Bahk WM, McIntyre RS. Cognitive deficits as a mediator of poor occupational function in remitted major depressive disorder patients. *Clin Psychopharmacol Neurosci* 2016; 14(1): 1-16

Xu Q, Anderson D, Lurie-Beck J. The relationship between abdominal obesity and depression in the general population: A systematic review and meta-analysis. *Obes Res Clin Pract* 2011;5:e267–360

Yanik M, Vural H, Tutkun H, Zoroğlu SS, Savaş HA, Herken H, Koçyiğit A, Keleş H, Akyol O. The role of the arginine-nitric oxide pathway in the pathogenesis of bipolar affective disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2004;254(1):43-47

Yoshimi N, Futamura T, Kakumoto K, Salehi AM, Sellgren CM, Holmén-Larsson J, Jakobsson J, Pålsson E, Landén M, Hashimoto K. Blood metabolomics analysis identifies abnormalities in the citric acid cycle, urea cycle, and amino acid metabolism in bipolar disorder. *BBA Clin* 2016;5:151-158

Yu HL, Liu WB, Wang T, Huang PY, Jie LY, Sun JZ, Wang C, Qian W, Xuan M, Gu QQ, Liu H, Zhang FL, Zhang MM. Difference in resting-state fractional amplitude of low-frequency fluctuation between bipolar depression and unipolar depression patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2017 Apr;21(7):1541-1550

Zelinski EL, Deibel SH, McDonald RJ. The trouble with circadian clock dysfunction: multiple deleterious effects on the brain and body. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 2014;40:180–101

Zhang XY, Yao JK. Oxidative stress and therapeutic implications in psychiatric disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2013;46:197-199

Zhang M, Zhao Z, He L, Wan C. A meta-analysis of oxidative stress markers in schizophrenia. *Sci China Life Sci* 2010;53(1):112-124

IX. ANEXOS

9.1. ANEXO 1: Artículo publicado en *Journal of Clinical Psychiatry*.