



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA

**ATIVIDADE *NATURAL KILLER* EM PACIENTES COM
DEPRESSÃO MAIOR**

GABRIEL JOSÉ CHITTÓ GAUER

ORIENTADOR: PROF. DR. CARLOS ALBERTO VON MÜHLEN

TESE DE DOUTORADO

Porto Alegre, novembro de 1995

PUCRS/BCE



0-094.447-8

FICHA CATALOGRÁFICA

G267a

Gauer, Gabriel José Chittó

Atividade *Natural Killer* em pacientes com Depressão Maior /

Gabriel José Chittó Gauer. - Porto Alegre, 1995.

159 fls.

Tese (doutorado) - Fac. de Medicina, PUCRS

CDD: 616.89

CDU: 616.89(043)

616.89:612.017.1(043)

616.891:612.017.1(043)

ÍNDICES PARA O CATÁLOGO SISTEMÁTICO:

Psiquiatria - Tese- 616.89(043)

Psiquiatria-Imunologia - Tese - 616.89:612.017.1(043)

Psiconeuroimunologia - Tese- 616.891:612.017.1(043)

(Bibliotecária responsável : Helena Maria Maciel - CRB 10/851)

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Carlos Alberto von Mühlen pelo estímulo à pesquisa imunológica, pela determinação em me auxiliar na busca da qualidade do trabalho realizado e pela eficiente orientação.
- A Prof. Dra. Vivian Mary D. B. Rumjanek pelo modelo de pessoa dedicada à ciência e pela possibilidade de compartilhar seu conhecimento na área da atividade NK.
- Ao Serviço de Medicina Nuclear, na pessoa do seu chefe Dr. Osvaldo Estrela Anselmi, à chefe do laboratório *in vitro* Clarice Luz e as funcionárias Rosa Maria de Britto Selbach e Clair Lima Subtil, pela eficiente ajuda na realização dos ensaios NK e das medidas fisiológicas estudadas.
- À Prof. Dra. Nance Beyer Nardi pelo auxílio e orientação na cultura das células K562.
- À Prof. Dra. Lúcia M. R. Silla pelas informações a propósito da atividade NK que me auxiliaram na elaboração do projeto de pesquisa.
- Ao acadêmico de biologia Moisés E. Bauer pela amizade e auxílio na elaboração das figuras e textos utilizados para publicações e na tese.
- A Dra. Denise G. von Mühlen pela ajuda nas análises estatísticas.
- Ao Dr. Henrique Staub pela leitura crítica.
- À Bibliotecária Helena Maria Maciel pela elaboração da ficha catalográfica e auxílio nas referências bibliográficas.
- Aos acadêmicos de medicina da PUCRS Ricardo de O. Silveira, Kleber Rodrigues, Michelle I. Oliveira, Eunice Madana, Lúcia G. Pizzato, Warná M. Baptista pelo auxílio na seleção de controles e conservação do material de laboratório.
- Ao acadêmico de medicina da UFRGS Jorge Preger pelo auxílio na seleção de controles e conservação do material de laboratório.
- À Cloé Fernandes pelo auxílio no cultivo das células K562.
- À chefe do laboratório de hematologia Terezinha M. Paz pela colaboração no início do desenvolvimento do ensaio NK.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACO - Contraceptivos orais	LH - hormônio luteinizante
ACTH - hormônio adrenocorticotrófico	LC - locus coeruleus
ANK - atividade <i>Natural Killer</i>	LRFH - fator liberador do hormônio luteinizante
AVP - arginina vasopressina	MADRS - escala psiquiátrica de depressão de Montgomery-Asberg
BZD - benzodiazepínico	NK - <i>Natural Killer</i>
Con A - concanavalina A	OT - ocitocina
CRH - hormônio liberador da corticotrofina	PHA - fitohemaglutinina
CHP - complexo de histocompatibilidade principal	PWM - <i>Pokeweed</i> Mitogênico
DSM-III-R - Manual Estatístico e Diagnóstico dos Transtornos Mentais, 3ª ed. - Revisada	POMC - pró-opiomelanocortina
DM - depressão maior	PRL - prolactina
FNT - fator de necrose tumoral	REPLM - resposta ao estímulo da proliferação linfocitária induzida por mitógenos
FSH - hormônio folículo-estimulante	RPMI - meio de cultura
GH - hormônio do crescimento	SI - sistema imunológico
HPA - eixo hipotálamo-pituitário-adrenal	SIDA - síndrome de imunodeficiência adquirida
ICV - intra-cérebro-ventricular	SNA - sistema nervoso autônomo
Ig - imunoglobulinas (IgG, IgM, IgE, IgA, IgD)	SNC - sistema nervoso central
IGF-1 - fator do crescimento semelhante à insulina	TSD - teste de supressão do cortisol pela dexametasona
INF - α, β, γ - interferons alfa, beta, gama	TSH - hormônio estimulante da tireóide
ILs - interleucinas (IL-1, IL-2...IL-12)	VIP - peptídeo intestinal vasoativo
K562 - linhagem celular tumoral	
LAK - células NK ativadas <i>in vitro</i> por linfocinas	
LES - lúpus eritematoso sistêmico	

PUBLICAÇÕES

Partes deste trabalho foram publicadas conforme as referências abaixo. As publicações são apresentadas nos anexos deste trabalho de acordo com sua numeração em romanos.

I. GAUER, G.J.C., SILLA, L.M.R.S., Von MÜHLEN, C.A. Desordem Depressiva Maior e Atividade das Células *Natural Killer*. **Rev. Psiq. do R.G.S.**, v.14, p.169-179, 1992.

II. BAUER, M.E., GAUER, G.J.C., NARDI, N.B. Depressão Maior e atividade do sistema imunológico. **Rev. ABP-APAL**, v.15, p.87-94, 1993.

III. SILVEIRA, R.O., GAUER, G.J.C. Depressão e Imunidade: Uma Breve Análise Descritiva e Metodológica. **ACTA Médica da PUCRS**, p.411-426, 1994.

IV. OLIVEIRA, G.S., GAUER, G.J.C. Atividade do sistema imune e alterações do eixo hipotalâmico hipofisiário adrenal em pacientes com depressão maior. **Rev. Med. PUCRS**, v.4, p.27, 1994.

V. PREGER, J., GAUER, G.J.C., Von MÜHLEN, C.A. Sistema Neuroendócrino e Atividade Imune no Estresse e na Depressão. **Psiqu. Biológica**, v.3, p.14-24, 1995.

VI. BAUER, M.E., et al. Evaluation of Immune Parameters in Depressed Patients. **Life Scienc.**, v.57, p.665-674, 1995.

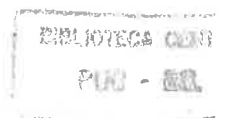
VII. GAUER, G.J.C., et al. Atividade *Natural Killer*: implicações na saúde e na doença humanas. **Rev. AMRIGS**, v.39, p.75-81, 1995.

VIII. RODRIGUEZ, K., et al. Aspectos Biológicos na Etiologia da Depressão Maior. **ACTA Médica da PUCRS**, p.571-585, 1995.

CONFERÊNCIAS E APRESENTAÇÕES EM CONGRESSOS BASEADAS NESTE TRABALHO

1. "DEPRESSÃO E IMUNIDADE". Palestra realizada na Associação Gaúcha de Medicina Psicossomática . Porto Alegre - RS, 31 de maio de 1993.
2. MAJOR DEPRESSION AND IMMUNE SYSTEM ACTIVITY. Trabalho apresentado no XVIII Congresso Brasileiro de Imunologia. Águas de Lindóia - SP, 19 a 22 de setembro de 1993.
3. DEPRESSÃO MAIOR E ATIVIDADE DO SISTEMA IMUNE. Trabalho apresentado no V Salão de Iniciação Científica da UFRGS. Porto Alegre - RS, 04 a 08 de outubro de 1993.
4. EVALUATION OF IMMUNE PARAMETERS IN MAJOR DEPRESSIVE PATIENTS. Trabalho apresentado no International Symposium Immunoneuroendocrine Interactions in Autoimmune and Infectious Diseases. Rio de Janeiro - RJ, 24 a 28 de abril de 1994.
5. EVALUATION OF IMMUNE VARIABLES IN DEPRESSED PATIENTS. Trabalho apresentado no II Encontro Gaúcho de Imunologia. Porto Alegre - RS, 08 de setembro de 1994.
6. Contribuições Recentes na Área de Psiquiatria Biológica. Conferência no XIII Congresso Brasileiro de Psiquiatria. Pousada do Rio Quente - Goiás, 21 a 24 de setembro de 1994.
7. "Depressão Maior", "Aspectos Biológicos da Etiologia". Palestra no 3^o Encontro Regional da Sociedade de Psiquiatria do RS e 2^o Encontro Regional de Psiquiatria de Santa Maria. Santa Maria - RS, 15 de outubro de 1994.
8. Conferência na I^o Jornada Gaúcha de Estresse, Câncer e Imunidade - Novos desenvolvimentos biopsicossociais e psiconeuroimunológico. Santa Maria - RS, 2 a 4 de junho de 1995.
9. Atividade *natural killer* em pacientes com depressão maior. Conferência na disciplina de Imunologia Avançada do Curso de Pós-Graduação em Medicina da PUCRS. Porto Alegre - RS, outubro de 1995.

Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Medicina Nuclear e no Ambulatório de Psiquiatria do Hospital São Lucas da PUCRS, subvencionado pela Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da PUCRS (PROPESP-PUCRS), com uma bolsa de iniciação científica e, parcialmente, pela Fundação de Amparo à Pesquisa do RS (FAPERGS), com bolsa de doutorado. Número: 92.60075.1.



RESUMO

A depressão maior (DM) constitui um problema importante para a saúde pública, onde o risco de desenvolver a doença na população adulta masculina varia de 2 a 3%, podendo atingir valores 2 a 3 vezes maiores nas mulheres. A associação entre DM e atividade Natural Killer (NK) alterada foi repetidamente sugerida, mas dados experimentais têm revelado resultados contraditórios. Com o objetivo de contribuir para a elucidação do tema, pacientes com DM subtipo unipolar e controles sadios foram avaliados quanto à atividade NK. A mensuração da atividade NK foi realizada através do ensaio padrão que utiliza a liberação de ^{51}Cr e células alvo K562, uma linhagem celular derivada de eritroleucemia. Foram excluídos pacientes que apresentassem doenças que pudessem estar claramente associadas a alterações na imunidade, como infecções ativas, câncer, imunodeficiências ou doenças auto-imunes. O diagnóstico psiquiátrico foi feito com o uso do Inventário da DSM-III-R (avaliador com kappa = 0,875 para DM). Com o objetivo de controlar variáveis que pudessem influir nos achados, realizamos um pareamento do sexo, idade, raça, nível sócio-econômico, tabagismo, uso de contraceptivos orais, história menstrual e atividade física. Para verificar se as possíveis alterações na atividade NK se deviam a variações ponderais dos pacientes, também foram avaliadas variáveis nutricionais (ferritina, ácido fólico, vitamina B₁₂, transferrina, albumina, hemoglobina e índice de massa corporal). A influência da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) na atividade NK foi avaliada pela medida do cortisol sérico. Os pacientes foram divididos em leves, moderados e graves de acordo com a severidade do seu quadro clínico. A severidade dos sintomas depressivos foi avaliada pela escala de depressão MADRS. Foi encontrada uma atividade NK significativamente reduzida em pacientes quando comparados com os controles ($p = 0,001$). No entanto, não foi encontrada uma relação entre os níveis séricos de cortisol e a atividade NK. Nenhuma alteração

significativa foi encontrada no índice de massa corporal e nas outras variáveis nutricionais. Também nenhuma variável clínica se relacionou com a atividade NK. Somente os pacientes com história familiar de doença mental apresentaram uma menor atividade NK ($p = 0,03$). Baseados nestes dados podemos concluir que a atividade NK encontra-se diminuída nos pacientes com DM em relação aos controles e que fatores genéticos estejam possivelmente associados com a etiologia da DM e as alterações na atividade NK.

SUMMARY

Major Depression (MD) poses a great public health problem, where the prevalence in the male adult population varies from 2% to 3%, reaching values 2-3 times as high in females. The association between MD and altered Natural Killer (NK) activity has been repeatedly suggested, but experimental data show contradictory results. NK activity assays were performed in patients with DM, unipolar subtype, and healthy subjects. The NK activity was assayed in a standard 4-hour ^{51}Cr release assay, using as target the K562 human erythroleukemia-derived cell line. Patients were free from medical disorders clearly associated with immunity disorders such as ongoing infections, cancer, immunodeficiencies and autoimmune disease. The psychiatric diagnoses were made using the DSM-III-R Checklist ($\kappa = 0,875$ for the evaluator). We also measured nutritional parameters (ferritin, folic acid, vitamin B₁₂, transferrin, albumin, hemoglobin, and index of body mass) and integrity of the adrenal axis (cortisol). A rigorous pairing was employed (gender, age, race, socio-economical levels, tobacco, contraceptive use, menses and physical activity), to exclude external factors influencing natural immunity. NK activity was significantly lower in patients as compared to healthy controls ($p = 0,001$). A relationship between NK activity and measure of hypothalamic-pituitary-axis function, such as baseline cortisol secretion, was not found in patients. No significant changes were observed in the index of body mass and others nutritional variables. Patients with familial history of mental disease presented lower NK activity ($p = 0,03$). This finding may suggest that the same genetic factors are presumably associated to the etiology of depression and NK activity changes.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	6
2.1. <i>A Atividade NK: Mecanismos de Ação, Fisiologia e Funções na Saúde e na Doença</i>	6
2.1.1. Introdução.....	6
2.1.2. Mecanismos de Ação das Células NK.....	10
2.1.3. Deficiência na Atividade NK.....	17
2.1.3.1. Atividade NK e Câncer	18
2.1.3.2. Atividade NK e Risco de Desenvolvimento de Neoplasia	20
2.1.3.3. Atividade NK como um Fator de Prognóstico em Pacientes com Neoplasias.....	21
2.1.3.4. Atividade NK e Doenças Virais.....	22
2.1.3.5. Atividade NK e Doenças Auto-Imunes.....	23
2.1.4. Atividade NK nos Tecidos	24
2.1.5. Modulação da Atividade NK.....	25
2.1.5.1 Modulação da Atividade NK por Interleucina 2.....	25
2.1.5.2 Modulação da Atividade NK por Peptídeos Opióides	28
2.1.6. Atividade NK em Intervenções Terapêuticas.....	29
2.1.6.1 Potencialização da Atividade NK <i>In Vivo</i>	30
2.1.6.2 Transferência de Células NK	31
2.1.7. Conclusões	32
2.2. <i>Atividade do Sistema Imune na Depressão Maior</i>	32
2.2.1. Psiconeuroimunologia.....	33
2.2.2. Alterações da Imunocompetência Durante a Depressão.....	36
2.2.2.1. Imunidade Celular	36

2.2.2.2. Imunidade Humoral	38
2.2.3. Estudos Epidemiológicos.....	39
2.2.4. Fatores que Alteram a Ação Psiconeuroimunológica	41
2.2.5. Conclusões	45
→ 2.3. <i>Depressão e Imunidade: Análise da Literatura</i>	46
2.3.1. Algumas Deficiências Metodológicas dos Trabalhos em Depressão Maior e Atividade Imune	48
2.3.2. Conclusões	57
2.4. <i>Neuropeptídeos e Atividade Imune</i>	58
2.4.1. Sistema Neuroendócrino e Atividade Imune no Estresse e na Depressão	58
2.4.2. Alterações do Eixo HPA no Estresse e na Depressão	61
2.4.3. Mecanismos e Sistemas Envolvidos nas Alterações Imunológicas do Estresse e da Depressão	65
2.4.3.1 Glicocorticóides, Eixo HPA e Atividade do Sistema Imune	67
2.4.3.2 Sistema Nervoso Autônomo e Atividade do Sistema Imune	70
2.4.4. O CRH como Modulador Comportamental.....	74
2.4.5. Conclusões	79
3. OBJETIVOS	83
3.1. <i>Objetivo Geral</i>	83
3.2. <i>Objetivos Específicos</i>	83
4. MATERIAL E MÉTODOS	85
4.1. <i>Local do estudo</i>	85
4.2. <i>Definição de casos</i>	85
4.2.1. Critérios de Exclusão.....	92
4.3. <i>Definição de controles</i>	93
4.4. <i>Delineamento do Estudo</i>	94
4.5. <i>Avaliação da Atividade NK</i>	95
4.5.1. Coleta de Células Mononucleares	96

4.5.2. A Execução do Ensaio de Citotoxicidade NK	96
4.5.2.1. Tratamento das Células Efetoras	97
4.5.2.2. Tratamento das Células Alvo (K562)	98
4.5.2.3. Montagem do Ensaio	99
4.5.2.4 Finalização do Ensaio.....	99
4.5.2.5 Definindo Condições Ótimas para o Ensaio	101
4.6. <i>Análise estatística</i>	102
5. RESULTADOS	104
5.1. <i>Características da Amostra</i>	104
5.2. <i>Resultados da Atividade NK</i>	111
5.3. <i>Outras Associações</i>	113
6. DISCUSSÃO	115
7. CONCLUSÕES	129
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	131
9. ANEXOS	151

1. INTRODUÇÃO

Muitos achados importantes surgiram oriundos dos recentes estudos na área da psiconeuroimunologia, indicando que os sistemas nervoso central (SNC), endócrino e imunológico (SI) estão intimamente relacionados. Num primeiro momento a preocupação dos investigadores dizia respeito à relevância da função imune na manutenção da saúde e desenvolvimento de doenças físicas. De acordo com este ponto de vista, as alterações na imunocompetência relacionadas ao estresse e à depressão tornam-se importantes na medida em que contribuem para a patogênese de condições relacionadas à imunidade, como infecções, câncer e doenças auto-imunes. Investigações nessas áreas podem escolher como foco de atenção um modelo de doença, avaliando se certos estressores e/ou doenças psiquiátricas determinam alterações específicas na resposta imune, com conseqüente aumento em incidência ou exacerbação clínica de uma doença particular.

Há diversos estudos deste tipo na literatura. MEYER e HAGGERTY (1962) procuraram avaliar alguns dos fatores responsáveis pela variabilidade na predisposição individual às doenças estreptocócicas orofaríngeas (faringite e amigdalite agudas). Cem pessoas pertencentes a 16 famílias de mesmos padrões sociais foram acompanhadas por um período de 12 meses, a intervalos de 3 semanas, por meio de avaliação clínica e culturas de orofaringe. Foi verificado que um quarto de todas as manifestações clínicas por estes germes seguiu-se a crises

familiares que incluíam perda de parentes, doenças em membros da família, acidentes, perda de emprego, e outros. ADER et al. (1975) observaram a supressão condicionada da função imune pelo uso de um imunossupressor (ciclofosfamida) associado a bebida contendo substância de gosto muito particular (sacarina). Os animais recuperavam-se da imunossupressão pela suspensão da mistura (bebida com sacarina contendo ciclofosfamida), mas a ela retornavam quando era administrada apenas a bebida com sacarina, caracterizando, portanto, o surgimento de uma supressão do sistema imune através de mecanismos de condicionamento biológico. BARTROP et al. (1977) estudaram 26 indivíduos cujos cônjuges estavam gravemente doentes. Compararam a resposta à estimulação da proliferação linfocitária destes indivíduos com controles sadios na primeira, terceira e sexta semana após a morte do cônjuge, encontrando que na sexta semana os indivíduos enlutados apresentavam estes parâmetros imunes significativamente inferiores aos controles. KASL et al. (1979) observaram que cadetes militares em épocas de grande pressão acadêmica eram mais propensos a contrair mononucleose infecciosa do que outros cadetes pertencentes ao grupo controle. SHEKELLE et al. (1981) estudaram prospectivamente 2000 homens eletricitários e encontraram que aqueles indivíduos com altos escores na escala de depressão do Inventário Multifásico de Personalidade de Minnesota (MMPI) tinham o dobro de chance de morrer por tumores malignos do que os colegas, mesmo quando eram controlados outros fatores de risco como o fumo. KIECOLT-GLASER et al. (1984) observaram um decréscimo na atividade das células *Natural Killer* (NK) em estudantes de medicina um mês antes e durante as provas finais. DORIAN et al. (1987), ao avaliarem médicos residentes no período de provas, encontraram que os indivíduos mais estressados apresentavam atividade NK e níveis plasmáticos de interleucina-2 (IL-2) mais baixos, bem como mais infecções respiratórias nas 6 semanas seguintes às provas. LEVY et al. (1989) encontraram que adultos com atividade NK

persistentemente reduzida tinham como característica comum a dificuldade em lidar com os estressores do dia a dia. Esta área de interesse em relação à imunidade, com foco na relevância clínica, está em consonância com o interesse nas interações entre o corpo e a mente e se constituem no fundamento da medicina psicossomática.

Uma segunda área de investigação, cuja via de compreensão se dá de forma inversa à anterior, parte do fato de que distúrbios orgânicos ou medicamentos podem causar quadros clínicos psiquiátricos. São exemplos clássicos o hipotireoidismo, a hipercortisolemia e o uso de medicações anti-hipertensivas, como a reserpina e a clonidina, poderem determinar quadros secundários de transtornos do humor (BIRD e HARRISON, 1991; TALBOTT et al., 1992). Em relação as alterações imunológicas, sabemos, por exemplo, que certas doenças auto-imunes como o lúpus eritematoso sistêmico (LES) e a síndrome de anticorpos anti-fosfolípidios com frequência são acompanhadas de quadros depressivos secundários (KRUPP, 1991; BREY, 1993).

Uma terceira importante área de interesse nas interações entre o cérebro e o SI se refere ao entendimento básico dos mecanismos envolvidos na integração neuro-imune. Esta área está diretamente relacionada à neuroimunobiologia básica e utiliza modelos experimentais que avaliam os fenômenos imunes e neuronais. Um exemplo hipotético de estudo nesta área poderia ser mensurar o efeito da produção de interleucina na reciclagem (*turnover*) de norepinefrina no hipotálamo. Não existe uma aplicação clínica direta destes esforços de pesquisa que podem ser

considerados pré-clínicos ou ciência básica, o que se relaciona mais diretamente com a homeostase e se opõe à questão propriamente das doenças (MILLER et al., 1989).

Uma quarta área de estudos trata da integração neuro-imune através da utilização das alterações no funcionamento imunológico, durante distúrbios psiquiátricos, como um modelo do funcionamento do SNC a nível periférico. Pelo fato de os linfócitos e os neurônios compartilharem receptores de superfície para múltiplas moléculas, inclusive neurotransmissores, peptídeos e hormônios, em algumas situações a função linfocitária pode ser um espelho da função neuronal. Além disto, as células do cérebro humano são relativamente inacessíveis antes do *post-mortem*, enquanto os linfócitos são prontamente disponíveis no sangue periférico e crescem com relativa facilidade em meio de cultura, ao contrário do neurônio. O principal interesse nesta linha de investigação é a descoberta da possível patogênese dos distúrbios psiquiátricos através de fenômenos imunológicos (MILLER et al., 1989). Esta se torna mais importante com as recentes descobertas a propósito do envolvimento dos neurotransmissores e, em especial, do funcionamento dos receptores pós-sinápticos, nas doenças mentais (GRAEFF e BRANDÃO, 1993).

A quinta e última área de investigação de interesse diz respeito à influência dos psicofármacos no SI. Na sua atividade diária o clínico pode se deparar com pacientes acometidos por neoplasias, ou infecções bacterianas ou virais, como a Síndrome de Imunodeficiência

Adquirida (SIDA), e para as quais necessita utilizar psicofármacos. Nessas situações surge a questão de qual a influência dos psicofármacos, como antidepressivos e antipsicóticos, para o já fragilizado sistema de defesa do organismo daquele paciente. Diversos estudos examinaram a influência *in vitro* direta dos antidepressivos e, em geral, foi observado um efeito inibitório (MILLER e LACKNER, 1989), o mesmo ocorrendo com os antipsicóticos (LA ROCQUE et al., 1995).

As questões aqui levantadas justificam a integração dos conhecimentos da imunologia e das neurociências que fazem parte deste novo campo de investigação científica, a psiconeuroimunologia. Nos próximos tópicos são abordadas estas relações entre o funcionamento psíquico, sistema neuroendócrino e a atividade do sistema imune, com ênfase na importância da imunidade inata neste processo de interrelação.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A ATIVIDADE NK: MECANISMOS DE AÇÃO, FISIOLOGIA E FUNÇÕES NA SAÚDE E NA DOENÇA

2.1.1. INTRODUÇÃO

O Sistema Imune possui componentes humorais e celulares. O sistema humoral defende o corpo primariamente contra bactérias e moléculas tóxicas. Suas armas são os anticorpos, ou imunoglobulinas, sintetizadas e secretadas pelos linfócitos B, com especificidade antigênica. Há proliferação clonal após contato com o antígeno, com algumas células permanecendo como de memória. Estas responderão mais rapidamente ao mesmo antígeno num segundo encontro. Porém, a grande maioria se tornará células plasmáticas que irão secretar uma grande quantidade de anticorpos que se ligarão a antígenos. As toxinas serão precipitadas ou neutralizadas por esta ligação. No caso de uma célula estranha a ligação do anticorpo dará origem a uma cascata de reações na superfície celular, envolvendo um grupo de proteínas séricas denominadas de complemento. O resultado final da ação destas proteínas é a morte celular.

A mesma célula precursora que dá origem ao linfócito B é ancestral de uma variedade familiar, os linfócitos T que, juntamente com os monócitos e macrófagos, formam a base do sistema imune celular. Algumas células T são denominadas células auxiliares e outras supressoras, modulando tanto a atividade humoral como a atividade celular, principalmente

através da secreção de mensageiros químicos denominados citocinas. Uma das principais células efectoras do sistema celular é o linfócito T citotóxico e seu alvo principal são células infectadas por vírus. Como no caso dos linfócitos B, a função dos linfócitos T depende em primeira instância de um adequado reconhecimento do alvo apropriado. As células T apresentam na sua superfície receptores específicos que reconhecem e se ligam a antígenos de superfície celular. As células T são, todavia, mais seletivas que as células B. Elas reconhecem e se ligam a um antígeno quando este é apresentado por um grupo de moléculas superficiais coletivamente denominadas como Complexo de Histocompatibilidade Principal (CHP).

Uma outra forma de imunidade do tipo celular não restrita pelo CHP, e cujos receptores são menos discriminativos, é exercida pelas células com atividade NK. Esta forma de defesa do organismo faz parte do sistema imune inato, conforme é visto na tabela 1. Em realidade não se encontra bem estabelecido o quanto essa atividade é realizada por células distintas ou, talvez, em determinadas circunstâncias, pelo mesmo tipo celular em diferentes momentos biológicos. O mais provável é que exista uma população heterogênea de linfócitos citotóxicos envolvidos nessa atividade. Também vários linfócitos podem se apresentar com a morfologia de Linfócito Granular Grande, ao qual é normalmente atribuída a atividade NK (PODAK, 1993). Por este motivo, a filosofia seguida no presente trabalho é de se referir à atividade NK e, sempre que possível, evitar o uso do termo “células NK”. Também optamos pelo termo em língua inglesa de atividade *Natural Killer* ao invés de sua tradução para o português de atividade Assassina Natural,

devido ao mesmo já ser consagrado na literatura (RODRIGUEZ, 1987; WHITESIDE e HERBERMAN, 1994).

TABELA 1: Componentes do Sistema Imune Inato

<p>Defesas bioquímicas: lisozima, secreções sebáceas, organismos comensais.</p> <p>Defesas físicas e bioquímicas: pele , acidez gástrica.</p> <p>Mecanismos internos: ativação do complemento, proteínas de fase aguda, interferons.</p> <p>Defesa Celular: fagócitos (neutrófilos, monócitos, macrófagos, polimorfonucleares) e <u>células com atividade NK</u> (Citotoxicidade).</p>

As células com atividade NK são comumente descritas como sendo um pequeno grupo de linfócitos (5-15% dos linfócitos circulantes) grandes, de citoplasma granular, presentes no sangue periférico e que mediam funções importantes na saúde e doença humanas. As células maduras expressam o fenótipo CD3⁻, CD56⁺, CD16⁺ e CD2^{dim} e constituem a maioria das chamadas *null cells*, que não apresentam marcadores de células T ou B (WHITESIDE e HERBERMAN, 1994). Embora as células com atividade NK tenham sido descritas inicialmente em camundongos e humanos, células efectoras semelhantes foram isoladas de diversos vertebrados.

Além disso, células semelhantes às com atividade NK têm sido descritas em animais inferiores na escala filogenética como as estrelas-do-mar e anelídeos, que não possuem linfócitos T ou B. Tais dados levam a se pensar que muito provavelmente o desenvolvimento da atividade NK precedeu a evolução do sistema imune adaptativo (ROBERTSON e RITZ, 1990).

A atividade NK tem como alvo principal a destruição espontânea de tumores ou células infectadas por vírus, sendo considerada como de papel essencial na vigilância imune contra tumores e agentes infecciosos. Como citado anteriormente, a atividade NK não é restrita na sua função pelo CHP e envolve a destruição de uma ampla variedade de tumores humanos sólidos, células leucêmicas e células-alvo infectadas por vírus. Uma imunidade natural ausente ou comprometida, o que é mensurado *in vitro* pela atividade NK, tem sido encontrada em associação com o desenvolvimento e progressão de câncer, infecções virais agudas e crônicas como a SIDA, síndrome da fadiga crônica, várias síndromes de imunodeficiência e certas doenças auto-imunes (WHITESIDE e HERBERMAN, 1994). Além disto, uma baixa atividade NK também tem sido descrita em pacientes psiquiátricos com Depressão Maior (GAUER et al., 1992, 1995) Portanto, uma imunidade natural intacta, evidenciada por níveis normais de atividade NK, possui um importante papel na manutenção da saúde. Ao contrário, déficit na imunidade natural, refletido pela diminuição ou ausência de atividade NK, freqüentemente é um sinal de doença e pode ser ainda um preditor precoce da suscetibilidade para determinadas enfermidades. Evidências recentes indicam que esta função pode estar envolvida na patogênese de algumas doenças humanas e que a

mensuração das células NK pode servir como um marcador útil do prognóstico, bem como ser um importante parâmetro no monitoramento imunológico dos efeitos de uma imunoterapia.

2.1.2. MECANISMOS DE AÇÃO DAS CÉLULAS NK

Por muito tempo ficou a dúvida do modo pelo qual as células responsáveis pela atividade NK fazem seu trabalho, destruindo células-alvo e, ao mesmo tempo, poupando células saudáveis. Após se ligar a uma vítima apropriada, elas tomam como alvo a superfície das mesmas. Mais especificamente, elas “disparam” moléculas de uma proteína letal e estas criam orifícios na superfície da membrana das células-alvo, formando canais semelhantes a poros. Devido à entrada de água por mecanismo osmótico a célula alvo edemacia e morre.

Alguns trabalhos têm demonstrado que as proteínas formadoras de poros (coletivamente denominadas de perforinas) fazem parte do armamento de pelo menos dois tipos de células imunocompetentes, as células T citotóxicas e as com atividade NK. YOUNG e COHN (1988) encontraram, ainda, uma proteína similar no eosinófilo e outra na ameba, esta última responsável por disenteria severa. Além disto, as proteínas formadoras de poros apresentam uma semelhança imunológica às proteínas do complemento C6, C7, C8 e C9.

Os mecanismos de ação das células com atividade NK somente foram elucidados recentemente. Sabia-se que ocorre a formação de um conjugado quando o linfócito e sua célula-alvo entram em contato. Então, ocorre um processo de dano à célula-alvo, o que culmina com sua destruição. O conjugado é desfeito e o linfócito inicia um novo ciclo de destruição celular, como é visto na figura 1.

A hipótese de que o linfócito destruía através de uma espécie de dano à membrana plasmática da célula alvo se baseou na observação de que moléculas radioativas introduzidas como marcadores dentro da célula saíam rapidamente para o meio extra-celular após elas serem danificadas. Observou-se ainda que a membrana era permeável somente a marcadores de determinadas dimensões, sugerindo que o dano à membrana deveria ter a forma de poros ou orifícios, o que foi confirmado através da microscopia eletrônica. Posteriormente, também através da microscopia eletrônica, foram demonstradas diversas organelas elétron-densas no citoplasma dos linfócitos. Estas pareciam armazenar grânulos, como é comum nas células secretoras. Sabe-se que estes grânulos costumam ser um eficiente método de armazenamento de substâncias sintetizadas pela célula, de modo que grandes quantidades podem ser liberadas no momento necessário. Na liberação, os grânulos se movem para a periferia celular, fundindo-se à membrana plasmática e, por exocitose, liberam seu conteúdo. Estes grânulos quando isolados, e em um meio que contenha cálcio, são capazes de matar células sanguíneas e células tumorais. Tais células danificadas apresentam lesões quase indistinguíveis das produzidas pelas células com atividade NK (YOUNG e COHN, 1988).

Perforinas, são encontradas nos linfócitos T citotóxicos e células com atividade NK. Sua massa molecular é de cerca de 70 kDa. Uma vez que as células sejam expostas às perforinas, na presença de íons cálcio, serão lisadas em poucos minutos. Entretanto, se os íons cálcio são adicionados às perforinas antes de fazerem contato com a célula, sua atividade destrutiva é abolida. Este efeito aparentemente paradoxal nos remete à questão de como as perforinas atuam para destruir a célula.

A resposta é que as moléculas de 70 kDa secretadas pelo linfócito se inserem na membrana da célula-alvo, conforme é demonstrado na figura 2. Então, na presença de íons cálcio, as moléculas individuais (monômeros) se polimerizam. Tais polímeros podem assumir diversas formas, porém, em condições ideais, o produto final lembra um cilindro. Num corte transversal com microscopia eletrônica lembra um anel, e visto longitudinalmente tem o aspecto de duas linhas paralelas. Para que as perforinas possam danificar as células alvo a polimerização mediada pelo cálcio deve ocorrer completamente dentro da membrana celular. A razão é que somente na forma de monômero as perforinas podem se inserir na membrana.

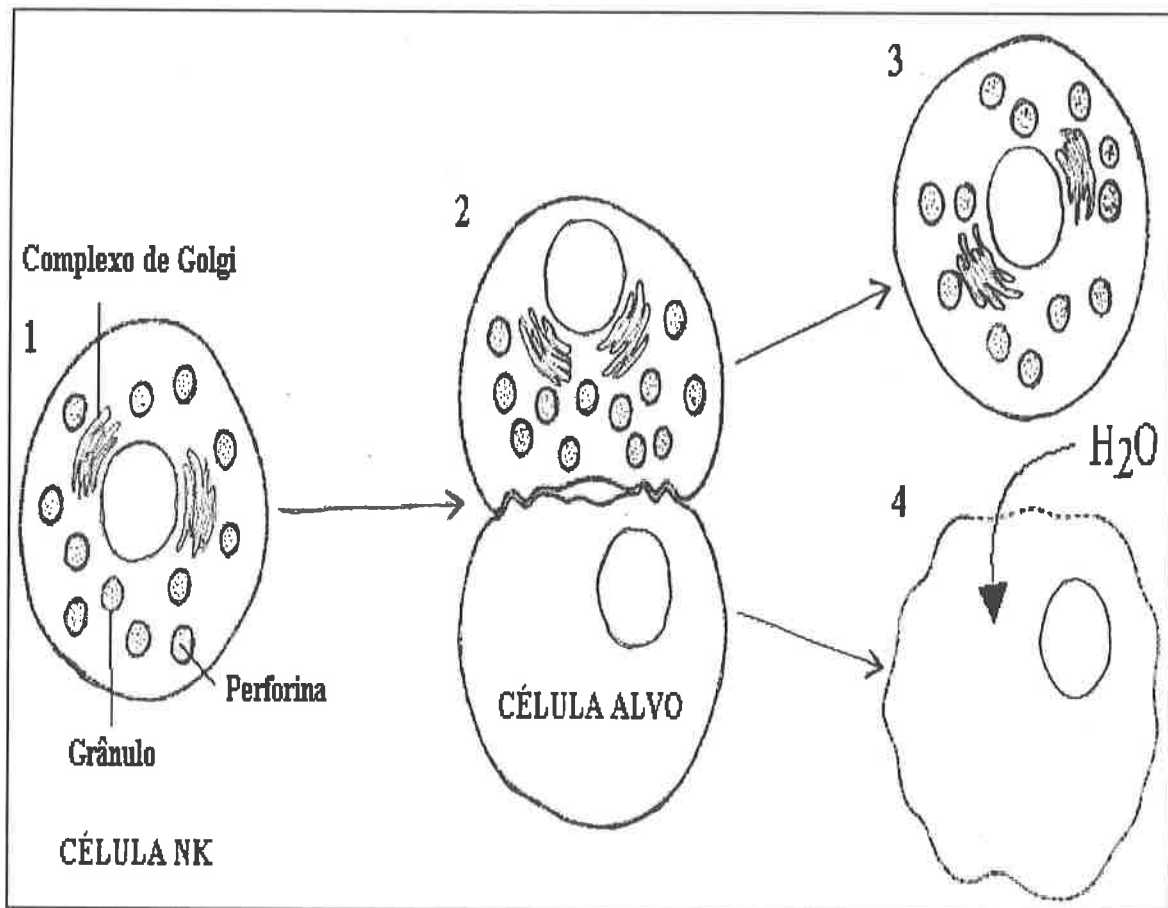


FIGURA 1. ESTÁGIOS DO PROCESSO DE DESTRUIÇÃO CELULAR PROMOVIDO POR CÉLULAS COM ATIVIDADE NK. A Célula com atividade NK (1) reconhece a célula-alvo e entra em contato com a mesma (2). Após o contato os grânulos celulares e o Complexo de Golgi são orientados em direção à célula-alvo, as perforinas são secretadas e formam poros em sua membrana. A célula com atividade NK abandona seu alvo à procura de novas células (3) e a célula danificada morre em minutos (4).

Se a polimerização ocorrer em solução, o polímero resultante não pode entrar na membrana e destruir o próprio linfócito. Qualquer perforina que vá para o espaço extracelular ou

corrente sangüínea, onde o cálcio é abundante, imediatamente se polimeriza e se torna inativa. Elimina-se, desta forma, a possibilidade de dano às células sadias vizinhas.

Na célula-alvo, todavia, os poros tubulares resultantes da polimerização determinam rápidas alterações. A membrana plasmática de uma célula viva normalmente mantém dentro da célula proteínas e outras grandes moléculas e segregam diferentes íons, mantendo alguns dentro e outros fora do espaço intracelular. A segregação de íons positivos e negativos determina um potencial elétrico. Quando a membrana vaza, íons e água tendem a fluir para seus gradientes eletroquímicos buscando um equilíbrio, resultando numa quebra do potencial de membrana. Se os orifícios na membrana são de tamanho limitado, existe um efeito adicional, conhecido como **Efeito Donnan**. As moléculas maiores não saem do interior da célula, porém a água e sal do fluído extracelular adentram o meio intracelular. Como resultado, a célula edemacia e se rompe.

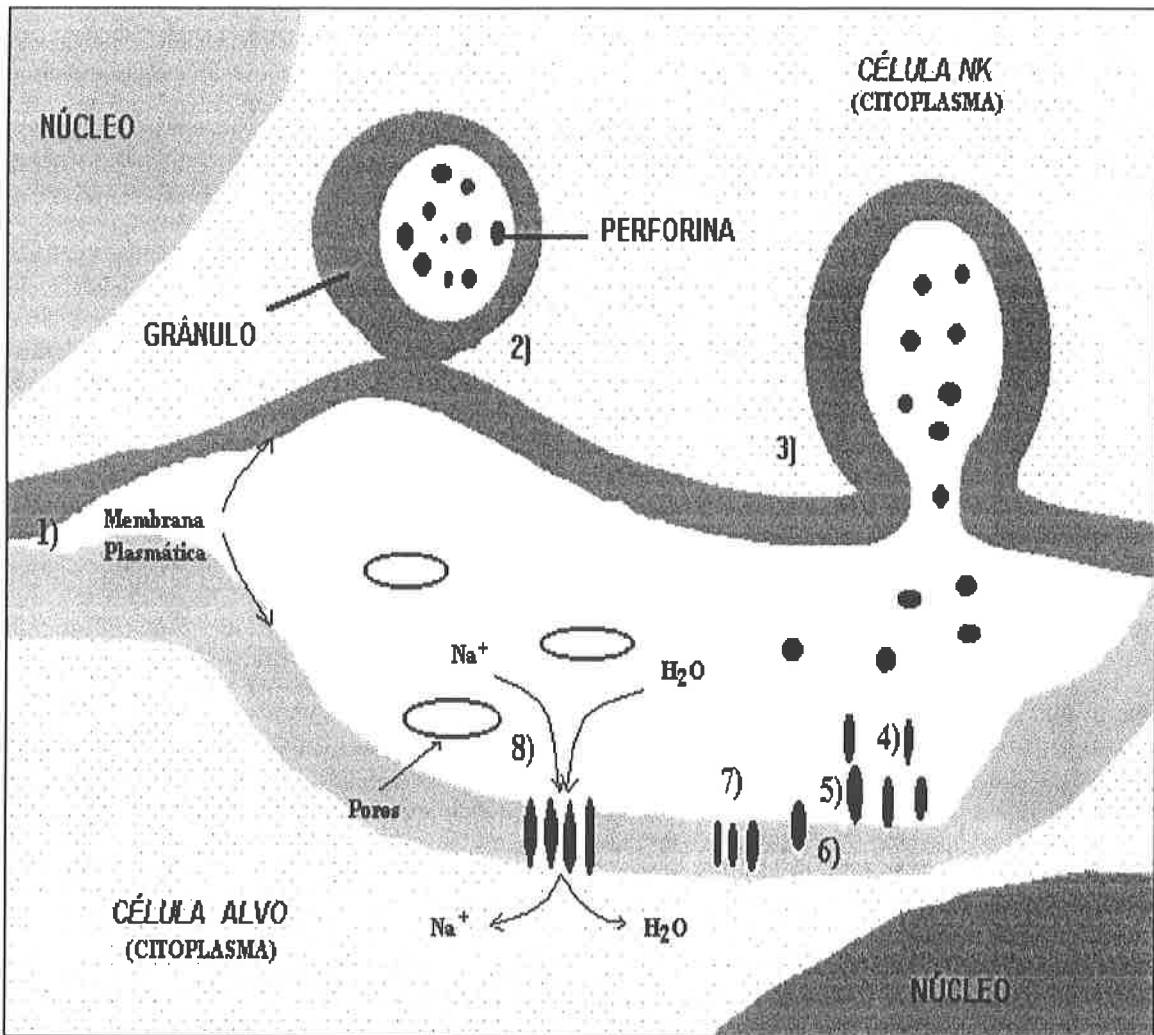


FIGURA 2. DETALHES DO PROCESSO DE DESTRUIÇÃO CELULAR PROMOVIDO POR CÉLULAS COM ATIVIDADE NK. Um aumento nos níveis de íons cálcio, provavelmente desencadeado pelo contato da célula com atividade NK à célula-alvo (1) faz com que os grânulos se liguem à membrana plasmática (2) e realizem exocitose liberando perforinas (3) no pequeno espaço intercelular criado. O cálcio altera a conformação das moléculas de perforina (4) que se ligam, por sua vez, à membrana da célula-alvo (5), inserindo-se nela (6). Os monômeros são polimerizados (7) e formam poros (8) que permitem a passagem de água e solutos que irão destruir a célula-alvo por mecanismo osmótico.

É consequência secundária do ataque das perforinas o afluxo de íons cálcio para dentro da célula-alvo. O aumento prolongado de cálcio intracelular parece estar relacionado à degradação do DNA do núcleo da célula-alvo. A formação de poros pode ser então responsável tanto pelo dano à membrana como pelo dano ao DNA da célula-alvo. Em adição, as perforinas podem facilitar a entrada de outras moléculas citotóxicas como linfotoxinas, Fator de Necrose Tumoral (FNT) e outros componentes granulares, aumentando o efeito citotóxico (HAMEED et al., 1989).

Um modelo para explicar o mecanismo de proteção das perforinas foi desenvolvido por YOUNG e COHN (1988). De acordo com estes autores, os linfócitos possuem na sua membrana plasmática uma proteína especial muito semelhante às perforinas. Sua união com perforinas resultaria numa falsa polimerização e impediria a formação de poros. Observaram, ainda, que linfócitos cultivados *in vitro* e que não apresentavam perforinas, quando estimulados com IL-2 começavam a proliferar e a sintetizar perforinas. O efeito *in vitro* da IL-2 provavelmente reflete seu efeito *in vivo*, onde sua produção pelas células T auxiliares promove uma variedade de respostas imunes. Este fato pode explicar o efeito clínico aparente da IL-2, inicialmente relatado por Rosenberg que desenvolveu uma nova abordagem terapêutica para certos tipos de câncer intratáveis (ROSENBERG et al., 1987). Como a IL-2 em doses terapêuticas costuma também ser muito tóxica para o organismo humano, os linfócitos retirados do sangue dos pacientes eram estimulados fora do corpo e, após, reintroduzidos em sua corrente sanguínea. Ocorre que as células estimuladas com IL-2 tornam-se mais eficazes no processo de destruição celular e são

comumente denominadas de células LAK (*lymphokine activated killers*). Regressão de tumores foi observada em alguns pacientes (ROSENBERG et al., 1988; ROSENBERG et al., 1993).

Além das perforinas, outros mecanismos foram sugeridos como parte do arsenal dos linfócitos no processo de destruição celular. Um destes modelos é o da apoptose (morte celular programada). Ele é baseado na observação de que precocemente, no curso dos danos à membrana das células alvo, ocorre a ruptura do núcleo celular e a quebra do DNA em pequenos fragmentos. A visualização da escada de DNA (*DNA ladder*) em gel de DNA destas células suporta o argumento de que a morte das células alvo resulta da quebra do DNA como resultado de algum sinal emitido pelos linfócitos. A hipótese de que exista mais de um mecanismo envolvido no processo de destruição é provável, uma vez que os linfócitos continuam exercendo sua atividade de destruir células alvo, quando mantidos em cultura, mesmo quando não secretam mais perforinas (YOUNG e COHN, 1988).

2.1.3. DEFICIÊNCIA NA ATIVIDADE NK

Níveis cronicamente baixos de atividade NK ocorrem em associação com uma variedade de doenças, incluindo câncer, imunodeficiências congênitas ou adquiridas, infecções virais graves, doenças auto-imunes e distúrbios do comportamento (GAUER et al., 1992; ROSSI et al., 1993; WHITESIDE e HERBERMAN, 1994).

2.1.3.1. ATIVIDADE NK E CÂNCER

A atividade NK parece representar a primeira linha de defesas contra a disseminação metastática das células tumorais presentes no sangue, e a atividade NK normal pode ser importante na vigilância imune contra tumores. Está bem estabelecido, em modelos animais, que a destruição seletiva da população de células NK determina um considerável aumento na sobrevivência de células tumorais injetadas intravenosamente. A reconstituição da atividade NK restaura a resistência ao implante de tais metástases (GORELIK et al., 1982; HANNA, 1982; POLLACK e HOLLENBECK, 1982; BARLOZZARI et al., 1983). Muitos estudos em pacientes oncológicos têm documentado uma relação inversa entre atividade NK e doença metastática (PROSS e BAINES, 1976; TAKASUGI et al., 1977; STEINHAEUER, et al., 1982; INTRONA e MANTOVANI, 1983; TRINCHIERI, 1984). Trabalhos descrevem uma correlação inversa entre imunidade inata e estágios progressivos de câncer (RODRIGUEZ, 1987). Muitos investigadores têm demonstrado que pacientes com carcinomas avançados, incluindo carcinoma de mama e melanomas, possuem função NK menor do que pacientes cuja doença permanece confinada ao local de origem (TAKASUGI et al., 1977). A propósito desta relação, na figura 3 temos o exemplo dos resultados de um ensaio de atividade NK realizado em nosso laboratório, de um paciente masculino com história de leiomiossarcoma, várias metástases abdominais e que faleceu poucos dias após a realização do ensaio.

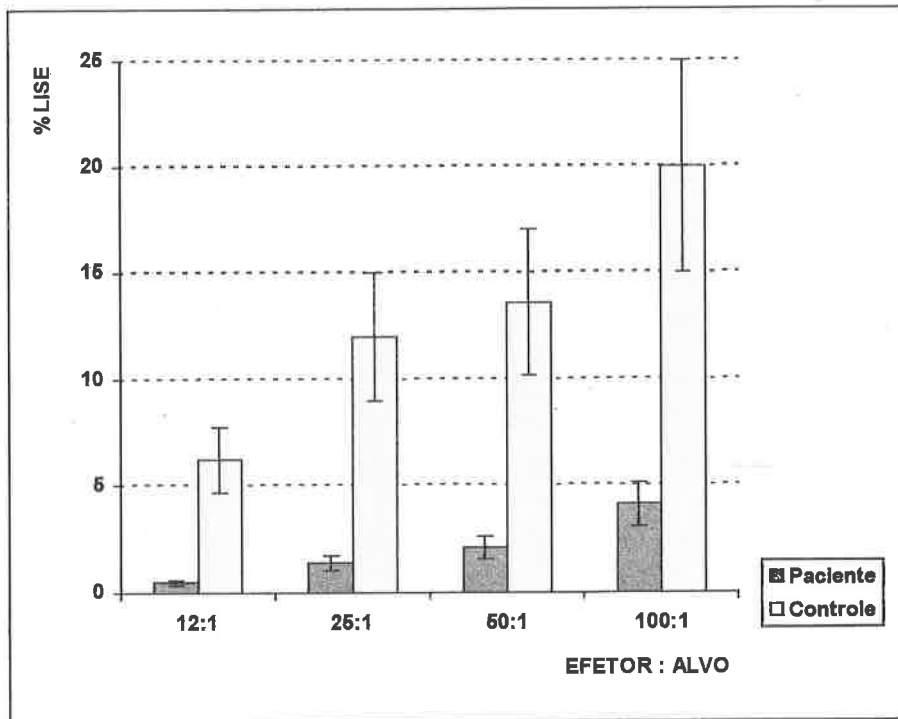


FIGURA 3: Resultados do ensaio de atividade NK de um paciente com leiomiossarcoma e disseminação metastática e de um controle. O eixo X representa o número de células efetoras em relação às células-alvo. Por exemplo, no ponto 25:1 temos 25 linfócitos para cada célula-alvo da linhagem K562 (eritroleucemia). O eixo Y representa a porcentagem de citotoxicidade que é calculada pela liberação de cromo radioativo, ou seja, representa a eficácia com que as células efetoras destruíram as células alvo. Observa-se que a atividade NK do paciente encontra-se muito diminuída pois em nenhuma das concentrações executadas alcançou mais do que 5% de lise. Esta diminuição torna-se mais evidente quando comparamos com a atividade NK do controle que em nenhum ponto foi inferior a 5%, tendo alcançado 20% de lise na diluição 100:1.

Para demonstrar a relação entre atividade NK e o desenvolvimento de metástases à distância, SCHANTZ e GOEPHERT (1987) classificaram 182 pacientes com tumores de cabeça e pescoço, sem tratamento prévio, com níveis normais ou baixos de atividade NK. Acompanharam os pacientes longitudinalmente e demonstraram que aqueles indivíduos com atividade NK mais

baixa tinham maior probabilidade de desenvolver metástases à distância. Vários outros trabalhos demonstraram que 1) pacientes com uma variedade de neoplasias tinham atividade NK diminuída; 2) que uma baixa atividade NK em pacientes cancerosos estava significativamente associada ao desenvolvimento de metástases à distância; 3) em pacientes tratados para doença metastática, o tempo de sobrevida sem metástases estava correlacionado com a atividade NK (HERMAN et al., 1985; CHOE et al., 1987; HIROFUJI et al., 1987; SCHANTZ et al., 1987).

2.1.3.2. ATIVIDADE NK E RISCO DE DESENVOLVIMENTO DE NEOPLASIA

Um questionamento que surge com frequência é se um decréscimo da atividade imune resulta num risco maior para o desenvolvimento de neoplasias no homem. Ainda que a atividade NK esteja reduzida numa ampla variedade de neoplasias, não está claro se isto é causa ou resultado da doença. Existem algumas evidências no sentido de que o prejuízo na atividade NK predisponha ao desenvolvimento de neoplasias. Entre elas temos que pacientes com síndrome de Chediak-Higashi, com déficit seletivo e pronunciado da atividade NK, apresentam uma alta incidência de doenças linfoproliferativas (HALIOTIS et al., 1980; RODER et al., 1980). Após o transplante de órgãos, altas doses de drogas imunossupressoras são administradas aos pacientes com o objetivo de prevenir a rejeição por parte do organismo e, como conseqüência, a atividade NK se apresenta diminuída ou abolida. Tais indivíduos possuem alto risco de desenvolverem doenças linfoproliferativas e outras neoplasias (FRIZZERA et al., 1981; STARZL et al., 1985; HO et al., 1988). Pacientes com imunodeficiência congênita ou adquirida, cuja atividade NK se encontra deprimida ou ausente, também apresentam uma alta incidência de doenças neoplásicas

(PURTILO et al., 1981; SAEMUDSEN et al., 1981; HANTO et al., 1985). Soma-se às observações citadas anteriormente que a baixa atividade NK em indivíduos aparentemente normais está associada a alta incidência de câncer na família (HERSEY et al., 1979; STRAYER et al., 1984; STRAYER et al., 1986), o que sugere que defeitos na atividade NK, geneticamente determinados, podem contribuir para o desenvolvimento de tumores humanos. Com isto, pode ser possível usar a atividade NK para identificar indivíduos com maior risco de desenvolverem câncer - especialmente entre os familiares de pacientes cancerosos. Tais evidências dão suporte à possibilidade de que uma deficiência na atividade NK contribua para o desenvolvimento de lesões neoplásicas e sugerem um papel importante desta atividade na imunovigilância contra células tumorais.

2.1.3.3. ATIVIDADE NK COMO UM FATOR DE PROGNÓSTICO EM PACIENTES COM NEOPLASIAS

Além da noção de que a imunidade inata comprometida pode estar associada a um aumento na frequência de neoplasias humanas, também existem evidências de que a baixa atividade NK é importante no prognóstico da resposta ao tratamento, recaídas e, especialmente, tempo de sobrevida sem metástases. Por exemplo, em pacientes com câncer de cabeça e pescoço foi encontrada uma baixa atividade NK muito tempo antes de as metástases serem clinicamente detectadas, sugerindo que a baixa atividade NK pode ser um marcador oculto para doenças metastáticas (WHITESIDE e HERBERMAN, 1992). Também em pacientes com tumores de cabeça e pescoço tratados e acompanhados por um período mínimo de 12 meses, o risco de desenvolverem metástases regionais, metástases à distância e morrerem por câncer progressivo era

inversamente relacionado à atividade NK anterior ao tratamento (SCHANTZ et al., 1987). Um fator importante no prognóstico de pacientes com câncer de mama, no momento do diagnóstico, é o número de linfonodos axilares positivos encontrados no procedimento cirúrgico. Pacientes com quatro ou mais nódulos contendo células neoplásicas demonstraram ter um prognóstico pior. Aqueles pacientes que, no momento do diagnóstico e antes de qualquer tratamento, possuíam níveis maiores de atividade NK, tinham menor número de nódulos positivos (HENDERSON e CANELLOS, 1980; LEVY et al., 1985).

Os exemplos levantados acima indicam que a mensuração *in vitro* da atividade NK no momento ou no início do tratamento possui um valor prognóstico para o paciente com neoplasia.

2.1.3.4. ATIVIDADE NK E DOENÇAS VIRAIS

A atividade NK é considerada como a primeira linha de defesa contra alguns vírus, previamente ao desenvolvimento de anticorpos específicos e de células T citotóxicas (SANTOLI et al., 1978; BIRON e WELSH, 1982; WELSH, 1986). Diversos estudos enfatizam a correlação entre baixa atividade NK e doenças virais graves no hospedeiro (LOPEZ et al., 1983; TRINCHIERI e PERUSSIA, 1984; HO et al., 1988). Esta correlação é particularmente evidente em pacientes imunodeprimidos, como por exemplo naqueles com infecções por imunossupressão após transplantes (PURTILO et al., 1981). BIRON et al. (1989) descreveram o caso de uma

mulher jovem com completa ausência de atividade NK, porém com resposta normal de células T e B, que sofria de uma grave infecção ocasionada pelo vírus da varicela e uma severa infecção, com risco de vida, por cytomegalovírus. ROSSI et al. (1993), num estudo com 30 crianças diagnosticadas como possuindo infecção respiratória recorrente, encontraram atividade NK significativamente menor nestas em relação a um grupo controle de crianças saudáveis. Em geral pacientes com baixa atividade NK parecem ter um alto risco para infecções ou apresentam quadros clínicos mais prolongados e mais severos do que aqueles com atividade NK normal (WHITESIDE e HERBERMAN, 1992).

2.1.3.5. ATIVIDADE NK E DOENÇAS AUTO-IMUNES

Pacientes com doenças sistêmicas do tecido conjuntivo, tais como o LES e síndrome de Sjögren, com frequência apresentam um prejuízo na atividade NK (HOFFMAN, 1980; MINATO et al., 1982). A diminuição na atividade NK dos pacientes com LES é mais evidente no período em que a doença se apresenta clinicamente ativa (OSHIMI et al., 1982). Os pacientes com LES avançado apresentam baixos níveis de atividade NK mesmo após estimulação com IL-2 (EGAN et al., 1983; FROELICH et al., 1989). Outras doenças auto-ímmunes que afetam órgãos como o fígado e a glândula tireóide também têm sido associadas a anormalidades na função NK (DEL PRETE et al., 1986; HIRAI, et al., 1986). Em algumas delas, como em doenças auto-ímmunes do fígado, a atividade NK parece estar aumentada (HIRAI, et al., 1986) e em outras, como na esclerose múltipla, diminuída (BENEZUR, M. et al., 1980; GINSBURG, et al., 1983; AGOSTINI et al., 1985). Relativamente pouco se sabe a respeito da atividade NK na patogênese

das doenças auto-imunes. Todavia, como as doenças auto-imunes podem estar associadas com infecções virais repetidas e graves, e eventualmente com neoplasias, a presença de uma deficiência na atividade NK pode ser um fator de risco importante nos indivíduos afetados.

2.1.4. ATIVIDADE NK NOS TECIDOS

Ainda que a atividade NK seja preferencialmente mensurada no sangue periférico, ela se dá em todos os tecidos do organismo. A atividade NK normalmente é maior no fígado que no sangue. Uma atividade NK deprimida foi observada em linfócitos de infiltrado tumoral obtidos de carcinoma hepatocelular (WHITESIDE e HERBERMAN, 1994). Um significativo aumento da atividade NK foi relatado em hepatite do tipo não A e não B (HATA et al., 1991).

Em pacientes com diferentes formas de neoplasias, o infiltrado linfocitário isolado dos sítios tumorais geralmente apresentavam uma atividade NK ausente ou deprimida. Este fato tem sido correlacionado com a presença de fatores tumorais imunossupressores no local do tumor (HEISKALA et al., 1988).

Os dados que temos a respeito da atividade NK, em geral, tomam como base a mensuração desta atividade a nível periférico. Entretanto, a atividade NK presente em um tecido

inflamado, no local onde se desenvolve uma doença auto-imune, ou uma neoplasia, provavelmente é mais importante no controle das doenças que a atividade NK a nível periférico. Por este motivo, é necessário que se realizem mais pesquisas neste sentido.

2.1.5. MODULAÇÃO DA ATIVIDADE NK

À medida em que o papel da atividade NK na vigilância imunológica fica cada vez mais estabelecido, cresce o interesse na possibilidade de regulação desta atividade visando fins terapêuticos. Veremos alguns destes modificadores da resposta biológica capazes de modular a atividade NK.

2.1.5.1. MODULAÇÃO DA ATIVIDADE NK POR INTERLEUCINA 2

As citocinas são um grupo heterogêneo de substâncias produzidas por linfócitos capazes de mediar as interações celulares necessárias para responder a um dado estímulo antigênico (RODRIGUES, 1987). Entre elas encontra-se o interferon e a IL-2. A IL-2 possui uma massa molecular de aproximadamente 15,5 kDa. Sua propriedade biológica mais característica é a capacidade de manter a proliferação em cultura de células T previamente ativadas por mitógenos ou aloantígenos (MORGAN et al., 1976; GILLIS e SMITH, 1977; RUSCETTI et al., 1977). Suas atividades, no entanto, não se restringem à ação como agente permissivo de proliferação, podendo

esta citocina inclusive amplificar a atividade citotóxica de células T *in vitro* independentemente da divisão celular (FARRAR et al., 1978; SHAW et al., 1978).

Apesar de as células T serem as primeiras células conhecidas cuja proliferação e citotoxicidade eram ativadas por IL-2, verificou-se que outras células, além das possuidoras de marcadores típicos de células T, também apresentavam receptores para IL-2 e podiam responder ao seu efeito estimulante. Entre estas, encontravam-se algumas com marcadores e fenótipo típicos de células com atividade NK, para as quais a IL-2 poderia servir como estímulo único de proliferação (SUSUKI et al., 1983; VOSE e BONNARD, 1983), ou secundário, após ativação por mitógeno (ABO et al., 1983).

Entre os linfócitos, as células com atividade NK são as primeiras a responder a ativação pela IL-2 devido ao fato de constitucionalmente expressarem a cadeia β do receptor para IL-2 (WHITESIDE e HERBERMAN, 1994). Como consequência, a incubação de linfócitos do sangue periférico com IL-2 induz ativação seletiva de células com atividade NK e, posteriormente, o desenvolvimento de proliferação e atividade LAK (HERCEND e SCHMIDT, 1988; TRINCHIERI, 1989).

O efeito da IL-2 pode levar longos períodos para se manifestar, como é o caso da atividade LAK, que tarda pelo menos 48 horas para aparecer (BALLAS, 1986; CHIN et al., 1986; GRIMM, 1986). No entanto, a IL-2 é capaz de atuar de maneira extremamente rápida, *in vitro*, na estimulação direta de diversos tipos de citotoxicidade, entre as quais se encontra a atividade NK. Nesta situação são necessários apenas minutos para que o efeito ocorra (FAGRAEUS et al., 1982; SVEDERSKY et al., 1984; SHAW et al., 1985; ROBINSON e MORSTYN, 1987).

Também pode ser verificado um efeito *in vivo* da IL-2 na atividade NK, visto que a injeção desta linfocina foi capaz de aumentar essa atividade em animais experimentais (HEFENEIDER et al., 1983; SAXENA et al., 1983). No homem, a infusão de IL-2 é dose-limitada, devido a para-efeitos como retenção de fluidos e febre (BINDON et al., 1983).

Um dos eventos iniciais durante a ativação dos linfócitos do sangue periférico com IL-2 é a aderência de algumas células com atividade NK na superfície plástica. Em resposta à IL-2, uma pequena porcentagem de células com atividade NK (10 a 30%), em questão de minutos, adquire a habilidade de *in vitro* aderir ao plástico ou outras superfícies sólidas. Devido a esta capacidade de aderência elas foram denominadas de células NK aderentes. Possivelmente todas as células com atividade NK se tornam ativadas na presença de IL-2 ou outras citocinas (IL-4, IL-6 e IL-12), porém aquelas que aderem à superfície do plástico proliferam melhor e apresentam um nível de atividade antitumoral *in vitro* significativamente maior do que as não aderentes

(WHITESIDE e HERBERMAN, 1994). Entre as alterações que ocorrem temos que as células ativadas, especialmente do subtipo aderente, se tornam altamente móveis e desenvolvem estruturas de membrana denominadas podossomas que facilitam o movimento em superfícies sólidas e a ligação a tecidos celulares ou à matriz extracelular. Há inclusive aumento da capacidade de adesão ao endotélio, de migração transendotelial, bem como de capacidade citotóxica (MELDER et al., 1991; WHITESIDE e HERBERMAN, 1992).

2.1.5.2. MODULAÇÃO DA ATIVIDADE NK POR PEPTÍDEOS OPIÓIDES

Substâncias opiáceas com propriedades analgésica como a β -endorfina e as encefalinas são liberadas em condições de estresse severo e são capazes de aumentar a atividade NK *in vitro* (BLALOCK, 1989). Tal regulação parece envolver receptores clássicos, já que pode ser inibida pelo antagonista naloxone (BLALOCK, 1989).

Observações confirmam que o estresse pode aumentar ou reduzir o crescimento tumoral, embora com mecanismo ainda desconhecido (MATHEWS et al., 1983). É possível que a liberação endógena de opióides esteja envolvida nestas interações. Estudos estão sendo conduzidos, em nossos laboratórios, sobre o efeito dos opióides na modulação *in vitro* das células NK ativadas por IL-2 em pacientes com depressão maior e controles sadios.

2.1.6. ATIVIDADE NK EM INTERVENÇÕES TERAPÊUTICAS

A despeito do desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos, o tratamento de infecções bacterianas, virais e por fungos permanece um problema, em especial nos pacientes imunodeprimidos. A utilização dos mais poderosos fármacos é ineficaz na ausência de uma resposta das defesas do indivíduo. O tratamento de pacientes oncológicos também apresenta dificuldades, em especial nos estágios avançados. Uma abordagem alternativa, que cada vez mais tem sido pesquisada, seria restaurar ou aumentar a resistência do hospedeiro. Conceitualmente, níveis cronicamente baixos de atividade NK em pacientes oncológicos ou em outras doenças podem estar associados a sintomatologia mais severa e/ou risco aumentado de progressão da doença. Sabe-se, por exemplo, que células com atividade NK estão entre os linfócitos produtores de interferon- γ que influenciam positivamente o curso de doenças infecciosas causadas por patógenos intracelulares como o *Toxoplasma gondii* (SUZUKI et al., 1990), o *Trypanosoma cruzi* (REED, 1988) e outros. Seria então vantajoso para pacientes cancerosos ou com doenças que causam imunodeficiência receber tratamento com o objetivo de aumentar a atividade NK. Tem sido feitas tentativas empregando-se este tipo de terapia em alguns centros especializados. Geralmente são realizadas tentativas de aumentar a atividade NK *in vivo* pela administração de compostos que reconhecidamente potencializam esta atividade, ou pela transferência de linfócitos autólogos, que pode ser realizada sistemicamente ou no sítio da enfermidade.

2.1.6.1. POTENCIALIZAÇÃO DA ATIVIDADE NK IN VIVO

Uma variedade de agentes, geralmente denominados como modificadores das respostas biológicas, são conhecidos por aumentarem a ativação, a proliferação e a citotoxicidade de células com atividade NK. Outros, ainda, promovem um aumento de linfócitos com atividade NK nos tecidos, por exemplo pulmão e fígado, resultando numa alta atividade citotóxica local. Uma lista parcial dos modificadores da resposta biológica mais comumente utilizados são apresentados na tabela 2. Entre eles temos citocinas como os interferons, IL-2 e IL-12, produtos bacterianos, lecitinas derivadas de plantas e anticorpos monoclonais. Muitos destes modificadores da resposta biológica, especialmente citocinas como o interferon- α e a IL-2, estão sendo utilizados no tratamento do câncer e doenças infecciosas, visando aumentar a atividade e o número de células NK (CALIGIURI et al., 1993).

TABELA 2. Modificadores da resposta biológica capazes de modular a atividade NK *in vitro* e *in vivo* (WHITESIDE E HERBERMAN, 1994):

Citocinas: IL-2, IL-12, Interferon- α .

Indutores do Interferon: polirribonucleotídeos.

Picibanil (OK432) e outros produtos de origem bacteriana ou de fungos.

Anticorpos monoclonais que se ligam a estruturas de “gatilho” das células NK (anti-CD16).

Produtos originários de plantas: lentinan.

2.1.6.2. TRANSFERÊNCIA DE CÉLULAS NK

Com base no efeito de proteção contra a disseminação metastática já documentado das células com atividade NK, o uso de imunoterapia através da transferência de células com atividade NK ativadas com citocinas foi tentada em pacientes com neoplasias avançadas (WHITESIDE e HERBERMAN, 1990; HERCEND et al., 1990). Linfócitos estimulados com IL-2 têm sido utilizados no tratamento de pacientes com melanoma metastático e carcinoma de células renais, porém os resultados destas primeiras tentativas têm sido pouco encorajador, já que a taxa de resposta clínica alcançada foi de aproximadamente 20 a 30% (ROSENBERG et al., 1993).

Estudos clínicos utilizando células com atividade NK obtidas do sangue periférico do paciente, selecionadas e expandidas *in vitro*, foram utilizadas em estudos mais recentes. A transferência de um subtipo selecionado de células efectoras anti-tumorais pode ser terapeuticamente mais eficaz e possivelmente requer doses mais baixas de citocinas para estimular a atividade NK *in vivo*. Além disto, a infusão de células com atividade NK ativadas junto com IL-2, diretamente no sítio da metástase, pode ser a abordagem terapêutica mais promissora (WHITESIDE e HERBERMAN, 1994).

2.1.7. CONCLUSÕES:

Um número crescente de trabalhos relatam as implicações da atividade NK sobre a saúde e doença humanas. Cada vez mais se torna evidente sua importância para o acompanhamento e tratamento de diversas situações clínicas, sobretudo em pacientes com neoplasias. Diversas tentativas têm sido feitas na busca de alternativas para estimular a atividade NK em pacientes cancerosos, como forma de tratamento adjuvante. Nesse sentido, o estudo com células NK aderentes possivelmente tenha resultados mais promissores. Sabemos, entretanto, muito pouco sobre a regulação e manutenção desta atividade *in vivo*. Fatores hormonais, psíquicos (estresse, depressão) e nutricionais estão envolvidos na manutenção diária da atividade NK. Um melhor entendimento de tais mecanismos resultará numa compreensão adequada dos fatores envolvidos na manutenção de sua fisiologia normal ou alterada.

2.2. ATIVIDADE DO SISTEMA IMUNE NA DEPRESSÃO MAIOR

Eventos determinantes de estresse, como o luto e o divórcio, têm como consequência a ansiedade e a depressão. Durante as últimas décadas um grande número de estudos relatam evidências de que os estados psicológicos e as doenças psiquiátricas podem influenciar o comportamento imune. Muito embora exista uma considerável variabilidade nos dados, vários estudos encontraram uma menor atividade imunológica em indivíduos deprimidos que em controles não-deprimidos (GAUER et al., 1992; SILVEIRA e GAUER, 1994).

Além disso, vários estudos da pesquisa neuroimunológica apontam evidências de que possam existir subgrupos de pacientes com Depressão Maior (DM) que exibem alterações do quadro imune. Um exemplo disso é a imunossupressão aumentada nos indivíduos severamente deprimidos, nos idosos e relacionada com a evolução do quadro clínico dos pacientes (SCHLEIFER et al., 1989; ANDREOLI et al., 1993).

2.2.1. PSICONEUROIMUNOLOGIA

Quando estudamos qualquer sistema biológico não podemos separar este do todo. Cada parte do sistema pertence ao organismo e dele é inseparável funcionalmente. Baseado neste princípio, é interessante salientar que mamíferos respondem à inflamação com complexas adaptações envolvendo os sistemas imune, nervoso e endócrino (SCARBOROUGH, 1990).

Vários trabalhos no campo da psiconeuroimunologia apontam a existência de uma comunicação bidirecional entre os sistemas imunológico e neuroendócrino - o eixo neuroimunoendócrino (BLALOCK, 1989, 1994; BONNEAU et al., 1990; WEIGENT et al., 1990). A existência destas interconexões era suspeitada, mas somente agora suas bases celulares e moleculares começam a ser desvendadas. A comunicação bidirecional pode ser resumida da seguinte forma:

Primeiro, uma alteração nervosa (e.g. estresse, depressão) pode modular, direta ou indiretamente, uma atividade imunológica (e.g. resistência às infecções). Isto pode ocorrer diretamente através das inervações nervosas simpáticas (e.g. adrenérgica, colinérgica) dirigidas a órgãos linfóides primários como o timo (GOETZL et al., 1990; ROITT et al., 1992; SAVINO e DARDENNE, 1995), ou através da liberação de neuropeptídeos hormonais (McCANN et al., 1987; TESCHEMACHER et al., 1990; WENGER et al., 1990; KELLEY, 1990; PASCUAL et al., 1991). De acordo com BESEDOVSKY et al. (1979), a desnervação cirúrgica do baço e a simpatectomia química determinam um incremento da imunocompetência. A noradrenalina e adrenalina são moduladores imunológicos bem conhecidos. Um exemplo deste fenômeno é o efeito dramático da adrenalina ao terminar reações anafiláticas agudas. Sobretudo, a modulação neuroimunológica pode ser indireta quando um neuropeptídeo influencia a secreção de um segundo hormônio endócrino, que agirá sobre as células imunes. Isto pode ser claramente demonstrado através da liberação exagerada de glicocorticóides (i.e. cortisol, corticosterona) pelas adrenais numa situação estressante ou depressiva (KIECOLT-GLASER e GLASER, 1991). Estes hormônios possuem, na maioria dos casos, um efeito imunossupressor (KRONFOL et al., 1985; MASON, 1991; MUNCK e GUYRE, 1991), além de complexos efeitos sobre o SNC.

Segundo, as células imunocompetentes podem sintetizar citocinas e certos hormônios, modulando várias funções imunes e nervosas. O sistema imune pode modular processos de conduta, que por sua vez atuam corrigindo distúrbios homeostáticos dentro do SI (COHEN, 1991). Recentes estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que as citocinas são os principais mediadores das respostas neuroendócrinas nos estados inflamatórios e infecciosos

(SCARBOROUGH, 1990). As citocinas parecem modular o SNC em vias cerebrais, hipotalâmicas ou mesmo hipofisárias. A IL-2 induz a maturação de oligodendrócitos e aumenta a produção de mielina (GOETZL et al., 1990); também parece induzir a liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e endorfinas pela hipófise (BLALOCK, 1989). Já a IL-1 pode induzir a febre (ABBAS et al., 1994; ROITT et al., 1992), o sono *slow-wave* (BLALOCK, 1989), a liberação de ACTH e endorfinas (BUZZETTI et al., 1988) e o aumento de níveis neurais de fator de crescimento neuronal (FCN) (GOETZL et al., 1990). Além destas, várias outras citocinas parecem modular o SNC: o FNT (MILENKOVIC, 1989), o INF- α e INF- γ (BONNEAU et al., 1990) e as timosinas (SPANGELO et al., 1987; BLALOCK, 1989).

Terceiro, as células nervosas também sintetizam algumas citocinas e neuropeptídeos hormonais que então modulam as atividades imunes e nervosas. Da mesma forma, as células imunes podem igualmente sintetizar neurotransmissores e citocinas que podem influenciar o funcionamento tanto do SI como do SNC. HERTZ et al. (1990) demonstraram que os astrócitos podem realizar uma série de funções imunes como a expressão de CHP I e II, secreção de citocinas (e.g. IL-6, INF- β , FNT), e a identificação de atividades fagocítica e enzimática. Além de exercer tais funções, foi demonstrado também que estas células são sensíveis a inúmeros estímulos imunes, como citocinas e complexos antígeno-anticorpo. BLALOCK (1989, 1994) e GOETZL et al. (1990) demonstraram a enorme variabilidade na síntese de substâncias neuro-ativas por células imunológicas. Além disso, foi também demonstrada a existência de

receptores nas células imunes para a maioria destas substâncias. Desta forma, tanto as citocinas como os neurotransmissores parecem atuar de forma autócrina, parácrina e endócrina.

2.2.2. ALTERAÇÕES DA IMUNOCOMPETÊNCIA DURANTE A DEPRESSÃO

2.2.2.1. IMUNIDADE CELULAR

KRONFOL et al. (1983) estudaram 26 indivíduos deprimidos livres de drogas e verificaram respostas diminuídas à estimulação por mitógenos - Concanavalina A (Con A), Fitohemaglutinina (PHA) e *Pokeweed* Mitogênico (PWM). SCHLEIFER et al. (1984) replicaram estes achados em pacientes severamente doentes e, além disso, apresentaram dados de anormalidades numa subpopulação linfocitária. Relataram que a contagem absoluta de linfócitos T e B estava reduzida, ainda que as porcentagens relativas estivessem inalteradas.

Entretanto, num estudo controlado e mais recente, estes mesmos autores verificaram que pacientes ambulatoriais moderadamente deprimidos apresentavam parâmetros imunes normais. Por outro lado, houve uma inibição da resposta proliferativa induzida por mitógenos naqueles indivíduos deprimidos que estavam hospitalizados e que eram mais velhos (i.e. com mais de 60 anos) (SCHLEIFER et al., 1989). Estes achados demonstram a influência da severidade da doença e da idade do paciente nas alterações imunológicas. MAES et al. (1989, 1991, 1994) corroboram estes dados através de suas pesquisas com indivíduos deprimidos, onde

foi demonstrada uma significativa relação inversa entre a severidade da doença, as respostas linfocitárias induzidas por mitógeno e atividade NK. Da mesma forma, KIECOLT-GLASER e GLASER (1991) demonstram que existe também nos indivíduos deprimidos uma associação inversa entre a idade e a imunidade celular.

KRONFOL et al. (1983, 1989) relataram que a depressão está associada à neutrofilia e linfocitopenia, análoga à observada na Síndrome de Cushing. Sugeriram que a hipercortisolemia poderia estar subjacente às anormalidades imunológicas comumente observadas nestas duas desordens.

Temos ainda vários estudos demonstrando uma atividade das células NK reduzida em pacientes psiquiátricos com DM e em situações de luto (MOHL et al., 1987; IRWIN et al., 1987, 1990; NEROZZI et al., 1989). Particularmente, IRWIN et al. (1987) relataram que a severidade dos sintomas depressivos em mulheres que sofreram grandes mudanças de vida (i.e. doença, morte do marido) está relacionada com uma redução da atividade NK, uma absoluta perda de células supressoras/citotóxicas, e um aumento da taxa de células T auxiliares/T supressoras.

2.2.2.2. IMUNIDADE HUMORAL

Possivelmente o comprometimento da imunidade humoral em indivíduos com DM está intimamente relacionado com a manutenção da atividade celular. Isto ocorre porque níveis circulantes de imunoglobulinas, complemento, citocinas e prostaglandinas estão ligados a possíveis alterações das células responsáveis pela coordenação da resposta imune (i.e. células T auxiliares, T supressoras e T citotóxicas).

Estudos conduzidos por KRONFOL e HOUSE (1989) demonstraram que níveis de cortisol basal e de componentes C3 e C4 do complemento circulante estavam aumentados nos indivíduos deprimidos. As concentrações plasmáticas de imunoglobulinas (IgG, IgM e IgA) apresentavam um pequeno aumento no grupo deprimido. Não foi demonstrada nenhuma correlação significativa entre valores de cortisol plasmático e subpopulações de linfócitos, resposta mitogênica linfocitária, ou níveis de imunoglobulinas e complemento.

CALABRESE et al. (1986) replicaram os achados de KRONFOL et al. (1983), documentando a presença de níveis plasmáticos aumentados de prostaglandinas E1 e E2. De acordo com GOODWIN e WEBB (1980), estas substâncias podem contribuir diretamente para a deficiência na imunidade celular.

2.2.3. ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS

Um grande número de trabalhos epidemiológicos sugere que indivíduos que recentemente experimentaram grandes mudanças negativas na vida podem ser um grupo de risco para uma variedade de enfermidades, incluindo doenças infecciosas (MEYER e HAGGERTY, 1962; SHEKELLE et al., 1981; KIECOLT-GLASER e GLASER, 1991). Deve ser ressaltado que as anormalidades imunológicas observadas na depressão são muito similares às aquelas verificadas no luto e nas pessoas cronicamente estressadas. Portanto, em teoria os indivíduos deprimidos poderiam também ser mais vulneráveis às doenças relacionadas com o sistema imune celular, tais como infecções por fungos, por vírus e doenças neoplásicas.

WINSA et al. (1991) relataram que eventos negativos da vida como estresse, luto e divórcio, bem como fatores hereditários, podem ser fatores de risco para a Doença de Graves. Foi demonstrado um risco para a Doença de Graves maior nos pacientes que estavam divorciados do que naqueles que eram casados e/ou tinham relações afetivas estáveis.

KIECOLT-GLASER e GLASER (1991) demonstraram que linfócitos de indivíduos altamente deprimidos detinham taxa de reparo do DNA significativamente mais baixa do que linfócitos obtidos de pacientes pouco deprimidos, após exposição à radiação-x. Este achado é importante devido à falha de reparo do DNA estar associada a uma maior incidência de câncer: a

maioria dos carcinógenos parecem agir através de danos ao DNA, produzindo assim células mutantes.

O comprometimento ou ausência da imunidade inata, mensurada pela atividade NK *in vitro* e diminuição do número absoluto de células NK circulantes, tem sido encontrado em associação com o desenvolvimento e progressão de carcinomas, em infecções virais agudas e crônicas (incluindo a SIDA), síndrome da fadiga crônica, depressão psiquiátrica, várias síndromes de imunodeficiência e certas doenças auto-imunes (RODRIGUEZ, 1987; TRINCHIERI, 1989; ROBERTSON e RITZ, 1990).

Recentes estudos apontam uma possível ligação da depressão com reações de hipersensibilidade tipo I (i.e. atopia mediada por IgE). BELL et al. (1991), estudando uma amostra de estudantes universitários normais, relataram que indivíduos inclinados à depressão têm mais alergias que não-deprimidos. Estes dados replicam achados previamente analisados pelos mesmos autores numa população de pacientes clínicos. Além disso, HICKIE et al. (1990) relataram que a depressão está ligada ao surgimento de infecções, desordens auto-imunes, doenças cardiovasculares e neoplasias.

2.2.4. FATORES QUE ALTERAM A AÇÃO PSICONEUROIMUNOLÓGICA

Estudos acerca da imunocompetência durante a depressão não têm fornecido achados conclusivos. Razões para esta falta de concordância podem ter relação com a metodologia empregada e com a natureza das avaliações imunológicas. Os sintomas relacionados com a depressão, tais como anorexia, emagrecimento, desnutrição e a privação do sono devido à insônia são variáveis difíceis de controlar e dificultam a interpretação dos achados obtidos (Veja tabela 3).

A heterogeneidade nos quadros clínicos de DM parece ser importante para o comprometimento da resposta imune. Existem pesquisas apontando que alterações biológicas existentes em pacientes bipolares e unipolares sejam diferentes (STEIN et al., 1991). Além disso, pacientes hospitalizados são geralmente considerados mais severamente deprimidos. Outra variável a ser considerada é que os antidepressivos atualmente empregados são comumente drogas imunossupressoras (MILLER e LACKNER, 1989).

TABELA 3. Alguns dos fatores que podem influenciar o comprometimento imunológico do paciente deprimido.

Severidade da doença
Heterogeneidade da doença
<i>Status</i> de hospitalização
Uso de psicofármacos
Associação com outras enfermidades
Estado físico e nutricional
Idade e sexo
Fatores humorais
Tabagismo
Uso de drogas
Possibilidade de controle da situação geradora de estresse
Ritmo circadiano
Variabilidade genética

A senescência é um fator crítico que determina alterações orgânicas importantes. Alguns autores apontam evidências de que a severidade da doença e a idade avançada dos pacientes deprimidos estão inversamente relacionados à resposta imunológica (MAES et al., 1989; SCHLEIFER et al., 1989; KIECOLT-GLASER e GLASER, 1991).

FAASSEN et al. (1989) sugerem que o envelhecimento *in vivo* de linfócitos T resulta de um defeito na indução de genes necessários para a transição da fase mitótica *G0* para *S*. Para tanto, tais autores estudaram uma população de idosos (média de 75 anos) e relataram que a resposta proliferativa diminuída à PHA era acompanhada de uma diminuição paralela da síntese de proteínas de choque térmico (i.e. *hsp90* e *p73*). Pode-se pensar que os dados deste autor estejam relacionados com o embotamento linfoproliferativo observado nos pacientes deprimidos.

→ O sexo é provavelmente outro fator que influencia as interações do eixo neuro-imunológico. Segundo McCRUDEN e STIMSON (1991), as mulheres podem ser consideradas imunologicamente mais reativas que os homens. Tal reatividade aumentada pode estar refletida na incidência aumentada da maioria das doenças auto-imunes nas mulheres (McCRUDEN e STIMSON, 1991). O grupo feminino apresenta níveis elevados de imunoglobulinas e relativa redução da atividade celular. Foi também demonstrado que os estrógenos geralmente deprimem a imunidade celular - inibindo a capacidade linfoproliferativa estimulada por mitógenos e reduzindo a atividade NK. Pode-se especular que tais hormônios sejam os responsáveis por algumas

variações observadas nos experimentos com pacientes deprimidos. As variações endócrinas do ciclo menstrual e a gravidez possivelmente acarretam interpretações errôneas acerca do comportamento imunológico nas mulheres.

Existem numerosos fatores humorais que alteram a imunidade celular do indivíduo normal e deprimido. Várias substâncias do soro inibem a transformação linfocitária *in vitro*, como a proteína C reativa, anticorpos (IgG1, IgG2 ou IgG4), gonadotropina coriônica, cortisol, prostaglandinas, e inúmeras citocinas (NELSON e GATTI, 1976; SOMMER, 1992). Particularmente, SOMMER (1992) demonstrou que certos aminoácidos modulam a linfoproliferação *in vitro* de indivíduos normais. A cisteína apresentou um efeito estimulatório, sendo que a fenilalanina, glutamato, glutamina e triptofano causaram uma inibição desta resposta.

De acordo com CALABRESE et al. (1987), o estresse físico extremo também diminui a imunocompetência especialmente da imunidade celular, com alterações quantitativas (decréscimo no número de células T) e qualitativas (embotamento da resposta linfocitária estimulada por mitógenos).

Enfim, a própria variabilidade genética existente na população gera potencial suficiente para o surgimento de anomalias no eixo neuroendócrino e imunológico. Sabe-se também

que as respostas imunológicas variam muito no indivíduo e, sobretudo, entre indivíduos. Foi demonstrado que a linfoproliferação estimulada por mitógenos no indivíduo varia em um fator de até 5 vezes num período de algumas semanas, e cerca de 10 vezes entre indivíduos diferentes (NELSON e GATTI, 1976). Tal flutuação imunológica é devida à interação entre vários fatores, como o ritmo circadiano, metabolismo, e outros já comentados acima.

2.2.5. CONCLUSÕES

De acordo com o conhecimento científico atual, existem consideráveis evidências de que a DM está associada com alterações do sistema imunológico. Estudos descritivos e funcionais demonstram o embotamento *in vitro* do sistema imune. Contudo surgem dúvidas a respeito da correlação dos achados *in vitro* com as respostas imunes *in vivo*, como poderia ser esperado no combate às infecções ou tumores.

Algumas evidências sugerem que possam existir subgrupos de pacientes com DM que exibem alterações nas avaliações imunológicas, por exemplo, os idosos e os severamente deprimidos (SCHLEIFER et al., 1989). Além disso, as diferenças clínicas dos pacientes com DM (eg. bipolaridade, unipolaridade, sazonalidade) também correspondem a alterações biológicas distintas. Como consequência as alterações no sistema neuroendócrino e no SI podem ser diferentes de acordo com o quadro clínico.

Conforme passamos a abordar no próximo item, com frequência os achados relacionando a DM com alterações do SI também são questionados devido ao delineamento das pesquisas realizadas.

2.3. DEPRESSÃO E IMUNIDADE: ANÁLISE DA LITERATURA

Como já foi abordado, um grande número de pesquisas tem considerado a possibilidade de que alterações imunológicas possam ocorrer devido a desordens depressivas e aos sintomas que acompanham eventos vitais estressantes. Entretanto, permanecem controvérsias quanto à existência desta relação. Muitas críticas têm sido feitas à metodologia empregada pelos trabalhos existentes na literatura. Conforme abordaremos a seguir, diferentes achados nesses estudos têm criado discordâncias e confusões em relação à conceitualização, métodos, delineamento das pesquisas e seus resultados.

A grande maioria dos trabalhos que relaciona a atividade imune com DM utiliza como parâmetro para avaliação da função imune a resposta à estimulação da proliferação linfocitária induzida por mitógenos (REPLM) e a avaliação da atividade NK. Estas medidas da imunidade têm sido amplamente empregadas para avaliar doenças imunes e para o estudo da biologia dos linfócitos (WHITESIDE e HERBERMAN, 1989). Poucos são os trabalhos que empregam outros parâmetros funcionais, como o de O'NEIL e LEONARD, (1990) que utilizou a resposta dos polimorfonucleares à ativação pelo *zymosan* opsonizado, encontrando uma

diminuição nos pacientes deprimidos. Os estudos, em geral, avaliam a resposta linfocitária a um ou mais mitógenos: PHA, Con A, ou PWM. Temos estudos onde foi encontrada uma REPLM diminuída nos pacientes deprimidos em relação aos seus controles (SENGAR et al., 1982; SCHLEIFER et al., 1984; KRONFOL et al., 1985, 1986; CALABRESE et al., 1986; ALTSHULER et al., 1989), e outros em que não foram encontradas alterações (SCHLEIFER et al., 1985; ALBRECHT et al., 1985; DARKO et al., 1989; SCHLEIFER et al., 1989 e ANDREOLI et al., 1993). Destes, ANDREOLI et al. (1993) encontraram diminuição da REPLM à PHA e Con A nos pacientes deprimidos em relação ao aumento na idade dos mesmos. E, também, uma correlação negativa entre REPLM à PHA relacionada ao uso prévio de antidepressivos.

Diversos autores avaliaram a atividade NK em pacientes deprimidos. Destes, vários encontraram um decréscimo na atividade NK nos pacientes em relação aos controles (IRWIN et al., 1987, 1990; URCH et al., 1988; KRONFOL et al., 1989; NEROZZI et al., 1989; FISCHLER et al., 1990; MAES et al., 1991, 1994). Outros não encontraram alterações entre os grupos (MOHL et al., 1987 e SCHLEIFER et al., 1989). EVANS et al. (1992) encontraram um decréscimo da atividade NK nos pacientes masculinos mas não nos femininos.

Como o delineamento e a metodologia empregada pelos trabalhos existentes é muito variada, conforme é abordado a seguir, torna-se difícil avaliar a fidedignidade dos dados

existentes até o momento. Entretanto, parece que as alterações relativas às células NK, tanto quantitativas (menor número nos pacientes com DM) como qualitativas (menor atividade nos pacientes com DM), são as que mais foram reproduzidas, suportando a hipótese de que os dados sobre as células NK serem particularmente sensíveis e relevantes para futuras investigações no campo da psiconeuroimunologia. A isto, se soma o fato de que a atividade NK é mais específica que uma medida funcional, tal como a REPLM, e de maior importância clínica, pois é cada vez mais evidente a importância desta atividade como um indicador de saúde e doença dos indivíduos (RODRIGUEZ, 1987; WHITESIDE e HERBERMAN, 1989).

2.3.1. ALGUMAS DEFICIÊNCIAS METODOLÓGICAS DOS TRABALHOS EM DEPRESSÃO MAIOR E SISTEMA IMUNE

Uma grande variedade de questões metodológicas limitam a interpretação e generalização da maioria dos estudos revisados. Entre estas podemos citar a heterogeneidade nos diagnósticos utilizados, o tamanho das amostras, a composição dos grupos controle e as diferenças nas técnicas laboratoriais empregadas.

A heterogeneidade nos critérios diagnósticos é uma variável de confusão na tentativa de se avaliar estas pesquisas. Alguns trabalhos não distinguem pacientes com transtorno do humor unipolar dos bipolares (CAPPEL et al., 1978; SENGAR et al., 1982). À exceção do estudo de ANDREOLI et al. (1983), os quadros depressivos não são estratificados de acordo com

seus subtipos de apresentação. Por exemplo, em episódio único ou recorrente, com predomínio de sintomas psicológicos ou somáticos, uso prévio de antidepressivo ou não, com ou sem sintomas psicóticos. Como foi visto anteriormente, existem evidências de que estas variáveis estariam relacionadas a populações biologicamente distintas.

Podemos ainda observar que o tamanho das amostras é pequeno na grande maioria dos estudos, sendo que muitos possuíam menos que 20 casos (SENGAR et al., 1982; SCHLEIFER et al., 1985; SYVÄLAHTI et al., 1985; CALABRESE et al., 1987; MOHL et al., 1987; IRWIN et al., 1987; ALTSHULER et al., 1989; KRONFOL et al. 1989; IRWIN et al., 1990; FISCHLER et al., 1990 e O'NEIL e LEONARD, 1990) e poucos apresentavam mais que 40 casos (KRONFOL et al., 1989; SCHLEIFER et al., 1989; EVANS et al., 1992 e ANDREOLI et al., 1993). Grande parte dos estudos também não incluíram controles pareados, pelo menos para sexo e idade (CAPPEL et al., 1978; SENGAR et al., 1982; KRONFOL et al., 1983; KRONFOL e HOUSE, 1985; ALBRECHT et al., 1985; SYVÄLAHTI et al., 1985; KRONFOL et al., 1986; CALABRESE et al., 1987; MOHL et al., 1987; KRONFOL et al., 1989 e MAES et al., 1991; 1994). Sabemos que existem alterações na função imune ligadas à idade e ao sexo (OYEINKA, 1984). Se os controles eram mais velhos que os pacientes e não eram pareados por sexo, fica difícil determinar em que extensão o sexo e a idade contribuíram para os achados. Em geral, as mulheres podem ser consideradas imunologicamente mais reativas que os homens (McCRUDEN e STIMSON, 1991). A atividade física melhora a função imune e os pacientes com DM, em geral, se apresentam apáticos e com retardo psicomotor (SIMON, 1991). Se os controles forem atletas, é lógico que esta variável irá influenciar os achados. Da mesma forma podemos

também citar a raça dos indivíduos. Alguns trabalhos sugerem que indivíduos negros apresentam uma atividade NK maior que os demais. O tabagismo e uso de outras substâncias psicoativas, bem como determinadas doenças orgânicas, prejudicam o funcionamento do sistema imunológico, com prejuízo na atividade NK (FERSON et al., 1979; IRWIN et al., 1990). Existem evidências de que durante a gestação a imunidade humoral está aumentada e a imunidade mediada por células deprimida. Os estrógenos deprimem a imunidade mediada por células, reduzindo a atividade NK (McCRUDEN e STIMSON, 1991). Por estes motivos, ao realizar um estudo onde uma grande parcela da amostra se compõe de mulheres, devem ser consideradas variáveis como gravidez, período de ciclo menstrual e uso de medicações como os contraceptivos orais. Apenas poucos estudos avaliaram o uso de tabaco pelos pacientes (IRWIN et al., 1987; WILSON et al., 1990 e ANDREOLI et al., 1993). Somente ANDREOLI et al. (1993) avaliaram o nível sócio-econômico e a atividade física, porém apenas nos pacientes e não nos controles.

Um dos fatores amplamente estudados como responsável pelo decréscimo da imunidade é a desnutrição. Esta pode determinar um prejuízo na atividade NK (DEKARIS et al., 1993). A perda do apetite e o emagrecimento são sintomas muito comuns na DM, e o comprometimento do estado nutricional deve ser avaliado para podermos afirmar que a baixa atividade imune nos pacientes se deve à DM e não à desnutrição. O mesmo podemos afirmar a propósito do nível sócio-econômico, pois se os indivíduos não possuírem o mesmo nível sócio-econômico, poderão existir diferenças no aporte nutritivo entre o grupo de pacientes e os controles.

Podemos citar também duas questões técnicas em relação à REPLM, que podem comprometer muitos dos estudos revisados. Uma é a utilização de uma única dose ótima, ao invés de uma curva dose-resposta nas avaliações funcionais, e outra, a ausência de controle para a variabilidade entre os ensaios. O uso de uma dose ótima única numa avaliação por mitógenos pode levar a uma interpretação errônea dos resultados. O que pode ser uma dose ótima para alguns indivíduos pode ser inadequada ou excessiva para outros. O uso de uma curva de dose-resposta, com pelo menos três pontos, geralmente reduz este risco e é um procedimento recomendado (STEIN et al., 1991). Outro detalhe técnico em relação aos ensaios é que estes variam de laboratório para laboratório. Por exemplo, alguns utilizam para os ensaios sangue total e outros linfócitos separados por gradiente de Ficoll. Os autores partidários da primeira técnica afirmam que o melhor é avaliar a atividade dos linfócitos quando estes estão sendo influenciados pelos fatores humorais presentes no plasma (aminoácidos, fatores de coagulação, hormônios, e outros). Os demais preferem avaliar os linfócitos isoladamente, evitando assim os efeitos dos fatores humorais que alteram a REPLM *in vitro* (NELSON e GATTI, 1976). A pronunciada variabilidade entre os ensaios somente pode ser controlada pelas medidas simultâneas dos pacientes e seus controles, o que não foi realizado na maioria dos estudos. A propósito desta questão sabemos, por exemplo, que o ciclo circadiano pode influenciar a imunidade e que os linfócitos perdem a viabilidade com o decorrer do tempo após a coleta da amostra. Desta forma, é necessário que a coleta e os ensaios sejam realizados na mesma hora para pacientes e controles. Embora este cuidado não tenha sido tomado na maioria dos estudos com REPLM, ele foi realizado em todos os estudos que mensuravam a atividade NK. Em relação à medida da atividade NK, a única variação

que encontramos são os estudo de MAES et al. (1991, 1994) que não utilizam o ensaio clássico da liberação de ^{51}Cr , mas sim técnica de citometria de fluxo.

Um dos primeiros trabalhos que usou critérios específicos para diagnóstico e pareou alguns dos elementos citados acima foi o de SCHLEIFER et al. (1989), que incluiu uma ampla amostra de 91 pacientes. Os pacientes foram avaliados no mesmo dia dos controles, e as avaliações imunes funcionais usaram curvas de dose-resposta. Foram incluídos pacientes de ambos os sexos, em tratamento hospitalar e ambulatorial, com DM avaliados pelo *Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia* (SADS) (EDICOTT e SPITZER, 1978) e o *Research Diagnostic Criteria* (RDC) (SPITZER et al., 1978), representando uma ampla gama de idade e severidade da doença. Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os pacientes deprimidos e seus controles, no número de linfócitos periféricos, linfócitos T e B, células CD4^+ e CD8^+ . A REPLM, para PHA, Con A e PWM em pacientes deprimidos foi similar aos controles. Na atividade NK também não foi encontrada diferença. Entretanto, uma análise mais detalhada revelou uma significativa diferença relacionada à maior idade entre os pacientes deprimidos e os controles na resposta aos mitógenos e no número de linfócitos CD4^+ . Em contraste ao aumento na REPLM relacionada à idade nos controles, os pacientes deprimidos não apresentaram um aumento da REPLM (PHA e PWM) com relação à idade avançada. De forma similar, diferenças relacionadas à idade foram encontradas, entre os grupos, para linfócitos CD4^+ . Também a severidade da depressão, relacionada à condição de tratamento hospitalar, foi significativamente associada com supressão da REPLM (Con A e PHA), independente da idade.

Para melhor entender porque subgrupos de pacientes deprimidos que apresentam características comportamentais e biológicas específicas podem apresentar alterações imunes, alguns estudos têm investigado os possíveis mecanismos biológicos subjacentes. Uma das características mais estudadas são as anormalidades neuroendócrinas e as alterações relacionadas ao eixo HPA, que podem ocorrer em associação com outras variáveis que caracterizam os pacientes deprimidos, como severidade dos sintomas e idade, e que podem explicar aspectos dos achados imunes na depressão. Os corticosteróides possuem importante e complexo efeito sobre o sistema imune e podem suprimir a REPLM e a atividade NK, induzindo, ainda, uma redistribuição das células CD4⁺ para o meio extra-vascular (LOWI et al., 1989). SCHLEIFER et al. (1989) encontraram um aumento do nível de cortisol plasmático em amostras de sangue utilizadas nos ensaios imunológicos e uma tendência ao aumento do cortisol com o aumento da idade nos pacientes deprimidos, mas não nos controles. Estes achados estão de acordo com diversos autores que encontraram um aumento nos níveis de cortisol plasmático, urinário e nas respostas ao Teste de Supressão à Dexametasona nos pacientes deprimidos com atividade imune prejudicada, em relação aos seus controles. Entretanto, em relação à idade e gravidade do quadro clínico, esta correlação não foi importante. Devemos considerar que, neste trabalho, foi realizada a análise de apenas uma amostra do nível de cortisol, o que não é sensível o suficiente para avaliar as alterações do eixo HPA que poderiam estar influenciando o sistema imune.

→ As diferenças relacionadas à idade nas medidas imunes entre deprimidos e controles podem ser relacionadas com outras características etárias dos pacientes deprimidos. A idade de início da depressão pode ser um fator importante de heterogeneidade nas desordens afetivas. É

possível que o início tardio ou precoce da depressão esteja associado com disfunções biológicas específicas que poderiam contribuir para as diferenças relacionadas à idade entre deprimidos e controles. Outras características clínicas também podem ser relacionadas: a duração total da doença depressiva, o número de episódios, a cronicidade dos sintomas e a duração do episódio atual. Também ainda não foi bem esclarecido o quanto o tratamento com antidepressivos possa contribuir para tais alterações. O estudo *in vitro* do efeito dos antidepressivos na REPLM e atividade NK demonstram possuírem estes um efeito inibidor da atividade imune. O estudo com cobaias contraria estes achados e, nos estudos realizados, as concentrações dos fármacos sempre foram maiores do que os níveis séricos empregados no tratamento dos pacientes (MILLER e LACKNER, 1989).

No estudo realizado por SCHLEIFER et al. (1989) foram pouco exploradas as relações entre as características clínicas da DM e os achados no sistema imune. Tais questionamentos são retomados num estudo com uma amostra importante de 53 pacientes com DM de ANDREOLI et al. (1993). Os autores tiveram alguns cuidados metodológicos inexistentes até aquele momento. Os pacientes foram pareados por sexo e idade. Todos faziam tratamento ambulatorial e foram submetidos à aplicação de uma entrevista estruturada para diagnóstico pelo Manual de Diagnóstico e Estatística dos Transtornos Mentais, terceira edição-revisada (DSM-III-R) (APA, 1987) e escalas para depressão, com teste de confiabilidade para os entrevistadores. Além dos critérios de inclusão já citados, foram de exclusão o uso de fármacos exceto benzodiazepínicos (BZD), doença física que afete a imunidade, diagnóstico de doença bipolar e dependência ou abuso de substâncias psicoativas. Também foi fator de exclusão a existência de

outra doença psiquiátrica em eixo I pelo DSM-III-R. Sabe-se que a DSM-III-R considera o diagnóstico em 5 eixos e que o eixo I refere-se ao diagnóstico psiquiátrico positivo e o eixo II se refere ao diagnóstico de Transtorno de Personalidade (APA, 1987). Uma falha no estudo de ANDREOLI et al. (1993) foi que os autores não utilizaram nenhuma entrevista estruturada para este diagnóstico que se fundamentou basicamente em dados clínicos. É digno de nota que nenhum dos estudos revisados fez qualquer consideração a respeito da relação entre Transtornos de Personalidade (eixo II do DSM-III-R) e atividade imune nestes pacientes, ficando dúvidas a propósito da contribuição deste fator para os achados. Os autores avaliaram também critérios sociodemográficos e hábitos vitais, com o objetivo de determinar o ajustamento social, atividade física, situação profissional, solidão, hábitos de alimentação, sono e consumo recente de fumo e álcool. Também registraram a história de tratamento psicofarmacológico nos últimos 5 anos, a idade de início do primeiro episódio inequívoco de DM, o número total de episódios prévios e hospitalizações psiquiátricas, a duração do mais recente episódio de DM, o número de meses com uso de antidepressivos nos últimos 5 anos, o tempo decorrido desde o uso mais recente de antidepressivos e a duração do episódio atual. A coleta de sangue para as medidas imunes foi realizada ao mesmo tempo para pacientes e controles e através de citometria de fluxo e anticorpos monoclonais determinaram o número de células T (CD3⁺), CD4⁺, CD8⁺, B (CD19⁺), monócitos (Leu M3), receptor para IL-2 (CD-25⁺), células NK (CD16⁺) e células HLA-DR ativadas. Como estudo funcional, determinaram a REPLM à Con A, PHA e PWM.

Dentre os achados mais importantes, destacam-se que os pacientes deprimidos eram mais sozinhos e usavam mais álcool e tabaco que os controles e, apesar de morarem mais

próximo aos centros urbanos, tinham maior taxa de desemprego e situação profissional inferior aos controles. A atividade física dos pacientes também era menor. Em relação às alterações imunológicas, a única diferença entre os pacientes com DM e o grupo controle é que o número de células NK apresentava uma tendência a ser menor nos pacientes. Este achado não apresentava interferência e nem era dependente de nenhuma outra variável, e contagens de outras células eram similares nos dois grupos. Também não existiam diferenças quanto à REPLM. Da mesma forma que SCHLEIFER et al. (1989), ainda que não para os mesmos mitógenos, encontraram uma correlação negativa entre idade e REPLM (PHA e Con A). Esta mesma correlação foi observada em relação ao número absoluto de linfócitos, células B e células ativadas DR+. Tal reprodução de achados faz pensar que a idade seja um mediador significativo das interações psiconeuroimunológicas na depressão. Em relação ao curso clínico na depressão, existiu uma correlação negativa independente entre a duração do último episódio de DM e a REPLM a todos os 3 mitógenos estudados. Uma significativa correlação negativa entre a REPLM à Con A com história de hospitalizações psiquiátricas, e à PHA com a duração total dos tratamentos anteriores com antidepressivos durante os últimos 5 anos foi constatada. O tempo que decorreu do último período de uso anterior de antidepressivos estava inversamente correlacionado com o número total de linfócitos, o número de células T e NK. Observaram, ainda, uma correlação negativa independente entre o número de células NK e a duração total do último período de uso de antidepressivos nos últimos 5 anos. A severidade do episódio atual tinha relação apenas com um efeito negativo independente no número de células NK, o que faz pensar que a duração e frequência de episódios depressivos maiores e o tratamento prévio com antidepressivos possuam uma importância nas relações psiconeuroimunológicas da DM. Cabe ressaltar que nenhuma alteração foi vista nos dados relativos a ajustamento social, atividade física, uso de tabaco, álcool

e BZD. Em relação ao uso de BZD os achados estão de acordo com o de outros autores (MAES et al., 1991). Já em relação à atividade física, uso de tabaco e álcool, existem estudos específicos demonstrando sua influência na imunidade, determinando inclusive supressão da atividade NK (FERSON et al., 1979; IRWIN et al., 1990; SIMON, 1991).

2.3.2. CONCLUSÕES

Os estudos iniciais não valorizaram a importância do curso e das diferentes formas da doença depressiva. Tal fato deve ser considerado nas próximas investigações, pois torna-se cada vez mais forte a hipótese de que uma análise das características da DM, com os aspectos longitudinais e as diferentes formas sintomatológicas de apresentação, podem permitir identificar subtipos de depressão com características clínicas e biológicas distintas. Também deveria ser considerado que esta análise longitudinal fosse feita prospectivamente e não retrospectivamente, de forma que dados sobre variação dos sintomas depressivos, uso de psicofármacos e aspectos clínicos de cada paciente comparadas com as medidas do sistema imune fossem mais fidedignas e acompanhadas com maior detalhamento.

2.4. NEUROPEPTÍDEOS E ATIVIDADE IMUNE

2.4.1. SISTEMA NEUROENDÓCRINO E ATIVIDADE IMUNE NO ESTRESSE E NA DEPRESSÃO

O hipotálamo é considerado como um braço eferente do cérebro. Ele integra informações corticais, do sistema límbico, da formação reticular e de receptores periféricos, respondendo com ajustes em importantes funções como a atividade simpática e endócrina, com o objetivo de regular o meio corporal interno. Por definição, o estresse físico ou psíquico diz respeito às respostas a estímulos externos que venham a alterar este equilíbrio interno, seja um estímulo térmico, tátil, elétrico, emocional, ou de qualquer outra natureza. Na realidade, nosso organismo está constantemente exposto a vários estressores, devido à enorme variação de estímulos que estamos sujeitos a todo o instante. Ele trabalha constantemente para manter a sua homeostase, que é, portanto, dinâmica. E, na prática, denominamos estresse somente as respostas do organismo aos estímulos ou situações que requerem maiores mobilizações dos sistemas corporais ou que, inclusive, podem colocar a vida do indivíduo em risco (KHANSARI et al., 1990).

No núcleo paraventricular do hipotálamo é produzido o hormônio de liberação da corticotrofina (CRH), tanto em ritmo basal como circadiano, em resposta a situações de estresse. Este hormônio é liberado no sistema porta hipotálamo-hipofisiário onde, através da ligação a receptores específicos, promove a síntese e liberação do hormônio adrenocorticotrófico. Este

último, através da circulação sistêmica, atinge as glândulas adrenais, onde estimula a produção de glicocorticóides. O sistema de retroalimentação negativa se completa pela existência de receptores específicos para glicocorticóides nas instâncias superiores do eixo. O CRH também promove a síntese e liberação da β -endorfina, pois esta origina-se do mesmo peptídeo precursor do ACTH, a pró-opiomelanocortina (POMC). Como veremos adiante, este opióide endógeno também influencia a função imune. O principal glicocorticóide nos homens e nos macacos é o cortisol, e nos ratos a corticosterona. Estes hormônios desempenham função essencial na regulação dos sistemas metabólicos relacionados à utilização de proteínas, carboidratos e gorduras, principalmente em situação de estresse, durante as quais sua falta pode levar o indivíduo à morte. Situações de estresse agudo podem aumentar em até 20 vezes a síntese e secreção de glicocorticóides e no estresse crônico pode ocorrer aumento de até 50% no volume das glândulas supra-renais. Neste caso, as influências corticolímbicas ativadoras do eixo hipotálamo-pituitário-adrenal (HPA) superam a retroalimentação negativa.

O sistema límbico cada vez mais tem sido considerado como tendo uma importante relação com o eixo HPA. Sabe-se, por exemplo, que ele pode não só estimular o eixo HPA, como é o principal mediador de sua inibição, além de influenciar na regulação do ritmo circadiano. O sistema límbico é o principal promotor da adaptação do organismo ao ambiente externo, na medida em que modula as respostas aos estímulos de acordo com experiências passadas e adequação à situação atual, avaliando seu significado emocional. Devido à função do sistema

límbico na regulação da síntese do CRH, como é visto na Figura 4, já foi proposta a denominação de eixo LHPA, isto é, límbico-hipotálamo-pituitário-adrenal (RISCH, 1991).

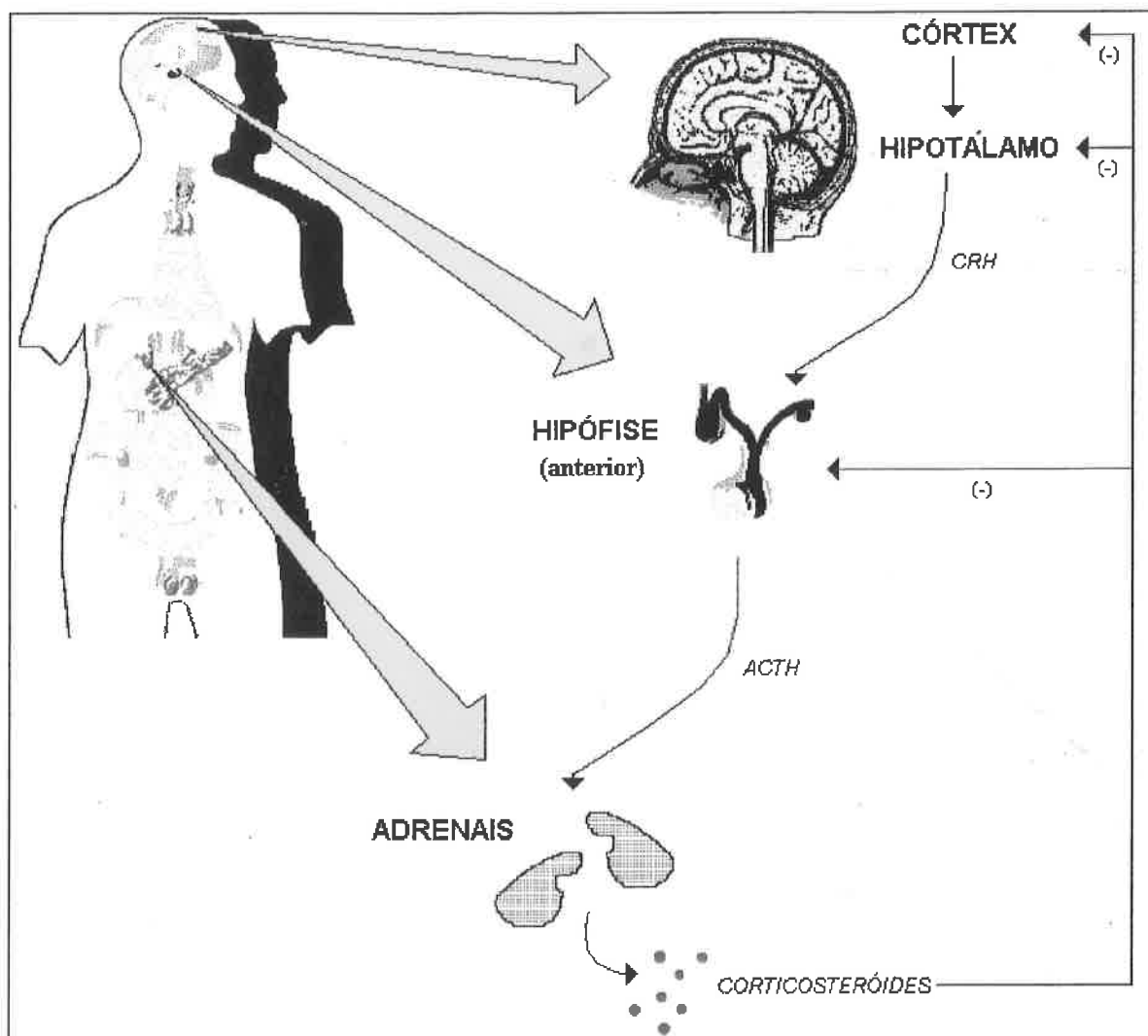


FIGURA 4. Funcionamento do eixo hipotálamo-pituitário-adrenal. O fator liberador da corticotrofina (CRH) atua na hipófise e induz a liberação sistêmica do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Este, por sua vez, estimula a porção cortical das supra-renais a produzirem corticosteróides. Os corticosteróides, através da circulação sistêmica, chegam ao hipotálamo e à hipófise e se ligam a receptores inibitórios, realizando retroalimentação negativa.

Em relação ao eixo HPA, é importante salientar que descobertas recentes demonstram que várias substâncias produzidas nos órgãos e células linfóides podem estimular a produção de glicocorticóides, conforme está demonstrado na figura 5. Entre elas, estão a IL-1, a timosina fração 5 e o hormônio adrenocorticotrófico. Estas substâncias produzidas pelos linfócitos agem tanto em nível hipotalâmico quanto pituitário, sendo que a IL-1 também age em nível adrenal (SYVÄLAHTI, 1987; KHANSARI et al., 1990; PLATA-SALAMAN, 1991). Os neurônios apresentam receptores para várias interleucinas (IL-2, IL-3 e IL-6), e o estudo em cérebro de ratos evidenciou uma alta densidade de receptores para IL-1 no hipocampo, plexos coróides das meninges e hipófise anterior (BLALOCK, 1994).

2.4.2. ALTERAÇÕES DO EIXO HPA NO ESTRESSE E NA DEPRESSÃO

A hipófise anterior apresenta no mínimo cinco tipos diferentes de células secretoras, cada uma produtora de um hormônio particular cuja liberação é coordenada por um ou mais peptídeos hipotalâmicos. Entre os hormônios produzidos pela hipófise, temos o hormônio adrenocorticotrófico, hormônio do crescimento (GH), hormônio estimulante da tireóide (TSH), hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo-estimulante (FSH) e a prolactina (PRL). Após sua liberação, o hormônio pituitário estimula um órgão alvo particular, cujos produtos determinam uma retroalimentação negativa para o hormônio pituitário e/ou peptídeo hipotalâmico. Vários peptídeos do eixo HPA são produzidos pelo próprio SI e, até o momento, mais de 20 peptídeos

neuroendócrinos e seus respectivos RNA mensageiros foram identificados nas células do SI, conforme é demonstrado na tabela 4.

TABELA 4: Origem celular imune de alguns peptídeos hormonais e neurotransmissores (adaptado de BLALOCK, 1994).

Células de Origem	Peptídeos ou proteínas
Linfócitos T	ACTH, endorfinas, TSH, gonadotrofina coriônica, GH, PRL, metaencefalina, proteína relacionada ao hormônio da paratireóide, IGF-1
Linfócitos B	ACTH, endorfinas, GH, IGF-1
Macrófagos	ACTH, endorfinas, GH, substância P, IGF-1
Esplenócitos	LH, FSH, CRH
Timócitos	CRH, LFRH, AVP, OT
Mastócitos e polimorfonucleares	VIP, somatostatina
Megacariócitos	Neuropeptídeo Y

Abreviaturas: ACTH: hormônio adrenocorticotrófico; AVP: arginina vasopressina; CRH: hormônio liberador da corticotrofina; FSH: hormônio folículo estimulante; GH: hormônio do crescimento; IGF-1: fator de crescimento semelhante à insulina 1; LH: hormônio luteinizante; LFRH: fator liberador do hormônio luteinizante; OT: ocitocina; PRL: prolactina; TSH: hormônio estimulante da tireóide; VIP: peptídeo intestinal vasoativo.

Após duas a cinco horas de cultura, os linfócitos sintetizam espontaneamente GH. Este tem sido apontado como um fator de crescimento para o linfócito. De forma similar, os linfócitos sintetizam, liberam e sofrem ação da PRL exógena, através de receptores para PRL. O complexo formado entre a PRL e o receptor é translocado para o núcleo. Se ocorre a depleção de PRL e/ou a translocação nuclear é bloqueada, o estímulo à proliferação linfocitária pela IL-2 é inibido. Tal fato sugere que a PRL serve como um segundo mensageiro para a IL-2 (BLALOCK, 1994).

A associação entre o hipercortisolismo e a imunossupressão durante o estresse, luto e a depressão constituiu-se, durante muito tempo, num dogma central na pesquisa psiconeuroimunológica. A desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal é uma das mais estudadas anormalidades neuroendócrinas na depressão (MAES et al., 1989). De acordo com alguns estudos, o hipercortisolismo observado nos indivíduos deprimidos pode ser análogo àquele visto nos portadores da Síndrome de Cushing, já que foram verificadas neutrofilia e linfocitopenia em ambas situações (KRONFOL et al., 1985, 1989). Dentre os linfócitos, considera-se que há uma predominância das anormalidades de linfócitos T sobre linfócitos B. De acordo com MUNCK e GUYRE (1991) os glicocorticóides inibem virtualmente todas as funções dos monócitos e macrófagos (e.g. quimiotaxia, apresentação de antígenos, fagocitose, liberação de mediadores). IRWIN et al. (1987) demonstraram que o cortisol suprime igualmente a atividade NK *in vitro*.

Além de alterações celulares, os glicocorticóides inibem uma série de outros mediadores importantes para o controle das mudanças homeostáticas e imunológicas. Inibem citocinas (e.g. IL-1, IL-2, IL-3, FNT, INF-gama), agentes inflamatórios diversos (e.g. histamina, serotonina, eicosanóides, colagenase) e vários hormônios e neurotransmissores (e.g. insulina, CRH, ACTH, β -endorfina) (CALABRESE et al., 1987; MUNCK e GUYRE, 1991).

LOWY et al. (1989) sugerem que anormalidades nos receptores para glicocorticóides podem estar presentes nos indivíduos deprimidos. Tais alterações se referem a um reduzido número de receptores para glicocorticóides, presentes mesmo em deprimidos que não apresentaram taxas elevadas de cortisol basal. O paciente deprimido possivelmente teria poucos receptores para glicocorticóides em nível de hipófise e hipotálamo. O aumento de cortisol circulante não acarretaria mudanças no seu controle via retroalimentação. Não haveria diminuição do fator hipotalâmico CRH e a hipófise, por sua vez, continuaria a secretar ACTH.

Pacientes que necessitam usar corticóides (e.g. em doenças auto-imunes) com frequência desenvolvem transtorno do humor secundário, com depressão ou mania (BRADFORD, 1986).

Diante de todas as alterações "maléficas" causadas pelos glicocorticóides, qual seria o seu papel no comportamento imunológico normal? Recentemente, MASON (1991) relatou evidências de que a resposta imunológica pode ser limitada pelos glicocorticóides, evitando assim que o sistema atinja níveis potencialmente prejudiciais ao hospedeiro. Após a remoção cirúrgica da hipófise, permanece a produção de glicocorticóides em macacos, galinhas e humanos. Foi ainda sugerido que sua produção resulte do ACTH derivado dos linfócitos, sendo que o próprio SI poderia limitar um excesso na sua atividade (BLALOCK, 1994).

2.4.3. MECANISMOS E SISTEMAS ENVOLVIDOS NAS ALTERAÇÕES IMUNOLÓGICAS DO ESTRESSE E DA DEPRESSÃO

Diversas evidências têm apontado para uma relação entre estresse, depressão, luto, conflitos conjugais e alterações específicas no SI (BAUER et al., 1993). Algumas destas pesquisas sugerem que subgrupos de pacientes deprimidos estão mais sujeitos a alterações imunológicas (SYVÄLAHTI, 1987; BAUER et al., 1993). Em relação ao estresse, estudos em ratos demonstram que, dependendo do tipo de estímulo estressor, da posição social dentro da colônia (submissão x domínio) (BOHUS e KOOLHAAS, 1991), da cronicidade do estímulo, do intervalo de tempo entre o estímulo e a exposição ao agente infeccioso e da espécie, pode haver redução, aumento, ou nenhuma alteração na atividade imune (MONJAN, 1981; SOLOMON e AMKRAUT, 1981; SHAVIT, 1991). Ratos submetidos a eletrochoque nas patas, mas que têm a possibilidade de interromper o estímulo doloroso, não apresentam diminuição da sua atividade imune, comparados a ratos que não podem interromper ou escapar do choque (LAUDENSLAGER et al.,

1983). Inclusive quando comparados aos ratos-controles, aqueles que podem controlar o estressor apresentam melhor desempenho das suas respostas imunológicas (MILLAR et al., 1993). A presença de um estímulo de aviso que preceda o choque protege os animais do prejuízo na atividade imune, o que demonstra a importância da possibilidade de poder prever o acontecimento (MORMEDE, 1988). Estudos em seres humanos têm confirmado a hipótese de que o prejuízo na atividade imune está mais relacionado com a capacidade de lidar com situações adversas do que com o estresse por si próprio (HOMO-DELARCHE e DARDENNE, 1993).

O sistema imunológico hoje é visto como um sistema altamente organizado, com uma complexa rede de comunicação interna e capacidade de comunicação bidirecional com outros sistemas orgânicos. Recebe estímulos por meio de receptores específicos para hormônios (somatostatina, glicocorticóides, PRL, GH, esteróides sexuais), neuropeptídeos (endorfinas, encefalinas, VIP e substância P) e neurotransmissores (catecolaminas, serotonina, acetilcolina) e envia estímulos, produzindo algumas destas mesmas substâncias (ACTH, CRH, endorfinas, PRL, VIP, somatostatina, GH, TSH e gonadotrofina coriônica humana), bem como substâncias próprias (interleucinas, FNT, interferons) (KHANSARI et al., 1990; HOMO-DELARCHE e DARDENNE, 1993). A propósito das evidências da produção pelo SI de substâncias sintetizadas no SNC, temos a observação de que durante uma agressão ao SI, tal como uma infecção bacteriana ou viral, os leucócitos produzem substâncias muito similares ao ACTH e a beta-endorfina. E a avaliação destes produtos derivados dos leucócitos sugere que eles são muito parecidos com os hormônios produzidos pela hipófise. O que se baseia no fato delas serem estruturalmente similares em termos de antigenicidade, peso molecular, apresentarem os mesmos resultados numa análise

cromatográfica e, no caso do ACTH, possuem uma seqüência de aminoácidos essencialmente idênticas. Soma-se a isto a questão de que estas duas substâncias apresentam uma atividade biológica apropriada, o que é demonstrado *in vitro* pela estimulação de células tumorais da adrenal a secretar glicocorticóides, por se ligarem a receptores para opióides e determinarem analgesia em ratos. E, da mesma forma que a hipófise anterior, a produção destas substâncias pelo leucócito é estimulada pelo CRH. O que leva a se pensar que as células do SI produtoras de substâncias similares ao ACTH e beta-endorfinas são capazes de transcrever o gene da POMC de forma similar as células da hipófise (MILLER e NORIN, 1989; CARR e BLALOCK, 1991).

2.4.3.1. GLICOCORTICÓIDES, EIXO HPA E ATIVIDADE DO SISTEMA IMUNE

Os glicocorticóides são potentes inibidores de diversas etapas dos processos inflamatórios e da resposta imune, já sendo consagrada sua utilidade clínica como imunossuppressores (PESCOVITZ et al., 1990; GUYTON, 1992). Também foi demonstrado o efeito supressor dos glicocorticóides sobre a atividade NK, o que é confirmado tanto por estudos *in vitro* como *in vivo* (PARRILLO e FAUCI, 1978; HOLBROOK et al., 1983).

Entretanto, alguns estudos têm questionado estas propriedades dos glicocorticóides e apontam outros mecanismos como os possíveis responsáveis. Ratos que recebem estímulos estressores agudos (choques e estímulos auditivos) podem não apresentar redução da atividade NK, ainda que com a ativação do eixo HPA. Quando expostos cronicamente a estes mesmos

estímulos, ocorre redução da atividade NK, mesmo em animais adrenalectomizados e/ou hipofisectomizados, sendo que apenas a linfopenia induzida pelo estresse é HPA-dependente (KELLER et al., 1981; KELLER et al., 1983; IRWIN e HAUGER, 1988). Estudos clínicos têm demonstrado dissociação entre imunidade e atividade adrenocortical. Por exemplo, alguns dos estudos com pacientes deprimidos encontraram redução da resposta à estimulação da proliferação linfocitária aos mitógenos, sendo que esta não está associada a níveis altos de excreção de cortisol livre na urina e nem aos resultados do teste de supressão da dexametasona (TSD) (KRONFOL e HOUSE, 1985; KRONFOL et al., 1986). Também foi demonstrado que em pacientes enlutados, nos quais a atividade NK estava reduzida, os níveis plasmáticos de cortisol apresentavam-se normais (IRWIN, 1991). Realmente, seria uma contradição biológica muito grande se um hormônio essencial para o organismo, principalmente durante o estresse, provocasse uma queda da imunidade. Não adiantaria toda uma mobilização metabólica em diversos sistemas corporais se o organismo ficasse mais suscetível a infecções. Permanece o questionamento: como explicar a lacuna dos glicocorticóides em suprimir a imunidade nas situações de estresse e de DM, já que seus efeitos imunossupressores são consagrados? E outro questionamento: não sendo os glicocorticóides, qual seria então o mecanismo responsável? A resposta à primeira pergunta é que, em situações fisiológicas, mesmo quando os glicocorticóides são produzidos em grande quantidade, como no estresse e na depressão, o eixo HPA funciona como um todo, e outras substâncias, CRH, ACTH e β -endorfina, liberadas nas etapas de ativação do eixo, compensam os efeitos imunossupressores dos glicocorticóides. Existem receptores específicos para o CRH nos monócitos que, quando estimulados *in vitro*, promovem a produção de interferon e este estimula as células B que sintetizam β -endorfina e estimulam a atividade NK (KAVELAARS, 1989; BLALOCK, 1994). O ACTH em doses fisiológicas potencializa, *in vitro*, os efeitos

imunoestimuladores do interferon e da IL-2 sobre a atividade NK, além de minimizar os efeitos imunossupressivos do cortisol, papel também desempenhado pela β -endorfina que, ao mesmo tempo, pode estimular diretamente os linfócitos através de receptores específicos (BOCCHINI et al., 1983; FARRAR, 1984; BROWN e VAN EPPS, 1986; GILMORE e WEINER, 1988; GILMORE e WEINER, 1989; GATTI et al., 1993). Alguns estudos referem que a β -endorfina apresenta uma atividade imunossupressora em doses muito elevadas (PRETE et al., 1986; McCAIN et al., 1986), tendo sido demonstrado que a atividade deste peptídeo é na realidade dose-dependente (KAY et al., 1984; GATTI et al., 1993).

Os glicocorticóides teriam então, em relação ao sistema imunológico, um papel fisiológico regulador, principalmente em períodos de estresse nos quais uma estimulação excessiva da imunidade causaria danos ao organismo. A produção de substâncias estimuladoras da síntese de glicocorticóides pelos imunócitos reforça esta hipótese. Isto pode ser entendido quando, numa situação em que há excesso de atividade do sistema, ele se auto-regula negativamente pela indução da produção de glicocorticóides. Vários estudos reforçam esta teoria. Foi demonstrado que a injeção de antígenos em ratos e macacos provocam um pico na secreção de corticosterona próximo ao pico da resposta imunológica, no sexto dia após a aplicação (BESEDOVSKY et al., 1975; BESEDOVSKY e SORKIN, 1977). Na encefalomielite aguda induzida pela injeção de proteína mielínica básica em ratos, a corticosterona desempenha papel fundamental na cura espontânea, ao limitar o processo de agressão auto-imune. A cura espontânea não ocorre em animais adrenalectomizados (MASON et al., 1990). Sintomas de tireoidite auto-imune ocorrem em alguns casos após a adrenalectomia unilateral em mulheres com Síndrome de Cushing por

adenoma adrenal. Ratos com defeito na produção de CRH (ratos Lewis) e com conseqüente hipoatividade do eixo HPA apresentam maior suscetibilidade à artrite induzida por antígenos estreptocócicos (HOMO-DELARCHE e DARDENNE, 1993).

Uma outra possibilidade para explicar a dissociação entre aumento na atividade do eixo HPA e prejuízo da atividade imune em pacientes deprimidos se refere à hipótese da resistência aos glicocorticóides. Nos deprimidos com hipercortisolemia parece haver uma diminuição do número e da sensibilidade dos receptores de glicocorticóides no sistema límbico e eixo HPA, com conseqüente prejuízo na retroalimentação negativa e ausência de efeitos sistêmicos característicos de situações onde há hipercortisolemia, como na síndrome de Cushing. Dentre estes efeitos sistêmicos, estaria a sua falta de ação sobre o sistema imunológico (SYVÄLAHTI, 1987; LOWY et al., 1989).

2.4.3.2. SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO E ATIVIDADE DO SISTEMA IMUNE

Não sendo o eixo HPA, qual seria então o sistema responsável pela diminuição da atividade imunológica durante o estresse e a depressão? Uma série de estudos sugere a participação do sistema nervoso autônomo (SNA) nas alterações imunológicas através da cadeia simpática. Esta, similarmente ao eixo HPA, revela-se essencial ao organismo principalmente em momentos ou períodos nos quais são exigidas reações intensas e imediatas, isto é, quando está em jogo a sobrevivência. O sistema nervoso simpático prepara o organismo para a luta, fuga ou outras

situações emergenciais, ao aumentar o inotropismo e cronotropismo cardíacos, direcionar o aporte sanguíneo ao SNC, coração e musculatura esquelética e aumentar a disponibilidade de suprimento energético às células.

Estudos anatômicos revelam a presença extensa de fibras nervosas autonômicas simpáticas em órgãos linfóides (BULLOCH e POMERANTZ, 1984; FELTEN et al., 1985). Foi demonstrado através de técnicas imunoistoquímicas que estas fibras chegam aos órgãos linfóides, como o baço, junto com a rede vascular, penetrando no parênquima, na área onde se localizam os linfócitos (FELTEN et al., 1985). Através da microscopia eletrônica, demonstrou-se que as terminações nervosas noradrenérgicas entram em contato sináptico com células T (FELTEN e OLSCHOWKA, 1987). A estimulação do nervo esplênico provoca a liberação de noradrenalina (Von EULER, 1946). No baço de ratos, a concentração de noradrenalina é cem vezes superior à concentração na corrente sanguínea (FELTEN et al., 1986). Os linfócitos possuem receptores de membrana para adrenalina, noradrenalina e dopamina (WILLIAMNS et al., 1976; MILES et al., 1981; AARONE e MOLINOFF, 1982; MOTULSKY e INSEL, 1982). A incubação de linfócitos com adrenalina e noradrenalina reduz a atividade NK, efeito que pode ser evitado através da pré-incubação com beta-bloqueadores (HADDEN et al., 1970; HELLSTRAND et al., 1985). Foi proposto também que as catecolaminas inibem diretamente a atuação dos monócitos e macrófagos diminuindo sua função fagocitária e de apresentação antigênica aos linfócitos (HEILIG et al., 1993).

A liberação de CRH em locais extra-hipotalâmicos, em resposta ao estresse, aumenta a reciclagem de noradrenalina no *locus coeruleus* (LC) (REDMOND e HUANG, 1979; SVENSSON, 1987). Este é um dos principais centros noradrenérgicos cerebrais e possui reatividade ao CRH, projetando terminações nervosas para todo o SNC e cadeia simpática periférica (FOOTE et al., 1983). A aplicação intracisternal de CRH aumenta o disparo de neurônios do LC nos corpos celulares noradrenérgicos A6, com conseqüente liberação plasmática de catecolaminas e liberação esplênica de noradrenalina (VALENTINO et al., 1983; VALENTINO e FOOTE, 1987). Estes dados em conjunto demonstram a existência de uma ligação anatômica e funcional entre o SNA e o SI.

Temos ainda alguns estudos *in vivo* utilizando a clorisondamina (bloqueador ganglionar periférico), que comprovam a hipótese desta estreita relação entre o SNA e o sistema imune. Normalmente a simulação de situações de estresse, por meio da administração intracérebro-ventricular (ICV) de CRH em ratos, produz um aumento dos níveis plasmáticos de adrenalina e noradrenalina, bem como liberação esplênica de noradrenalina via LC e fibras simpáticas, causando redução da atividade NK (IRWIN et al., 1987). O pré-tratamento com a clorisondamina inibe a liberação esplênica de noradrenalina, protegendo o animal da redução na atividade NK. É importante ressaltar que este bloqueador ganglionar não possui uma ação direta que diminua significativamente a atividade NK (IRWIN, 1991). Como a administração ICV de CRH também provoca ativação do eixo HPA, outro estudo foi efetuado para isolar as influências do SNA e eixo HPA sobre a citotoxicidade esplênica. Ratos receberam administração ICV de CRH, com ou sem pré-tratamento de clorisondamina. Esta droga não interfere na produção e ação

do ACTH e glicocorticóides. Verificou-se que ocorreu uma redução da atividade NK somente no grupo não tratado, apesar de ambos os grupos mostrarem aumento significativo dos níveis plasmáticos de corticosterona. O mesmo autor demonstrou também que o pré-tratamento com antagonistas da produção de glicocorticóides (metirapona e aminoglutemida) não protege o animal da imunossupressão causada pela administração ICV de CRH (IRWIN, 1991). Estes dados sugerem novamente uma dissociação entre alterações na imunidade celular e atividade do eixo HPA, pois somente o bloqueio da liberação de noradrenalina protege o animal das alterações imunológicas. Já o bloqueio do eixo HPA não apresenta tal ação protetora. Vem ao encontro destes dados o fato de que a desnervação cirúrgica do baço e a simpatectomia determinam o incremento na imunocompetência (BESEDOVSKY et al., 1979).

Assim como no eixo HPA existe um mecanismo compensatório do efeito imunossupressivo dos glicocorticóides, o mesmo talvez possa ocorrer em relação ao SNA. Sabe-se que durante o estresse a medula adrenal libera não somente catecolaminas, mas também encefalinas (SYVÄLAHTI, 1987). É sabido que estas substâncias apresentam atividade imunomoduladora positiva (OLESON e JOHNSON, 1988; ZUNICH e KIRPATRICK, 1988; OLESON et al., 1989; IRWIN, 1991). Foi sugerido que a liberação adrenal de encefalinas ocorre principalmente em estresse de grande intensidade ou de longa duração (TERENIUS, 1985).

2.4.4. O CRH COMO MODULADOR COMPORTAMENTAL

Como foi descrito anteriormente, o CRH é o principal ativador do eixo HPA e um importante ativador do SNA. Porém, seu papel extrapola a ativação de sistemas periféricos pois, em concordância com sua ampla distribuição no SNC, sua ação parece ser de mediador das respostas comportamentais ao estresse e da ativação autonômica central, com um importante papel na atividade elétrica cerebral (BROWN e FISHER, 1983; BROWN, 1986; BERRIDGE e DUNN, 1986; BROWN et al., 1986). O CRH não é produzido somente no hipotálamo, mas também em núcleos centrais autonômicos, no LC e diversas áreas límbicas e corticais, além de possuir sítios receptores também em diversas regiões (MOGA e GRAY, 1985; VARGAS et al., 1991). O CRH preenche critérios para ser considerado neurotransmissor no SNC. Por exemplo, sua liberação é induzida por potássio e dependente de cálcio (OWENS et al., 1987). A administração ICV de CRH produz aumento da excitabilidade no hipocampo, córtex, aumento do fluxo simpático e aumento da descarga de neurônios em vários locais (VALENTINO et al., 1983; VALENTINO e FOOTE, 1987). Neurônios terminais contendo CRH estão associados ao LC e núcleos da rafe, as regiões com maior quantidade de corpos celulares com noradrenalina e serotonina, respectivamente.

Diversos estudos *in vivo* e *post-mortem* demonstram um aumento nas concentrações de CRH no SNC de pacientes deprimidos. Estes pacientes apresentam níveis líquidos mais altos de CRH, comparados a controles normais, esquizofrênicos e pacientes com demência senil. Pacientes suicidas apresentam também um decréscimo na ligação do CRH ao

córtex frontal, provavelmente refletindo um menor número de receptores devido à presença de estímulos excessivos, isto é, uma regulação para menos (*dowregulation*) (NEMEROFF et al., 1984). Em outro estudo foi encontrado o dobro da concentração líquórica de CRH em depressivos, comparado a controles normais, porém sem relação com o nível de cortisol basal e após TSD (BANKI et al., 1987). Também foram encontrados níveis mais altos de CRH líquórico em pacientes não supressores comparados aos supressores, com relação direta aos níveis de cortisol após TSD (ROY et al., 1987). Os sítios extra-hipotalâmicos são os maiores responsáveis pela concentração líquórica de CRH, portanto ela não reflete necessariamente a ativação do eixo HPA (VARGAS et al., 1991).

Pesquisas feitas em ratos revelam que a exposição ao estresse agudo e crônico provoca aumento dos níveis de CRH em várias regiões cerebrais, exceto na eminência mediana, onde ocorreu um decréscimo de 50%. Tal fenômeno ocorreu provavelmente pela liberação de CRH no sistema porta hipotalâmico-pituitário. Já no LC, ocorre um aumento de 100% nos níveis de CRH. O estresse provocado por choque aumenta a concentração de CRH no LC e a injeção do neuropeptídeo diretamente neste local aumenta a reciclagem de noradrenalina. A desregulação noradrenérgica e serotonérgica central tem sido relacionada a transtornos depressivos e de ansiedade (REDMOND, 1987; GOLD et al., 1988; VARGAS et al., 1991). A administração ICV de CRH produz diversas alterações comportamentais, como diminuição do consumo de alimentos, do comportamento sexual e da locomoção, sintomas estes relacionados a transtornos depressivos e de ansiedade no DSM-III-R (SIRINATHSINGHJI, 1985; BROWN et al., 1986; SIRINATHSINGHJI, 1987). Ratos que receberam CRH administrado ICV, comparados aos que

receberam solução salina, apresentavam maiores níveis de congelamento induzido por choque (SHERMAN e KALIN, 1988). O congelamento é a inibição máxima da atividade motora e representa a resposta a uma situação de perigo iminente. Ratos que receberam CRH com estrutura de α -hélice (antagonista do CRH) apresentaram, ao contrário, redução dos níveis de congelamento induzido por choque (KALIN et al., 1989). Outros estudos demonstram que o CRH não atua mediando o limiar da dor, através do sistema opióide e vias nociceptivas, e sim mediando a interpretação da magnitude do estímulo e as respostas fisiológicas e comportamentais do mesmo (KALIN e TAKAHASHI, 1991).

Outros estudos realizados com ratos, simulando um ambiente natural, fornecem importante sustentação à hipótese do CRH como modulador do comportamento. Vários animais foram colocados num aparato contendo uma câmara escura e protegida, que se abria para uma arena grande e iluminada. Um grupo de ratos recebeu solução salina ICV e o outro CRH com estrutura de α -hélice. Todos os animais, no primeiro dia, esconderam-se na câmara e, após certificarem-se da ausência de perigo, começaram a explorar o ambiente em busca de alimento. O grupo que recebeu antagonista do CRH apresentou menor tempo de latência e menor tempo total na câmara e obtiveram maior número de passagens à arena. Em outra experiência, os mesmos autores compararam a administração de solução salina com CRH, e o grupo tratado com este peptídeo demonstrou um comportamento oposto, isto é, maior tempo total e de latência na câmara e menos passagens à arena (TAKAHASHI et al., 1989). Outro estudo foi feito com ratos tratados com antagonista do CRH ou solução salina. No segundo dia da experiência, foram colocadas nos

cantos da arena fezes e urina de ratos estressados. O odor de fezes e urina de animais estressados da mesma espécie, em pequenos mamíferos, é um importante sinal social de alerta ao perigo e provoca respostas de sobreaviso e de medo. Todos os animais, ao sentirem o odor, entraram imediatamente na câmara. A maior parte do grupo que recebeu placebo passou o resto do tempo neste local, ao passo que o outro grupo saiu para explorar a arena logo em seguida (TAKAHASHI et al., 1990). Estes dois estudos sugerem que tanto a hipoatividade como a hiperatividade do sistema CRH podem ser prejudiciais. No primeiro caso, há uma inibição comportamental com redução da exploração ambiental e atividade motora. No segundo caso, o animal pode negligenciar a possível presença de um predador ou algum outro perigo fatal. O aumento da função do CRH poderia estar relacionado a transtornos associados à timidez, medo e comportamento evitativo, como ansiedade, transtorno do pânico, fobias e depressão. Em contrapartida, a diminuição da função do CRH estaria relacionada a transtornos associados à desinibição exagerada, como o déficit de atenção, hiperatividade, personalidade anti-social e mania (KALIN e TAKAHASHI, 1991). Macacos *Rhesus* adultos parcialmente restritos, que receberam altas doses de CRH ICV, quando comparados a placebo, apresentaram grandes elevações do cortisol e ACTH plasmáticos, pequeno aumento da tensão arterial e excitação no comportamento. Quando receberam a mesma dose, livres dentro da jaula, apresentam encolhimento e deitaram-se, muito semelhante a macacos bebês após longo tempo de separação materna, o que pode ser interpretado como sendo depressão. Estes efeitos não ocorreram devido à sedação, pois quando estimulados respondiam normalmente (HARLOW e SUOMI, 1974).

O CRH, em sua função de mediador comportamental, está intimamente relacionado ao sistema dos benzodiazepínicos (BZD). O alprazolam e o adinazolam, ambos com efeito ansiolítico e antidepressivo, bem como os antidepressivos tricíclicos, baixam as concentrações de CRH no LC. A administração crônica destas drogas suprime a secreção de CRH neste local (GRIGORIADIS et al., 1988; OWENS et al., 1989). Em macacos bebês separados da mãe, a dose de 10 microgramas de CRH administrado ICV reduz o nível de atividade quando comparado ao grupo controle. O diazepam produz efeitos contrários e o β -CCE (antagonista dos BZD) reproduz os efeitos do CRH (KALIN et al., 1987, 1989).

Os efeitos comportamentais do CRH são mediados por sítios no SNC e não periféricamente e nem através do eixo HPA. Este neuropeptídeo, quando administrado via intravenosa não produz nenhuma alteração comportamental, apenas um pequeno aumento do ACTH plasmático (KALIN et al., 1987, 1989). Um estudo que revela a dissociação entre o eixo HPA e os sítios extra-hipotalâmicos de CRH demonstra que o pico de CRH liquórico em macacos *Rhesus* antecede em 14 horas o pico de cortisol liquórico e de cortisol e ACTH plasmáticos (VARGAS et al., 1991).

Em relação à atividade imunológica, a influência do CRH é indireta, pois além de atravessar muito pouco a barreira hematoencefálica, sua administração periférica não influencia a atividade NK. Linfócitos incubados com CRH não apresentam diminuição da atividade NK

(IRWIN, 1991; IRWIN et al., 1987). O CRH somente age de forma direta nos monócitos por meio de receptores específicos. A modulação imunológica do CRH é feita indiretamente, via eixo HPA e LC, através da inervação simpática.

Para finalizar, a diminuição na função do sistema CRH foi encontrada em pacientes com doenças neurodegenerativas. A concentração de CRH está diminuída no córtex cerebral e líquido de pacientes com doença de Alzheimer em comparação a controles, em proporção ao grau de deterioração. Alterações semelhantes foram encontradas nos gânglios basais de pacientes com coreia de Huntington, em pacientes com doença de Parkinson e com paralisia supra-nuclear progressiva (VARGAS et al., 1991).

2.4.5. CONCLUSÕES

Existe uma grande integração entre os sistemas psíquico, neuroendócrino e imunológico, como é demonstrado na figura 5, que só recentemente começa a ser desvendada. Uma ampla rede de comunicação através de terminações nervosas, hormônios, neuropeptídeos e citocinas mantém os sistemas em equilíbrio, promovendo a integridade do organismo. Os sistemas compartilham a propriedade de produzirem grande parte destas substâncias e também de serem modulados por elas. Mesmo em condições ambientais desfavoráveis, em um ambiente estressor, o organismo possui recursos fisiológicos de adaptação. Este é o caso da ativação do eixo HPA com conseqüente liberação de glicocorticóides, bem como da ativação do SNA e liberação de

catecolaminas, ambas induzindo modificações metabólicas essenciais ao organismo nestas situações. Um sistema pode potencializar os efeitos do outro: os glicocorticóides possuem efeito facilitador na síntese e ação da adrenalina, e as catecolaminas podem estimular a secreção de CRH hipotalâmico, além de facilitarem a liberação de ACTH. Para manter o equilíbrio fisiológico, existem substâncias, tanto no eixo HPA como no SNA, que são liberadas simultaneamente e que contrabalançam os efeitos imunossupressores dos glicocorticóides e catecolaminas. No primeiro, temos principalmente a β -endorfina e talvez o ACTH e CRH e, no segundo, as encefalinas. Possivelmente, os efeitos imunossupressores dos glicocorticóides e catecolaminas tenham o papel fisiológico de frear a hiperatividade imunológica que ocorre em determinadas ocasiões, como situações estressantes.

Em muitos indivíduos, a despeito da intensa mobilização metabólica, o equilíbrio é rompido. Isto se reflete, a) na queda da atividade imunológica encontrada em grande parte dos casos de estresse e depressão; b) nas alterações do eixo HPA e dos sistemas serotoninérgico e colinérgico também encontradas na depressão; e c) em outras alterações encontradas em diversas doenças psiquiátricas e no próprio estado crônico depressivo ou de ansiedade, que denotam disfunção no sistema psíquico. Em relação à redução da imunidade, o SNA tem sido apontado como tendo maior responsabilidade que o eixo HPA, de acordo com alguns estudos. Porém, o conhecimento das inter-relações entre sistema neuroendócrino e sistema imune ainda é um campo para novas investigações e por este motivo não podemos ser categóricos em nenhuma afirmação. Também não estão bem definidos os fatores determinantes das alterações fisiológicas encontradas

em diversas doenças psiquiátricas, isto é, por que alguns indivíduos são suscetíveis a apresentarem alterações como a hipercortisolemia e outros não. Sabe-se que estão envolvidos tanto fatores genéticos quanto ambientais, estes últimos dependentes, dentre outros aspectos, da magnitude, qualidade e cronicidade dos estímulos.

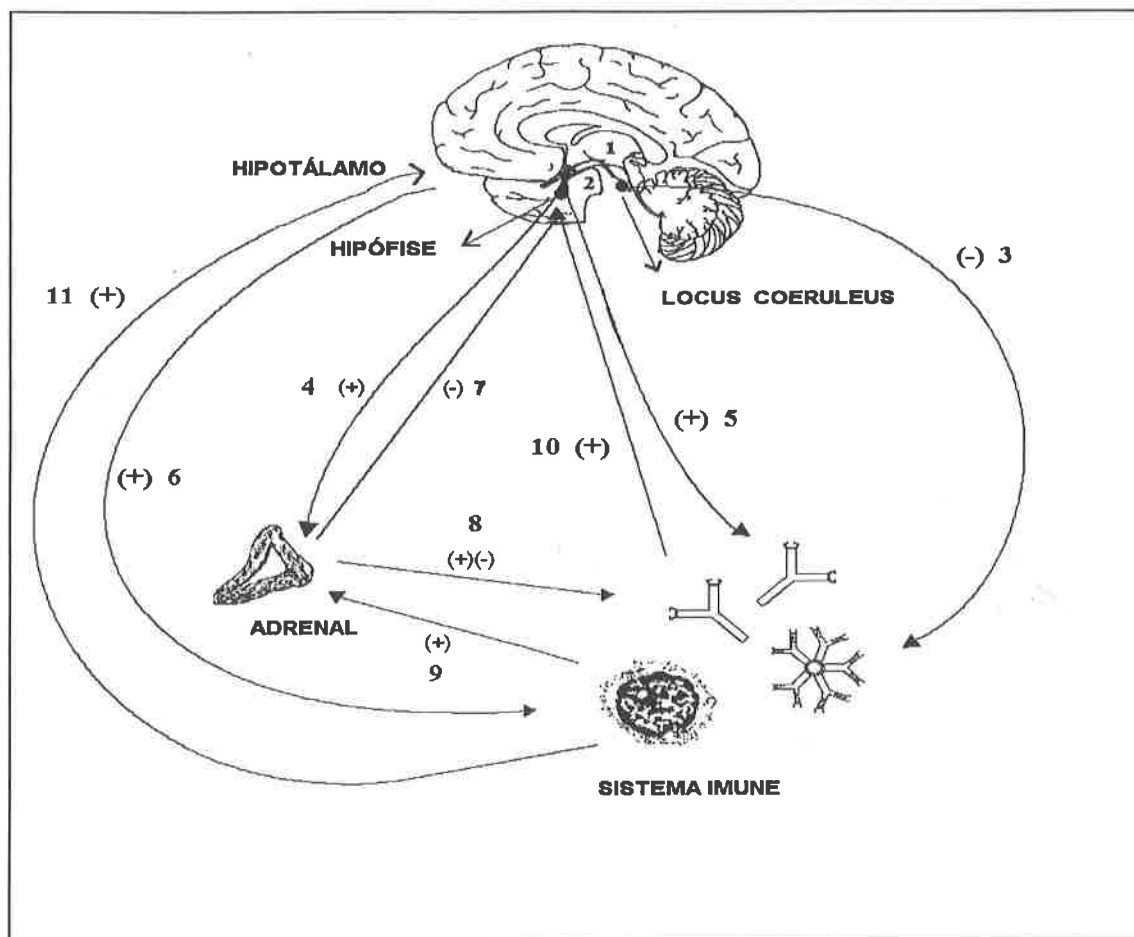


FIGURA 5, Algumas das prováveis relações entre os sistemas neuroendócrino e imunológico: As citocinas e β-endorfinas sintetizadas pelas células do sistema imune atuam em diferentes locais e com múltiplas funções no SNC. 1- Via neuronal (atuando no eixo HPA e locus coeruleus). 2- CRH (hipotálamo). 3- Noradrenalina. 4- ACTH. 5- ACTH, β-endorfina e citocinas. 6- CRH (hipotálamo). 7- Córtex adrenal: glicocorticóides. 8- Medula adrenal: encefalinas (+) e catecolaminas (-), córtex adrenal: glicocorticóides (-). 9- ACTH e IL-1. 10- ACTH, timosina fração-5, IL-1, IL-2, IL-3, IL-6. 11- Timosina fração 5, IL-1, IL-2, IL-3 IL-6. Obs: O sinal (-) se refere à supressão e (+) à estimulação.

O CRH vem despontando como um importante mediador das respostas fisiológicas e comportamentais ao estresse. Em nível periférico, promove modificações metabólicas essenciais através dos glicocorticóides, via eixo HPA, e das catecolaminas, via LC e cadeia nervosa simpática. Em nível central, promove modificações no comportamento, através de sítios extra-hipotalâmicos situados em diversas regiões do SNC.

As descobertas recentes sobre a fisiologia dos transtornos psiquiátricos propiciam novas perspectivas terapêuticas. Alguns estudos preliminares demonstram que a metirapona (inibidor da síntese de glicocorticóides) e o RU486 (antagonista dos glicocorticóides) são eficazes em melhorar as mudanças afetivas associadas à síndrome de Cushing (LOWY et al., 1989). Seria interessante testar estas drogas em pacientes deprimidos com hiperatividade do eixo HPA. Também é promissor o desenvolvimento de uma nova farmacologia que utilize agonistas e antagonistas do CRH. Os agonistas poderiam ser utilizados em transtornos associados à desinibição exagerada e em doenças neurodegenerativas, ambas situações provavelmente associadas à diminuição da função do sistema CRH. Os antagonistas poderiam ser utilizados em transtornos associados à timidez e tendência ao isolamento, como depressão, ansiedade e anorexia nervosa, os quais apresentam, possivelmente, hiperfunção do sistema CRH (VARGAS et al., 1991; KALIN e TAKAHASHI, 1991).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Investigar alterações específicas no funcionamento imunológico em pacientes psiquiátricos com Depressão Maior unipolar.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Verificar se a atividade NK está alterada nos pacientes com DM unipolar em relação ao grupo controle.
2. Observar se as variáveis utilizadas para pareamento como o tabagismo, uso de contraceptivos orais, atividade física, sexo, variações hormonais, idade e nível sócio-econômico podem influenciar as possíveis alterações da atividade NK nos pacientes com DM.
3. Verificar se variáveis clínicas da doença psiquiátrica como severidade dos sintomas, escores da MADRS, tempo de evolução do episódio atual, número de episódios

depressivos prévios e história familiar de doença mental, bem como o estado nutricional são fatores que possam influenciar a atividade NK dos pacientes.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. LOCAL DO ESTUDO

O presente estudo foi realizado no Serviço de Medicina Nuclear do Hospital São Lucas da PUCRS (Porto Alegre, RS), chefiado pelo Dr. Osvaldo Estrela Anselmi e no Ambulatório de Transtornos Afetivos do Serviço de Psiquiatria do Hospital São Lucas da PUCRS, chefiado pelo Dr. Paulo Roberto Zimmermann. As células-alvo empregadas para o estudo, originárias do Centro de Pesquisa Básica do Instituto Nacional do Câncer (Rio de Janeiro, RJ) coordenado pela Dra. Vivian Mary D. B. Rumjanek, foram mantidas em cultura no laboratório de Imunogenética da UFRGS (Porto Alegre, RS), a cargo da Dra. Nance Beyer Nardi, e em laboratório próprio do autor.

4.2. DEFINIÇÃO DE CASOS

Um total de 40 pacientes consecutivos, com idade entre 20 e 63 anos, encaminhados para tratamento em ambulatório especializado para pacientes com diagnóstico de Depressão Maior pelo DSM-III-R (APA, 1987), preencheram os critérios de inclusão no estudo.

Todos os pacientes, após assinarem termo de consentimento pós-informado, foram avaliados através de uma entrevista semi-estruturada e do Inventário do DSM-III-R (HELZERE e JANCA, 1988) e preencheram os critérios para o diagnóstico de Depressão da Associação

Americana de Psiquiatria (tabela 5) (APA, 1987). A entrevista de avaliação foi conduzida pelo pesquisador que é médico com especialização em psiquiatria e com treinamento prévio para utilização deste instrumento de avaliação (ABREU et al., 1994). Este inventário foi elaborado para avaliar as 21 principais categorias de Transtornos Psiquiátricos do Eixo I e Transtorno de Personalidade Antisocial, do eixo II. Operacionaliza os critérios diagnósticos da Associação Americana de Psiquiatria, em sua Terceira Edição Revisada (APA, 1987) e já havia sido aplicada em sua versão espanhola para estudos de diagnóstico psiquiátrico em populações vítimas de desastres na Colômbia e Equador (LIMA, 1991; ABREU, 1994). O Inventário foi traduzido e revisado pelos autores, com discussão posterior da parte léxica, e comparação com a versão original em inglês e com a tradução para português da Terceira Edição de 1980 (ABREU, 1994; ABREU et al., 1994). Esta última foi traduzida de forma mais detalhada dentro do Estudo Multicêntrico de Diagnóstico Psiquiátrico em Comunidade (BUSNELLO et al., 1993).

Tabela 5. Critérios de diagnóstico para episódio depressivo maior. Adaptado do DSM-III-R (APA, 1987).

A. Pelo menos cinco dos seguintes sintomas estiveram presentes durante o mesmo período de duas semanas e representam uma alteração no funcionamento anterior; pelo menos um dos sintomas é ou (1) humor deprimido, ou (2) perda de interesse ou prazer.

(1) humor deprimido (ou irritável, em crianças e adolescentes) na maior parte do dia, quase todos os dias, conforme indicado por relato subjetivo ou observação feita por outros;

(2) perda de interesse ou prazer por todas ou quase todas as atividades do dia;

(3) perda ou ganho de peso significativos (e.g., mais de 5% do peso corporal em um mês), ou diminuição ou aumento no apetite quase todos os dias;

(4) insônia ou hipersonia quase todos os dias;

(5) agitação ou retardo psicomotor quase todos os dias;

(6) fadiga ou perda de energia quase todos os dias;

(7) sentimentos de inutilidade ou culpa excessiva ou inadequada (que pode ser delirante) quase todos os dias (não meramente auto-recriminação ou culpa por estar doente);

(8) capacidade diminuída de pensar e concentrar-se, ou indecisão, quase diariamente;

(9) pensamentos recorrentes de morte (não apenas medo de morrer), ideação suicida recorrente sem plano específico, tentativa de suicídio, ou plano específico para cometer suicídio.

B. (1) não pode ser estabelecido que um fator orgânico tenha iniciado e mantido o distúrbio;

(2) o distúrbio não é uma reação normal à morte de um ente querido (luto não complicado).

C. Em nenhum momento durante o distúrbio houve delírios ou alucinações por mais de duas semanas, na ausência de sintomas de humor proeminentes (i.e., antes dos sintomas de humor se desenvolverem ou após terem cessado).

D. Não sobreposto a Esquizofrenia, Distúrbio Esquizofreniforme, Distúrbio Delirante ou Distúrbio Psicótico sem outra especificação.

Nota: A DM é definida conforme o critério A, acima:

Após o treinamento do avaliador, procedeu-se a determinação da Confiabilidade do Julgamento para as oito categorias diagnosticas consideradas, selecionadas por serem importantes no diagnóstico diferencial da entidade nosológica em estudo, no caso a Depressão Maior. Também foram incluídas as substâncias psicoativas, por poderem influenciar a situação imune do paciente (FERSON et al., 1979; IRWIN et al., 1990). As categorias consideradas foram o Abuso e Dependência de Substâncias Psicoativas, Depressão, Mania, Distímia, Demência, Transtorno Esquizoafetivo, Esquizofrenia e Reação Psicótica Breve. O grau de confiabilidade do instrumento foi determinado através da sua aplicação em 20 sumários de casos selecionados e traduzidos do *DSM-III-R Case Book* (SPITZER et al., 1989). A aplicação do Inventário do DSM-III-R foi realizada por 4 juizes independentemente e medido o grau de concordância através do coeficiente kappa (k) (VIGO e FACHEL, 1989).

TABELA 6. Valores do Kappa e sua interpretação (VIGO e FACHEL, 1989).

VALOR KAPPA:	PODER DE CONCORDÂNCIA:
< 0.00	Muito Pobre, fraco.
0.00 a 0.20	Pequeno
0.21 a 0.40	Médio, Regular, Razoável.
0.40 a 0.60	Moderado
0.61 a 0.80	Superior, substancial
0.81 a 1.00	Quase perfeita

De acordo com os resultados obtidos pode-se considerar que no grupo avaliado, a confiabilidade total obtida para as 8 categorias foi 0,763 e a confiabilidade para Depressão 0,875.

As condições clínicas dos pacientes foram avaliadas através de anamnese, exame físico e avaliação laboratorial. Como a anorexia e o emagrecimento, sintomas comuns na depressão, podem determinar prejuízos na atividade do sistema imune (CHANDRA, 1991; DEKARIS et al., 1993), em todos os pacientes procedeu-se a avaliação do estado nutricional através do cálculo do Índice de Massa Corporal e de exames laboratoriais específicos. O Índice de Massa Corporal (IMC) é calculado através da fórmula:

$$\text{IMC} = \frac{\text{Peso (kg)}}{\text{Altura (m}^2\text{)}}$$

Valores da literatura considerados normais situam-se entre 20 e 25. Abaixo de 20 é considerado baixo peso e entre 25 e 30 sobrepeso; entre 30 e 40 obesidade e acima de 40 obesidade mórbida (BRAY, 1989). Além disso, de acordo com a perda de peso devido ao episódio depressivo, os pacientes foram classificados em quatro grupos: a) com ausência de perda de peso, b) perda de 2,5 kg a 4,5 kg, c) perda de 4,5 kg a 7,0 kg e d) perda maior do que 7,0 kg.

Os exames laboratoriais utilizados para avaliar o estado nutricional foram realizados dentro da rotina dos laboratórios de medicina nuclear *in vitro* e de hematologia do Hospital São Lucas da PUCRS. Foram considerados como padrão os valores de referência dos próprios laboratórios: hemoglobina (homens: 15,5 ± 1,5g/dl; mulheres: 14 ± 2g/dl), albumina plasmática (3,5 a 5,5 g/dl), saturação de transferrina (33,29% ± 13,95%), ferritina (homens 25 a

240 ng/ml e mulheres 11 a 120 ng/ml), vitamina B₁₂ (200 a 950 pg/ml), ácido fólico (3 a 17 ng/ml) e cortisol (5 a 20 µg/dl).

Níveis de ferritina, ácido fólico, vitamina B₁₂, prolactina e cortisol foram medidos por radioimunoensaio (RIE) em duplicatas (Diagnostic Products Corp., Los Angeles, EUA).

Como a atividade física moderada pode contribuir para uma melhor atividade imunológica (SIMON, 1991) e como o desânimo, o retardo psicomotor e a tendência ao sedentarismo são sintomas comuns dos pacientes deprimidos, este foi mais um item a ser avaliado. A atividade física dos pacientes foi mensurada pelo número de horas de esforço físico, como longas caminhadas, corridas, trabalho pesado, etc., suficientes para fazer o indivíduo suar, durante os últimos 7 dias (Von MÜHLEN, 1992). O número de horas obtido serviu para posterior pareamento. O nível sócio-econômico pode estar relacionado à atividade imune na medida em que este se relaciona a estressores psicossociais, possibilidade de aquisição de alimentos e recursos para lazer, esporte e acesso a tratamento médico. Portanto, também realizamos um pareamento neste sentido. Este foi avaliado através da renda familiar *per capita*, calculada como a soma total dos rendimentos da família dividida pelo número de seus membros. Os pacientes foram estratificados em quatro grupos: 1) os que recebem menos de 1 salário mínimo por pessoa; 2) de 1 a 2 salários mínimos, de 2 a 5 salários mínimos e mais do que 5 salários mínimos. Para avaliação do nível sócio-econômico também foi utilizado o alcance escolar e os pacientes estratificados de acordo com quatro grupos: 1) os que não completaram a primeira série; 2) os que completaram

uma ou mais séries do primeiro grau (até 8 anos escolares); 3) os que atingiram o segundo grau (até 11 anos escolares) e 4) os que atingiram o terceiro grau. Esta forma de classificar o nível sócio-econômico já foi utilizada em um estudo prévio no nosso meio, e serviu para pareamento para que variáveis sócio-econômicas que afetam pacientes e controles fossem as mais semelhantes possíveis (Von MÜHLEN, 1992).

Os pacientes estavam sendo atendidos a nível ambulatorial e somente um dos indivíduos incluídos na amostra necessitou ser encaminhado posteriormente para hospitalização psiquiátrica, devido ao aumento do risco de suicídio. Foram classificados, de acordo com critérios do DSM-III-R, como tendo um episódio do tipo leve, moderado e severo sem fatores psicóticos, severo com fatores psicóticos humor-congruente e severo com fatores psicóticos humor-incongruente (APA, 1987). Também foi questionado para o paciente e para sua família a existência de história de doença mental em familiares com parentesco sangüíneo. Todos os pacientes apresentavam um quadro de Depressão Maior, subtipo unipolar (APA, 1987), o que foi confirmado pela ausência de episódios prévios de períodos de mania ou hipomania e pela ausência de história familiar de Transtorno do Humor Bipolar. Foi investigado, ainda, o número de episódios depressivos prévios, o tempo do episódio atual e os pacientes foram divididos em dois grupos, de acordo com a constelação predominante de sintomas, isto é, psicológicos (idéias de culpa, ruína, dificuldade de concentração, ideação suicida) e vegetativos (dores e outros sintomas somatoformes, retardo psicomotor, anorexia e insônia).

A gravidade da sintomatologia depressiva também foi mensurada através da Escala de Avaliação de Depressão de Montgomery-Asberg (*Montgomery-Asberg Depression Rating Scale - MADRS*) (ASBERG et al., 1978). A escala MADRS já foi aplicada e validada no Brasil por DRATCU et al. (1985, 1987), possuindo uma variação de zero (0) a sessenta (60) pontos. À maior pontuação corresponde maior gravidade do quadro depressivo. Em nosso meio temos o trabalho de KAPZINSKI (1991), que faz uso desta escala para avaliação dos pacientes deprimidos. Segundo DRATCU et al. (1985), algumas das vantagens do uso da MADRS sobre outras escalas consiste no fato de possuir apenas 10 itens, o que torna mais simples sua aplicação, permite uma maior maleabilidade ao entrevistador, além de não apresentar pontos contraditórios. Sugere, ainda, que a MADRS é mais sensível a modificações mais sutis e precoces na sintomatologia, o que talvez a torne capaz de avaliar a resposta ao tratamento com maior precisão e antecedência, especialmente nos casos mais graves. No presente trabalho, a utilização da MADRS tem como objetivo a quantificação da severidade dos sintomas depressivos, para que os dados pudessem ser comparados aos achados de atividade NK.

4.2.1. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Para aqueles pacientes com suspeita de alguma condição clínica que pudesse interferir nos achados do estudo, como a presença de um quadro de infecção ativa, hipertireoidismo e outros, foram solicitados exames complementares adicionais e o paciente encaminhado para avaliação por especialista. Desta forma, somente fizeram parte do estudo pacientes em que após todo o processo de avaliação não foi detectada outra condição clínica, além da Depressão Maior. Com exceção de 12 pacientes que usavam anticoncepcionais orais e 12

pacientes que utilizaram benzodiazepínicos de curta ação, interrompendo 48 horas antes da coleta de células mononucleares, todos não faziam uso contínuo de medicamentos ao menos 6 meses antes da inclusão no estudo. Também foi considerado como critério de exclusão a presença de abuso e dependência de substâncias psicoativas, com exceção do tabagismo. Foi considerado critério de exclusão um diagnóstico positivo para demência e se os sintomas depressivos eram consequência de um quadro de esquizofrenia.

Como existem evidências de que a displasia de colo uterino causada pelo papilomavírus e o câncer de colo uterino podem estar associados a baixa atividade NK (BALARAM et al., 1988), todas as mulheres que não tinham exame ginecológico e citopatológico de colo uterino com resultado negativo há menos de um ano foram encaminhadas para avaliação ginecológica. Nenhuma paciente foi afastada por tais diagnósticos.

4.3. DEFINIÇÃO DE CONTROLES

Uma população de 40 indivíduos foi selecionada como controle. Foi critério de inclusão que os mesmos não apresentassem doença ativa que pudesse afetar sua atividade imune. Os controles também não tinham história passada de doença psiquiátrica, nunca haviam buscado atendimento psiquiátrico e no momento não apresentavam queixa de problemas psíquicos, tais como ansiedade ou depressão. Nenhum deles tinha história de um estressor recente, como perda do emprego, luto, acidentes pessoais e na família. Nenhum fazia uso de fármacos, com exceção de contraceptivo oral para as mulheres. Sabe-se que as alterações hormonais influenciam a imunidade

dos indivíduos (SULKE et al., 1985; McCRUDEN e STIMSON, 1991). Por este motivo, as mulheres foram divididas em dois grupos, as que se apresentavam em idade fértil e com ciclos menstruais regulares e as que estavam no climatério e/ou na menopausa. Procurou-se, então, o pareamento de pacientes e controles de acordo com estes dois grupos, bem como pelo uso de contraceptivo oral. As mulheres controles também tinham citopatológico de colo uterino negativo há menos de um ano. Pacientes e controles foram pareados por sexo. Também foi feito o pareamento por idade, considerando-se que os controles poderiam ter no máximo até 5 anos a mais ou a menos do que o paciente. Realizou-se também o pareamento por raça, uso de tabaco, número de horas de atividade física e nível sócio-econômico. Na impossibilidade de o autor sempre parear todas as variáveis optou-se por escolher um controle com piores condições do que o paciente, desta forma criando um viés contra e não a favor dos achados que são objeto do presente estudo.

4.4. DELINEAMENTO DO ESTUDO

O delineamento deste estudo é de casos e controles conforme é ilustrado esquematicamente na figura 6.

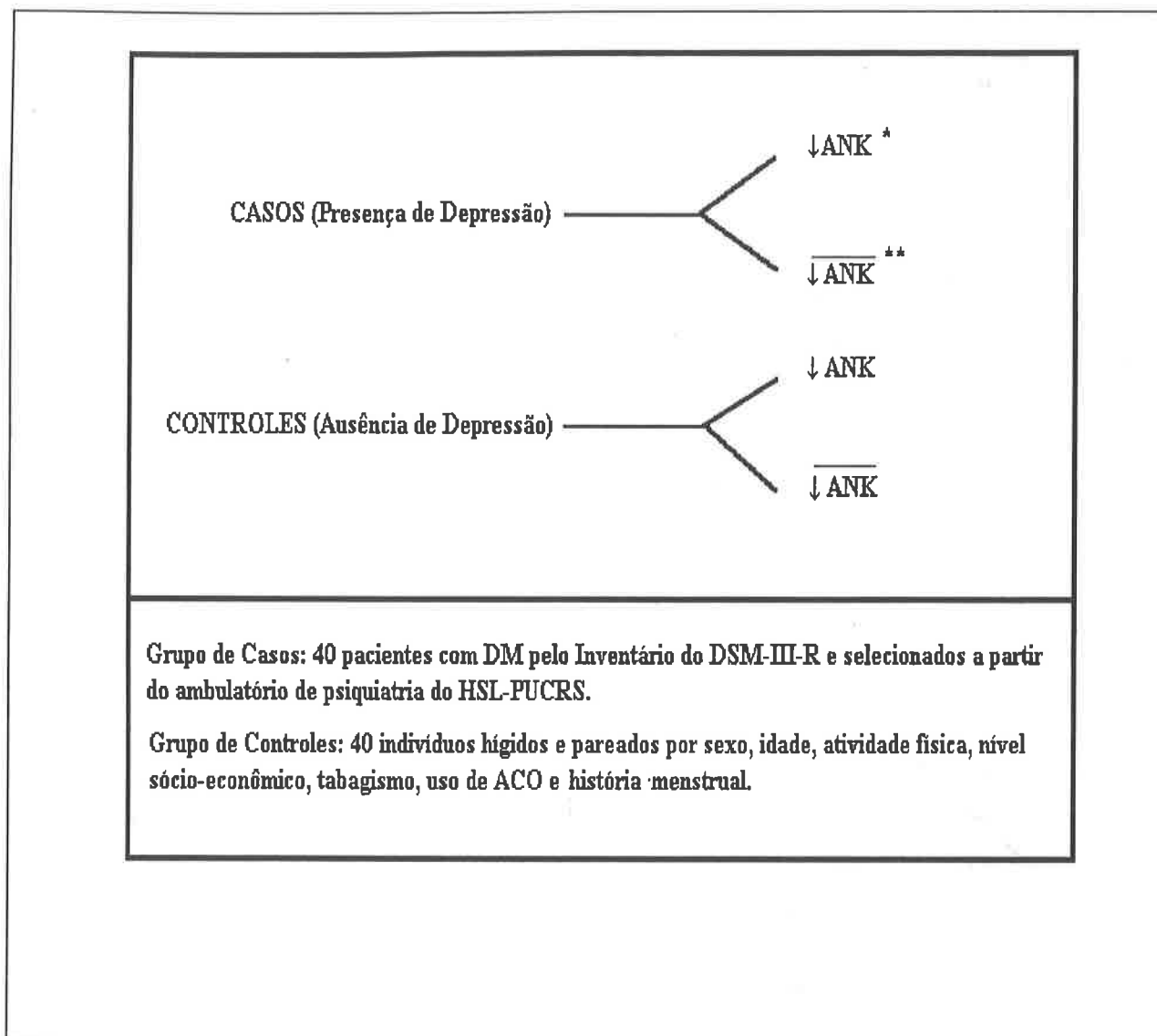


FIGURA 6. Delineamento do estudo. ANK: atividade NK. * atividade NK está diminuída, ** atividade NK não se encontra diminuída.

4.5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE NK

O número de células com atividade NK pode ser avaliado pela marcação de células mononucleares do sangue periférico com anticorpos monoclonais para antígenos de superfície NKH1⁺ e CD-16⁺, seguida pela mensuração com citometria de fluxo das células marcadas pelos

anticorpos. A atividade NK pode ser mensurada também através de ensaios que empregam medidas colorimétricas ou de fluorescência. Entretanto, até o presente momento, o ensaio de citotoxicidade NK que emprega a liberação de ^{51}Cr permanece o mais amplamente utilizado e aceito. O ensaio empregado na pesquisa tem como base o ensaio de citotoxicidade desenvolvido no Instituto Nacional do Câncer (Rio de Janeiro, RJ) (RODRIGUEZ, 1987).

4.5.1. COLETA DE CÉLULAS MONONUCLEARES

Tanto pacientes como controles tiveram seu sangue coletado em seringas estéreis e descartáveis, levemente umedecidas com heparina, entre 8 e 9 horas da manhã. As mesmas condições de coleta existiram para pacientes e controles. O ensaio de atividade NK foi realizado logo após a coleta de sangue para todos os casos.

4.5.2. A EXECUÇÃO DO ENSAIO DE CITOTOXICIDADE NK

A atividade NK é avaliada num ensaio que avalia a citotoxicidade usando células tumorais cultivadas como alvo e células mononucleares isoladas do sangue ou tecidos como efectoras. As células tumorais empregadas como alvo necessitam ser suscetíveis aos linfócitos humanos e, por este motivo, as células K562 é a mais comumente utilizada, uma linhagem celular derivada de paciente com leucemia mielogênica crônica em crise blástica.

4.5.2.1. TRATAMENTO DAS CÉLULAS EFETORAS

Para separação dos linfócitos são coletados 10ml de sangue em seringa levemente umedecida com heparina. Todos os indivíduos tiveram seu sangue coletado em seringas estéreis e descartáveis. O sangue é colocado em um frasco de vidro e homogeneizado. Posteriormente, coloca-se 10 ml de *ficoll-hypaque* (SIGMA, St. Louis, EUA) em tubo de centrifugação e o mesmo volume de sangue é colocado sobre ele, lentamente, de modo a não ultrapassar o *ficoll-hypaque*, conforme é demonstrado na figura 7. Procede-se a centrifugação (400 g) por 30 minutos. A interface que contém células mononucleares é removida com pipeta Pasteur e as células lavadas três vezes com meio de lavagem (e.g., salina ou RPMI-1640), centrifugando-se 3 vezes a 400 g por 5 minutos. Posteriormente os mononucleares são ressuspensos em 1 ml de meio RPMI adicionado a 10% de soro fetal bovino (SFB) (CULTILAB, Campinas, São Paulo). Conta-se os linfócitos em câmara de Neubauer em quatro quadrantes, faz-se a média e ajusta-se para 5×10^6 células/ml.

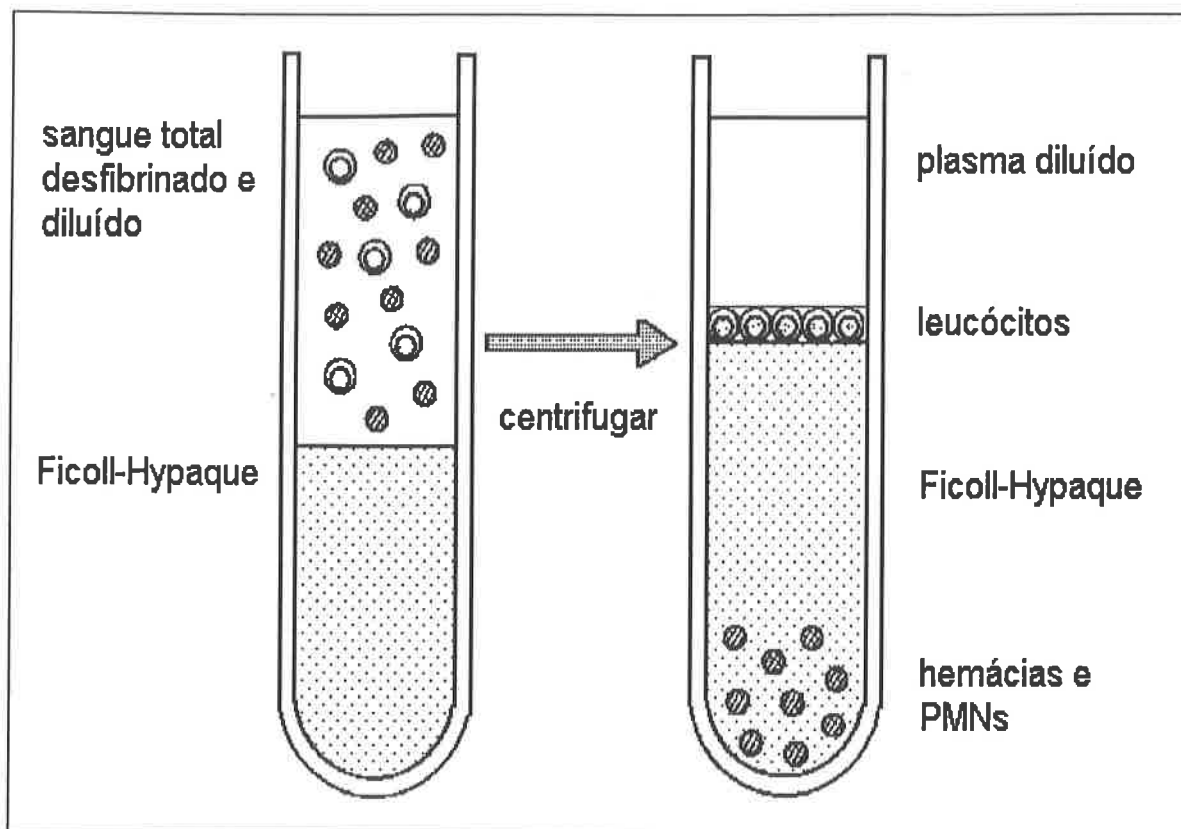


FIGURA 7. Tratamento das Células Efetoras: O sangue coletado é colocado lentamente sobre o *ficoll-hypaque*. Posteriormente é levado para centrifugação durante 30 minutos (400 g). Como resultado temos o anel de leucócitos mononucleares separados dos leucócitos polimorfonucleares, hemácias e do plasma. Desta forma pode-se aspirar os leucócitos com pipeta Pasteur.

4.5.2.3. TRATAMENTO DAS CÉLULAS ALVO (K562)

As células alvo são mantidas em cultura em meio RPMI 1640 (SIGMA, CULTILAB) adicionada a 10% de SFB em estufa de cultura a 37°C e atmosfera com 5% de CO₂. No dia do ensaio, são retiradas da estufa de cultura e levadas para centrifugação a 400 g durante 10 minutos. O sobrenadante é retirado por inversão, e são adicionados 50 µl de SFB para

manutenção das células alvo. Estas são marcadas com 150 μCi de cromato de sódio ($\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$) (IPEN-CENEN, São Paulo) e homogeneizadas. Em seguida são levadas para incubação por duas horas em estufa de cultura e agitadas a cada 15 minutos. Após o período de incubação as células alvo são levadas para centrifugação em 10 ml de RPMI, durante 7 minutos a 400 g. A lavagem é repetida por três vezes com o objetivo de eliminar o cromo radioativo em solução e não integrado ao espaço intracelular. Após a última lavagem o sobrenadante é retirado por inversão e as células suspensas em 1 ml de RPMI com 10% de SFB e, após contagem em câmara de Neubauer, ajustadas para 5×10^4 células/ml.

4.4.2.4. MONTAGEM DO ENSAIO

Utiliza-se para o ensaio placas com 96 poços de fundo em “v” (SIGMA, St. Louis, EUA). As células foram plaqueadas em triplicata com várias razões de células efectoras/células-alvo (100:1, 50:1, 25:1, 12,5:1). Depois de montado o ensaio, a placa é levada para incubação, durante um período de 4 horas, na estufa de cultura a 37°C em atmosfera de 5% de CO_2 .

4.5.2.5. FINALIZAÇÃO DO ENSAIO

Após o período de incubação, aspira-se 100 μl do sobrenadante de cada poço, e despreza-se em tubo plástico próprio e pré-identificado. Levar para o contador gama (PW 4580, Philips, Holanda) e contar cada tubo em canal específico para ^{51}Cr , durante um minuto. O esquema geral de como é realizado o ensaio está representado na figura 8.

O percentual de lise é determinado de acordo com a fórmula:

$$\% \text{ LISE} = \frac{100 \times \text{CPM Experimental} - \text{Liberação Espontânea CPM}}{\text{CPM Total} - \text{Liberação Espontânea CPM}}^1$$

O total é obtido pela medida de ^{51}Cr da mesma quantidade de células-alvo que foi colocada em cada poço. A liberação espontânea (LE) foi recolhida ao final dos experimentos, de poços onde haviam sido colocadas células-alvo com meio completo, ao invés de células efectoras. Foi considerado como limite aceitável a presença de uma LE de, no máximo, 15% do total. Quando a LE excedia este limite, sempre que possível as células eram trocadas por outras com uma melhor viabilidade ou o ensaio foi transferido para outro dia em que novas células estivessem disponíveis. Cada ponto experimental foi feito em triplicata, correspondendo os resultados apresentados à média das determinações (RODRIGUEZ, 1987).

N. A. ¹CPM: Refere-se a Contagens Por Minuto. Estas contagens são obtidas quando levamos os sobrenadantes colhidos nos poços para contagem em contador gama.

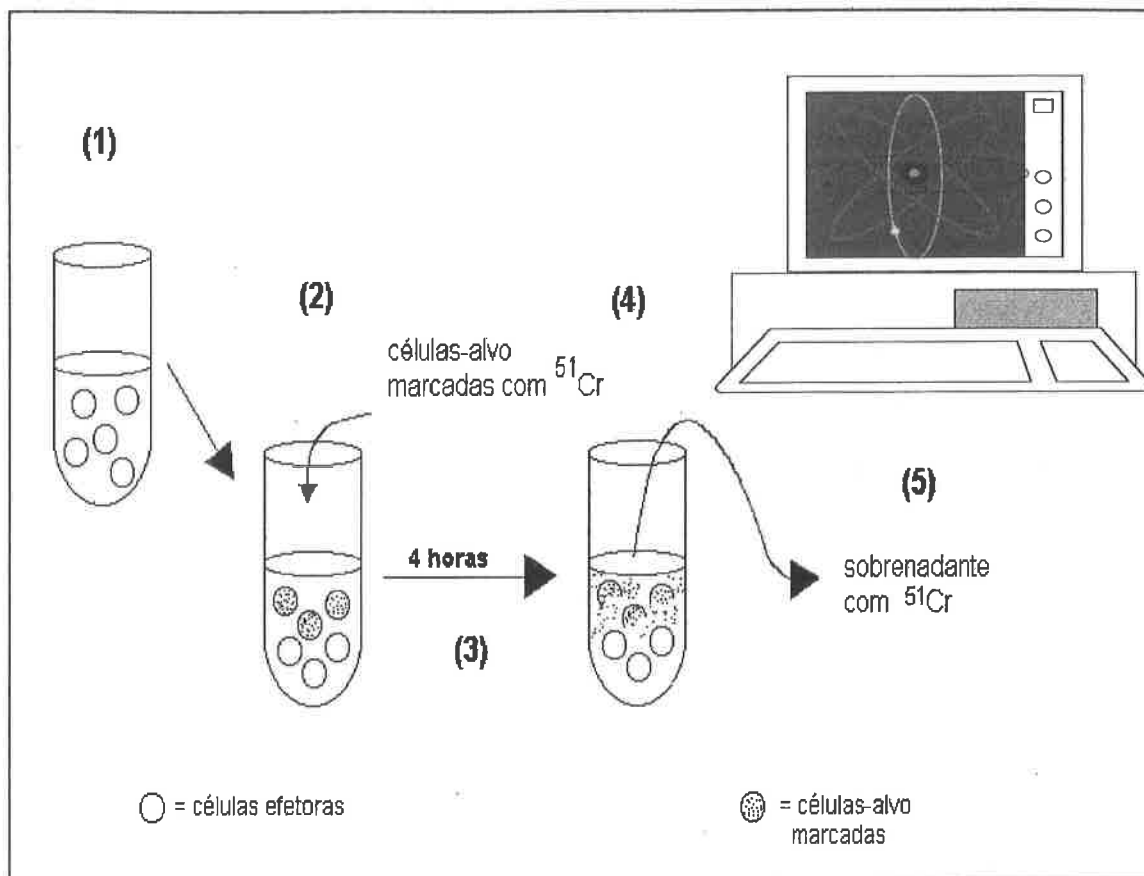


FIGURA 8. Esquema geral do ensaio NK: Procedese à separação das células mononucleares (1), que são colocadas juntas às células-alvo marcadas com ^{51}Cr (2). São levadas para estufa de cultura durante 4 horas (3). As células-alvo são destruídas liberando o material radioativo que fica no sobrenadante, enquanto as células-alvo que restaram e as células mononucleares se depositam no fundo do poço. O sobrenadante é aspirado (4) e levado para contagem em contador gama (5).

4.5.2.6. DEFININDO CONDIÇÕES ÓTIMAS PARA O ENSAIO

Existem diversas condições para uma ótima performance do ensaio NK. O tempo decorrido entre a coleta de sangue e o ensaio é importante, devido à viabilidade das células efetoras. De modo ideal, as amostras sanguíneas devem ser testadas para a atividade NK

imediatamente após sua coleta. Quando isto não for possível elas devem ser separadas por gradiente de *ficoll-hypaque*, como descrito anteriormente, ressuspendidas em RPMI com 10% de SFB e armazenadas a 4°C, por no máximo 18 horas. Isto devido ao fato de geralmente ocorrer uma perda substancial de atividade citotóxica das células efectoras humanas durante qualquer período prolongado de armazenamento. No estudo os ensaios sempre foram realizados logo após a coleta.

Também é importante que as células K562 estejam em fase de crescimento e o meio de cultura não esteja contaminado. Em nosso laboratório, costumamos fazer repiques de 2×10^4 células alvo dois dias antes do ensaio. O ^{51}Cr utilizado deve ter menos de 15 dias, pois sua meia-vida é de 28 dias. O uso do ^{51}Cr além deste período de tempo pode determinar contagens muito baixas, podendo até inviabilizar o ensaio.

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Análise de variância (ANOVA) foi utilizada para comparar a média da atividade NK nos pacientes e nos controles. A análise foi realizada inicialmente para cada nível de diluição e, posteriormente foi utilizado o teste de ANOVA para medidas repetidas onde os diferentes níveis de diluição foram examinados como testes repetidos.

Para analisar as relações entre as variáveis contínuas idade, atividade física, IMC, albumina, vitamina B₁₂, ferritina, saturação de transferrina, ácido fólico, número de episódios prévios e escores da MADRS com a atividade NK, convencionou-se o ponto de corte 50:1, conforme é utilizado na literatura (RODRIGUEZ, 1987), sendo empregado os testes de correlação para dados não-paramétricos de Spearman. Os testes *U* de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis foram usados para analisar as relações entre a atividade NK e as variáveis discretas sexo, uso de ACO, história familiar de doença mental, história menstrual, tabagismo, escolaridade, renda, gravidade do quadro clínico e perda de peso.

Todos os testes foram bicaudais e a diferença foi considerada estatisticamente significativa quando $p < 0,05$. As análises foram realizadas com os pacotes estatísticos SPSS/PC, versão 4 (Chicago, EUA) e Epi Info, versão 6 (Atlanta, EUA).

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA

As características gerais das amostras de pacientes e controles estão sumarizadas na tabela 7. Dos 80 pacientes e controles, 5 eram negróides e 75 caucasóides. Nos pacientes 3 eram negróides e 37 caucasóides e nos controles 2 eram negróides e 38 caucasóides. As idades foram de 20 a 63 anos nos pacientes ($40,6 \pm 11,3$ anos) e de 20 a 59 anos nos controles ($40,5 \pm 11,7$ anos). As idades não variaram em relação aos grupos estudados ($p = 0,97$). Os pacientes possuíam um peso médio de 59 kg (variação de 37 a 87 kg) e altura média de 1,61 m (variação de 1,45 a 1,83 m). Em relação ao sexo, 16 eram homens e 64 mulheres, com a mesma distribuição para pacientes e controles.

Tabela 7. Características gerais da amostra.

<i>VARIÁVEIS</i>	<i>PACIENTES</i>	<i>CONTROLES</i>
Idade (anos)	40,6 ± 11,3	40,5 ± 11,7
Sexo	80% mulheres	80% mulheres
Raça	92,5% caucasóides 7,5% negróides	95% caucasóides 5% negróides

Em relação ao uso de drogas, 10 mulheres (31,3%) usavam ACO. A maioria (70,0%) não estava fazendo uso de BZD. Aproximadamente a metade dos pacientes e controles eram fumantes (tabela 8). Não houve diferença no número de mulheres que faziam uso de ACO,

bem como não foi estatisticamente significativa a diferença, entre os grupos investigados, no número de indivíduos tabagistas ($p = 0,82$).

Tabela 8. Uso de drogas nos indivíduos estudados.

TABAGISMO	PACIENTES	CONTROLES	p =
Sim	18 (46,3%)	19 (53,8%)	0,82
Não	22 (53,7%)	21 (46,2%)	
BZD			
Sim	12 (30,0%)	0	-
Não	28 (70,0%)	40 (100,0%)	
ACO			
Sim	10 (31,3%)	10 (31,3%)	-
Não	22 (68,8%)	22 (68,8%)	

Em relação à renda familiar *per capita*, 22 dos pacientes (55,0%) e 26 dos controles (65,0%), tinham uma renda de 1 a 2 salários mínimos (figura 10). Em relação à escolaridade, a maioria da amostra completou uma ou mais séries do primeiro grau (72,5% dos pacientes e 52,5% dos controles), atingindo até 8 anos escolares (figura 11).

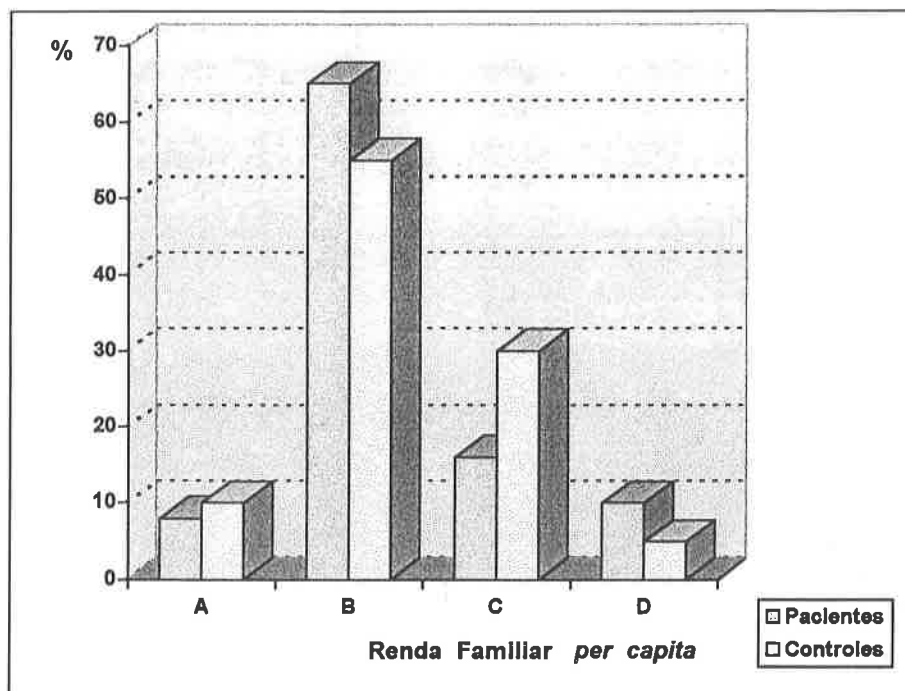


Figura 10. Renda familiar *per capita* dos pacientes e controles. As letras representam a renda *per capita* familiar, sendo menos de um salário mínimo (A), de 1 a 2 salários mínimos (B), de 2 a 5 salários mínimos (C) e mais de 5 salários mínimos (D) ($p = 0,48$).

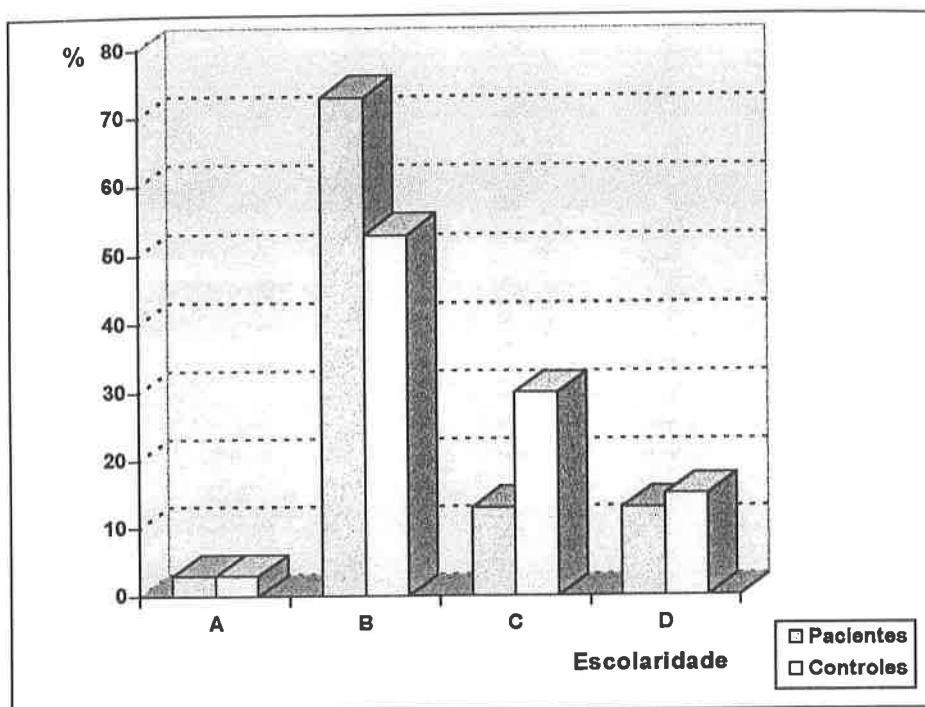


Figura 11. Escolaridade de pacientes e controles. As letras representam o grau de escolaridade, sendo os que não completaram a primeira série (A), os que completaram uma ou mais séries do primeiro grau (B), atingiram o segundo grau (C) e atingiram o terceiro grau (D) ($p = 0,23$).

Trinta e nove por cento dos pacientes não apresentaram perda de peso ao longo do curso da doença, sendo que 25,0% apresentaram perdas maiores que 7,0 kg (figura 12). Apesar da perda de peso, a maioria dos pacientes não apresentavam alterações em relação ao IMC. Quarenta e oito por cento dos pacientes apresentavam peso normal, 30,3% baixo peso, 18,2% peso excessivo e 3,0% obesidade (dados não mostrados). Nenhum paciente apresentou obesidade mórbida. Em relação à atividade física semanal, os pacientes tiveram uma média de $3,0 \pm 6,2$ horas despendidas em exercícios físicos e os controles de $2,8 \pm 7,5$ horas ($p = 0,43$).

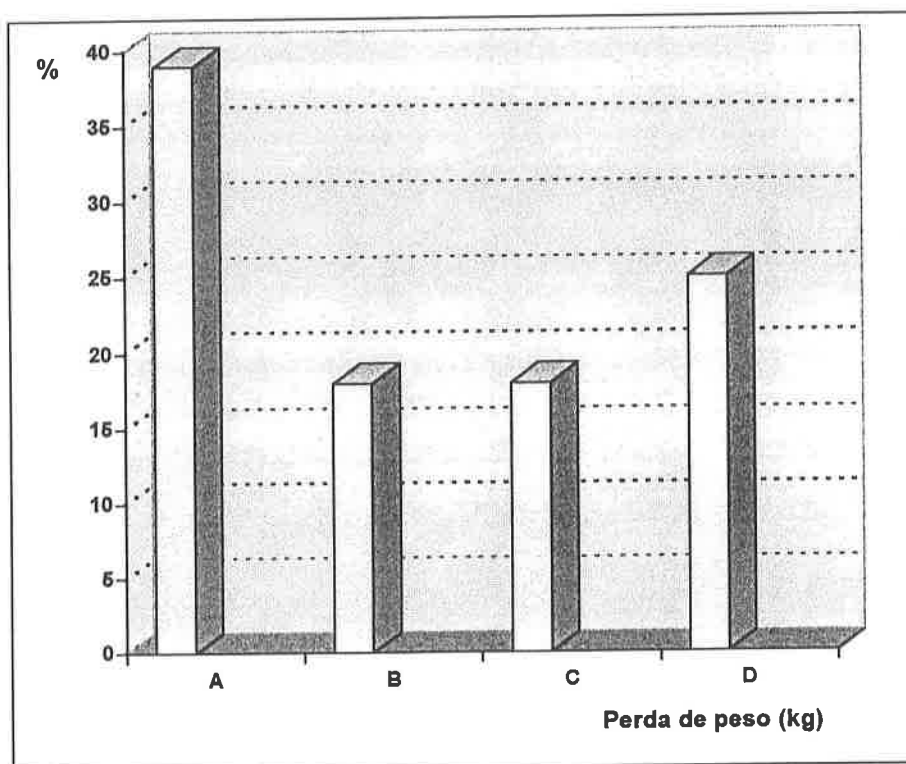


Figura 12. Perda de peso (kg) nos pacientes ao longo da doença: A) sem perda de peso; B) perda de 2,5 kg a 4,5 kg; C) perda de 4,5 kg a 7,0 kg; D) perda maior do que 7,0 kg.

A maioria das mulheres nos grupos de pacientes e controles (71,9%) apresentavam-se menstruando regularmente e 28,1% encontravam-se no climatério ou na menopausa. Os escores da MADRS variaram de 14 a 47 (31 ± 9). Em relação à gravidade do quadro clínico, de acordo com a DSM-III-R (APA, 1987), a maioria dos casos (62,5%) apresentava índices leves de depressão, 25,0% índices moderados e 12,5% apresentavam índices severos com ou sem fatores psicóticos (figura 13).

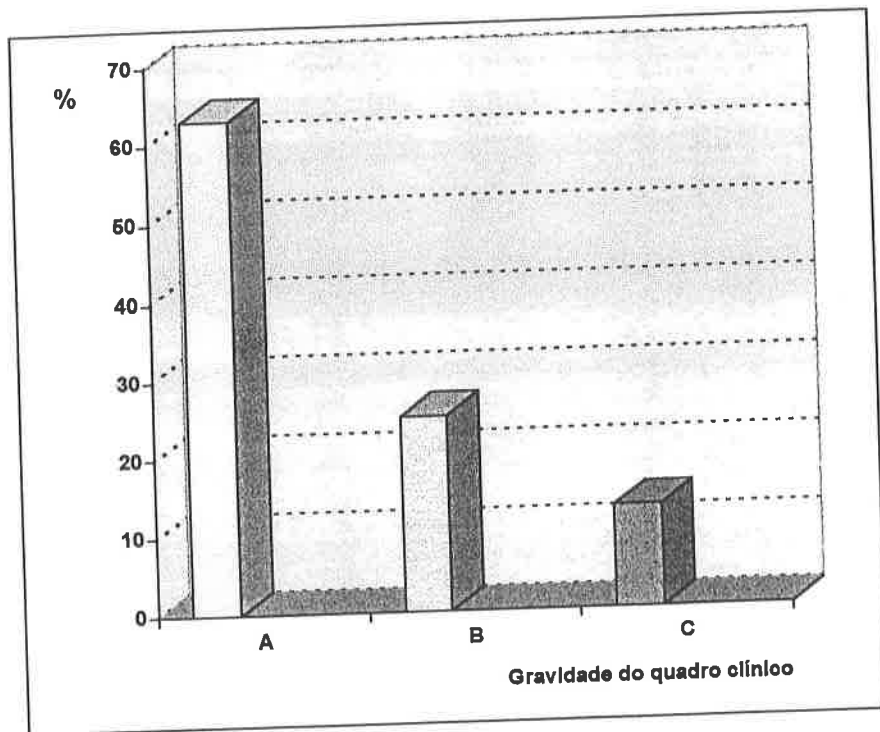


Figura 13. Gravidade do quadro clínico nos pacientes com DM: A) índices leves, B) índices moderados e C) índices severos (com ou sem fatores psicóticos) para depressão.

A maioria dos pacientes tinha história familiar de doença mental (66,7%), sendo que destes 53,0% era de depressão (figura 14). A duração do episódio depressivo atual variava de 1 a 24 meses (média 9,8). Em relação ao número de episódios depressivos no passado ocorreu uma variação de 0 a 5 episódios, sendo que a maioria não tinha qualquer episódio depressivo no passado (52,5%), ou tinha apenas um episódio (25,0%).

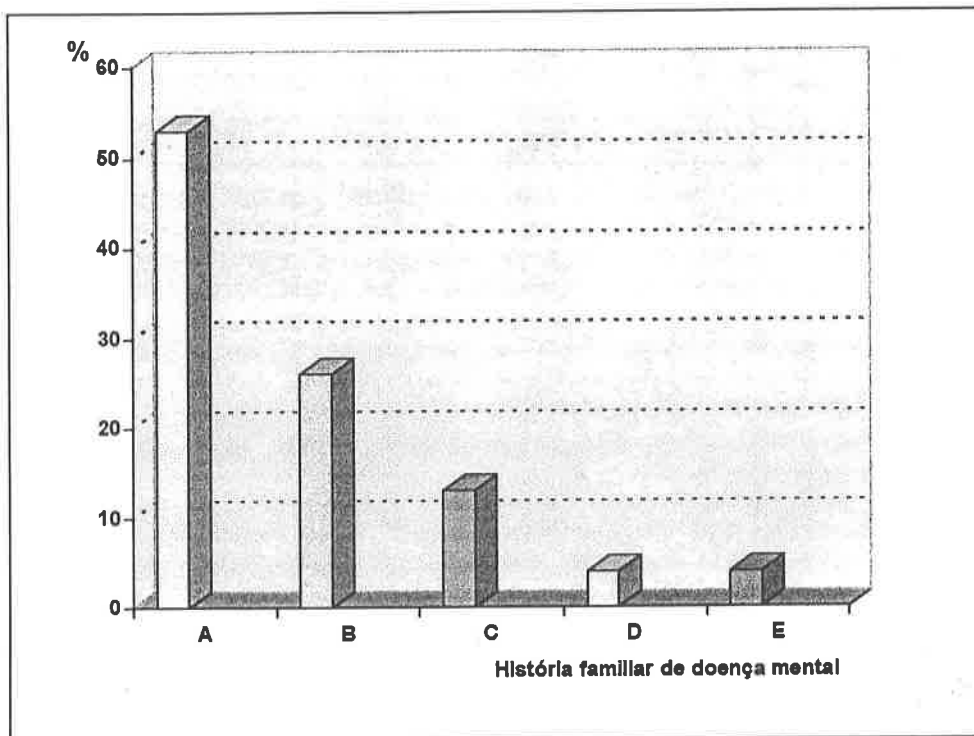


Figura 14. História familiar de doença mental: A) Depressão (53,0%), B) Dependência Química (26,0%), C) Esquizofrenia (13,0%), D) Suicídio (4,0%), E) Ansiedade (4,0%).

As análises citopatológicas apresentaram resultados negativos para displasia e carcinoma de colo uterino para todas as pacientes examinadas. As variáveis nutricionais, hormonais e hematológicas apresentaram valores normais (tabela 9).

Tabela 9. Variáveis nutricionais, hormonais e hematológicas nos pacientes.

VARIÁVEL	MÉDIA ± DP	AMPLITUDE
Ácido fólico (ng/ml)	7,55 ± 6,55	2,3 - 44
Albumina (g/dl)	3,88 ± 0,19	3,4 - 4,3
Vitamina B ₁₂ (ng/ml)	477,75 ± 188,97	100 - 950
Ferritina (ng/ml)	108,15 ± 117,74	10 - 550
Saturação de transferrina (%)	29,51 ± 14,21	10 - 70
Eritrócitos x 10 ⁶ (p/mm ³)	4,54 ± 0,43	3,7 - 5,7
Hemoglobina (g/dl)	13,41 ± 1,14	10,3 - 16
Hematócrito (%)	40,97 ± 3,39	33 - 49
CHCM* (g/dl)	32,82 ± 0,67	32 - 34
VCM** (μ ³)	90,10 ± 5,63	77 - 100
Cortisol (μg/dl)	19,16 ± 9,54	6,2 - 45

DP = Desvio Padrão, *Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média, **Volume Corpuscular Médio.

5.2. RESULTADOS DA ATIVIDADE NK

A atividade NK dos pacientes deprimidos foi significativamente menor do que os controles (figura 15) nas diluições 100:1 (F = 12,48; p = 0,001), 50:1 (F = 11,23; p = 0,001), 25:1 (F = 5,20; p = 0,025) e 12,5:1 (F = 5,88; p = 0,018). Além da análise individual para cada ponto de diluição, realizamos também o teste ANOVA de medidas repetidas por este também ser empregado na literatura na análise dos resultados da atividade NK (F = 10,25; p = 0,0001) (SCHLEIFER et al., 1989). Os dados da atividade NK (% Lise) nos indivíduos estudados, considerando-se cada diluição de forma individual e o teste ANOVA de medidas repetidas, são mostrados abaixo (tabela 10):

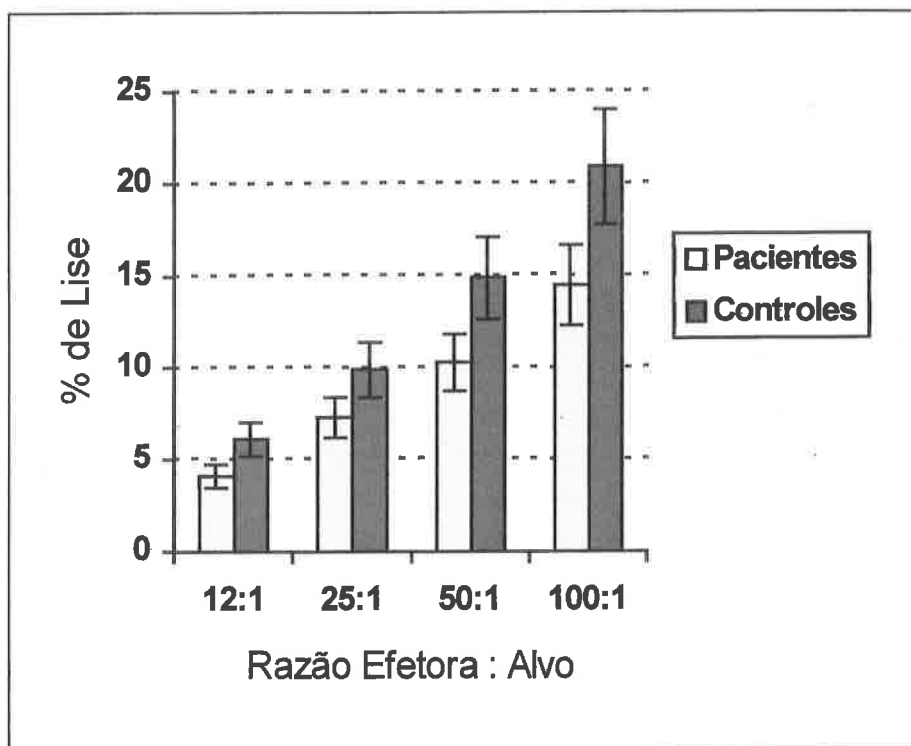


FIGURA 15. Atividade NK nos pacientes com DM e controles. Cada ponto representa a média \pm DP do percentual de lise em cada grupo ($p = 0,0001$).

Tabela 10. Resultados da atividade NK em pacientes e controles.

DILUIÇÃO (efetora:alvo)	PACIENTES (% lise)	CONTROLES (% lise)	F =	p =
100:1	14,47 \pm 8,04	20,88 \pm 8,05	12,48	0,001
50:1	10,30 \pm 5,95	14,90 \pm 6,24	11,23	0,001
25:1	7,28 \pm 5,01	9,88 \pm 5,02	5,20	0,025
12,5:1	4,11 \pm 3,46	6,11 \pm 3,96	5,88	0,018

F = 10,25; p = 0,0001.

Sessenta e cinco por cento dos pacientes apresentaram atividade NK (ponto de corte 50:1) mais baixa que a média (10,3% de lise). A atividade NK mais baixa (4,8% de lise) ocorreu numa paciente (O.R.) com 50 anos de idade. A sua controle possuía 48 anos de idade e

atividade NK de 8,5% de lise. Entretanto, a atividade NK mais alta também ocorreu na paciente (V.G., 39 anos) com 28,5% de lise. A sua controle (A.M.C., 38 anos) mostrou uma atividade NK de 25,0% de lise.

5.3. OUTRAS ASSOCIAÇÕES

Foi avaliado o efeito das variáveis discretas e contínuas na atividade NK (ponto de corte 50:1) dos pacientes deprimidos, bem como nos índices hematológicos (leucócitos, linfócitos e segmentados), conforme é demonstrado na tabela 11. Nesta análise apenas a história familiar de doença mental mostrou-se relacionada à atividade NK. Pacientes que apresentavam história familiar de doença mental detinham uma atividade NK menor (8,9% de lise) do que aqueles sem história familiar (13,42% de lise) ($U = 97$; $p = 0,03$). Além disso, o grupo de indivíduos com história familiar de doença mental possuía um número de leucócitos ($p = 0,03$) e segmentados ($p = 0,005$) diminuído em relação ao grupo sem história familiar. O número de episódios depressivos prévios esteve relacionado com o número de linfócitos no sangue periférico. Pacientes sem episódios depressivos prévios (52,5%) ou aqueles que possuíam 1 episódio depressivo prévio (25,0% da amostra), tinham um número de linfócitos mais elevado em relação aos pacientes com 2 episódios prévios (10,0% da amostra) ($p = 0,01$). Tais achados podem ter se devido ao acaso e como consequência do número de associações estudadas, sendo que provavelmente não apresentem relevância clínica.

Tabela 11. Resultado do efeito das variáveis discretas e contínuas na atividade NK (ponto de corte 50:1) dos pacientes.

VARIÁVEL	TESTE	P =
Sexo	U = 119	0,77
ACO	U = 107	0,92
Tabagismo	U = 152	0,22
Escolaridade	$\chi^2 = 0,70$	0,70
Renda	$\chi^2 = 5,01$	0,17
Gravidade do quadro clínico	$\chi^2 = 2,86$	0,23
História menstrual	$\chi^2 = 1,09$	0,57
Perda de peso	$\chi^2 = 1,61$	0,65
Idade	rs = - 0,04	0,79
Atividade física	rs = - 0,02	0,90
IMC	rs = - 0,02	0,89
Albumina	rs = 0,10	0,51
Vitamina B ₁₂	rs = - 0,20	0,19
Ferritina	rs = - 0,13	0,41
Saturação de transferrina	rs = - 0,21	0,18
Ácido fólico	rs = 0,11	0,49
MADRS	rs = 0,21	0,18
Numero de episódios prévios	rs = 0,14	0,36
Cortisol	rs = - 0,09	0,58

U = Mann-Whitney, χ^2 = Kruskal-Wallis, rs = Correlação de Spearman

6. DISCUSSÃO

Os Transtornos do Humor certamente são tão antigos quanto a própria história das civilizações humanas. A medicina hipocrática já propunha a existência de episódios de mania e de melancolia, que eram relacionados a alterações no funcionamento da bile (TALBOT et al., 1992). A DM constitui um problema importante para a saúde pública, tendo alguns estudos apontado uma prevalência-ponto da DM em adultos de 5 a 9% nas mulheres e de 2 a 3% para os homens, e o risco durante a vida em amostras comunitárias tem variado de 10 a 25% em mulheres e de 5 a 12% para os homens (APA, 1994). Em relação ao curso da doença sabe-se que cerca de 20 a 40% dos casos desenvolvem um curso crônico, com consideráveis prejuízos pessoais e sociais, como o desemprego e o infortúnio matrimonial (WINOKUR e CLAYTON, 1986; BIRD e HARRISON, 1991; TALBOT et al., 1992).

Não obstante os desconfortos diretos da doença devido a alterações somáticas como a anorexia, emagrecimento, insônia ou hipersonia, desânimo, apatia, alterações psicológicas de culpa e baixa auto-estima, temos ainda uma maior incidência de mortes por acidentes e suicídios entre os pacientes deprimidos (WINOKUR e CLAYTON, 1986). Além disso, ainda que seja uma área de intensas controvérsias, esses pacientes podem estar sujeitos a disfunções do seu sistema imunológico e, como conseqüência, apresentarem uma maior suscetibilidade a doenças auto-imunes, câncer e infecções (SHEKELLE et al., 1981; KIECOLT-GLASER e GLASER, 1991; McCRUDEN e STIMSON, 1991; ABBAS et al., 1994).

Entre as alterações imunes encontradas em situações de estresse, no luto e na DM temos um prejuízo da REPLM à PHA, Con-A e PWM e uma diminuição no número e função de células com atividade NK (SENGAR et al., 1982; SCHLEIFER et al., 1984; IRWIN et al., 1987; ALTSHULER et al., 1989; ANDREOLI et al., 1993; MAES et al., 1994). Além disso, estudos têm evidenciado que essas alterações do quadro imune possam ocorrer preferencialmente em subgrupos de pacientes com DM ou com sintomas depressivos, como os indivíduos deprimidos mais idosos e com sintomatologia mais severa (SCHLEIFER et al., 1989; ANDREOLI et al., 1993).

Os trabalhos prévios que avaliaram a atividade NK em pacientes com DM apresentam problemas metodológicos. Em nenhum outro trabalho foi empregado um pareamento tão rigoroso e uma análise de variáveis tão abrangente como no presente estudo, onde encontramos que a atividade NK encontra-se significativamente diminuída nos pacientes com DM, unipolares, ambulatoriais, com relação aos seus controles sadios ($p = 0,001$). O fato de se ter encontrado uma atividade NK reduzida nos pacientes depressivos está de acordo com os achados das investigações prévias que também indicaram um prejuízo na atividade NK desses pacientes (IRWIN et al., 1987, 1989, 1990; URCH et al., 1988; KRONFOL et al., 1989; NEROZZI et al., 1989; FISCHLER et al., 1991; MAES et al., 1991, 1994).

Em outra pesquisa que realizamos em pacientes com DM não foram encontradas alterações nos títulos de imunoglobulinas (IgG, IgM e IgA) e REPLM (PHA, Con-A e PWM) nos

pacientes com DM unipolar ambulatoriais, quando comparados aos seus controles (BAUER et al., 1995). Tomando como base estes resultados e os relativos à atividade NK podemos concluir que a imunidade mediada por células encontra-se preferencialmente comprometida nestes indivíduos.

Os resultados relativos à atividade NK estão de acordo com estudos transversais que sugerem ser tal atividade mais sensível ao estado de DM que outras medidas da atividade imune, como a REPLM e titulação de imunoglobulinas, pois mesmo numa população homogênea, sem sintomatologia severa, a atividade NK apresentou-se diminuída. Também está de acordo com estes achados um estudo longitudinal de 6 meses que avaliou a atividade NK em pacientes com DM e controles, encontrando que a melhora da atividade NK estava relacionada à melhora do quadro clínico de DM (IRWIN et al., 1992). Em um estudo prospectivo com uma pequena amostra (n = 8) realizado em nossa linha de pesquisa também encontramos que um decréscimo na atividade NK inicial dos pacientes em relação aos controles deixava de existir após doze meses de tratamento (LUZ et al., 1995). Está, ainda, de acordo com estes achados um estudo de ANDREOLI et al. (1993), que encontrou um decréscimo no número de células NK em pacientes com DM em relação aos controles. Tais estudos, do ponto de vista metodológico, contribuem decisivamente para a elucidação do tema pelo tipo de delineamento empregado, como o pareamento de pacientes e controles, emprego de escalas para o diagnóstico de DM, bem como pela primeira vez a atividade NK dos pacientes ter sido avaliada não apenas transversalmente, mas também ao longo da evolução da doença.

O aumento dos glicocorticóides na DM é um dos mecanismos apontado como responsável pelas alterações no sistema imune destes pacientes (IRWIN et al., 1987; MAES et al., 1989). Em nosso estudo não foi encontrada uma relação significativa entre níveis séricos de cortisol e atividade NK. Entretanto, nosso achado não é suficiente para excluir esta hipótese, pois é baseado em uma única coleta diária de cortisol e não avaliamos outras variáveis como o cortisol urinário e o Teste de Supressão à Dexametasona. Além disso, somente avaliamos os níveis de cortisol dos pacientes e não dos seus controles. Podemos também considerar que a nossa amostra era de pacientes ambulatoriais e a maioria não se apresentava severamente deprimida. Uma hipótese é que o aumento da atividade do eixo HPA, encontrado por alguns autores, seja uma característica de pacientes com quadros clínicos mais severos. Além disso, este resultado está de acordo com outros trabalhos que não foram capazes de estabelecer uma relação significativa entre a atividade NK diminuída e aumento da função do eixo HPA em pacientes deprimidos (NEROZZI et al., 1989; SCHLEIFER, et al., 1989).

A questão importante seria saber quais os fatores envolvidos na supressão da atividade NK observada em pacientes com DM. O modelo clássico inclui a ativação do eixo HPA como a principal causa do embotamento da atividade NK em pacientes com DM. Tem sido relatada a existência de “laços de retroalimentação” múltiplos e recíprocos entre componentes do SI e neuroendócrino (BLALOCK et al., 1994; PREGER et al., 1995). Conseqüentemente, os efeitos deletérios do estado do humor sobre a função imune podem fazer parte destas múltiplas influências entre o SI e neuroendócrino. Uma outra possibilidade vem dos estudos que encontraram alterações imunológicas associadas com o SNA, na ausência de alterações no cortisol

sérico (PREGER et al., 1995). Sabe-se que os órgãos linfóides estão extensivamente innervados por fibras nervosas noradrenérgicas simpáticas, e a desnervação dos mesmos altera a habilidade dos linfócitos de se acumularem nos tecidos linfóides (i.e., migração linfocitária) (BESEDOVSKY et al., 1979; FELTEN, 1993; OTTAWAY e HUSBAND, 1994). IRWIN et al. (1991) encontraram uma elevação nos níveis plasmáticos de um neurotransmissor simpático, o neuropeptídeo Y em pacientes com DM, quando comparados aos controles. Foi demonstrado que o neuropeptídeo Y inibe a atividade NK (MADHAVAN et al., 1993). A partir destas evidências podemos considerar que outras vias neuroendócrinas, como a noradrenérgica, podem estar envolvidas na regulação da função imune e, em trabalhos subseqüentes, seria importante avaliar também a atividade destas vias. Uma forma através da qual poderíamos avaliar a importância da atividade noradrenérgica seria comparar a atividade NK de controles com indivíduos recebendo clonidina que atua no SNC como um agonista α_2 adrenérgico dos receptores pré-sinápticos inibitórios.

Temos outros fatores que podem estar envolvidos na supressão da atividade NK. Entre eles, o aumento da atividade catecolaminérgica (PREGER et al., 1995), um declínio no número de células NK no sangue periférico (ANDREOLI et al., 1993), modulação por citocinas sintetizadas pelas células mononucleares (MAES, 1995), e possivelmente inibição da expressão de moléculas-chaves para a atividade NK, como IL-2, receptor para IL-2 (IL-2R) e receptores da célula NK, CD2 e CD16. MAES et al. (1991) relataram que a depressão severa é caracterizada pelo aumento do receptor secretado para IL-2 (sIL-2R) que se liga à IL-2 formando um complexo IL-2/sIL-2R e, desta forma, limita a quantidade disponível de IL-2 para estimular células NK.

Recentemente, num estudo de revisão, estes autores relataram que a DM pode estar acompanhada por uma resposta inflamatória que inclui o envolvimento de células fagocíticas, ativação de células T, proliferação de células B, aumento de títulos de auto-anticorpos, maior secreção de prostaglandinas e produção aumentada de IL-1 β e IL-6 por células mononucleares do sangue periférico (MAES, 1995). O aumento da secreção de IL-1 β e IL-6 na depressão severa pode constituir um fenômeno subjacente aos vários aspectos imunes e, ao mesmo tempo, contribuir para a ativação do eixo HPA, desordens do metabolismo da serotonina, e sintomas vegetativos da depressão.

Evidências recentes indicam uma provável ligação de estruturas cerebrais hipotalâmicas e do mesencéfalo na regulação da atividade NK. Foi demonstrado que a estimulação elétrica em ratos no dorso do aqueduto cerebral do mesencéfalo não alterava a REPLM à PHA ou a atividade NK esplênica, porém reduzindo de forma importante a atividade NK do sangue periférico (DEMETRIKOPOULOS et al., 1994). Outro estudo demonstrou que lesões eletrolíticas do hipotálamo lateral de ratos induzem uma redução da atividade NK periférica (WRONA et al., 1994). Nenhuma alteração na atividade NK foi verificada após a destruição do hipotálamo médio. Ainda que não tenham sido reproduzidos em humanos, estes estudos indicam que o hipotálamo lateral e mesencéfalo, sob condições normais, além da função de produtores de impulsos elétricos e estressogênicos, podem ser considerados importantes para a regulação apropriada das células NK do sangue periférico.

Alterações imunológicas determinadas pela desnutrição ou deficiências de um tipo de nutriente são muito similares àquelas observadas na DM. CHANDRA (1991) observou na desnutrição que a proliferação linfocitária, produção de anticorpos e atividade NK estavam reduzidas. Também relatou na desnutrição uma diminuição da REPLM, da produção de anticorpos e da atividade NK. Relatou, ainda, uma diminuição na razão celular $CD4^+ : CD8^+$ e produção diminuída de várias citocinas (i.e., IL-1, IL-2 e INF- γ). Recentemente, um estudo com prisioneiros de guerra desnutridos corroborou estes achados (DEKARIS et al., 1993). As alterações dos principais parâmetros do sistema imune podem resultar do estresse físico e psicológico, bem como da desnutrição experimentada por estes prisioneiros de guerra. SOMMER (1992) relatou que a REPLM *in vitro* pode ser modulada por aminoácidos. Atualmente existem evidências de que pacientes com DM possuem níveis plasmáticos aumentados de serina (MAES et al., 1995) e, especialmente naquelas depressões atípicas e sazonais, concentrações reduzidas de L-triptofano (RODRIGUES et al., 1995). Sabemos, ainda, que a privação de precursores da serotonina na alimentação de pacientes com DM determina um importante aumento nas recidivas dos pacientes, mesmo na vigência de antidepressivos. Sabe-se também que doenças nutricionais como a anemia, pelagra e deficiências de vitaminas (B_{12} , C, ácido fólico) estão associadas a quadros de depressão secundária (RODRIGUES et al., 1995). Contudo, em nosso estudo não foram verificadas alterações significativas nas variáveis nutricionais avaliadas, bem como implicações com a atividade NK (ver tabela 11).

Uma variedade de doenças e drogas (e.g., álcool, reserpina) estão associados com os Transtornos do Humor, tanto a estados de depressão como de mania (tabela 12). Entre os

vários exemplos temos a doença de Cushing, LES, estados gripais, SIDA, esclerose múltipla e doença de Parkinson. A depressão secundária provavelmente contribui para as alterações imunológicas que podem prejudicar a evolução da própria doença básica. Particularmente, foi observado que a depressão crônica precede um declínio nas células CD4⁺ em indivíduos HIV⁺ (RABKIN et al., 1991).

Tabela 12. Algumas causas de depressão secundária.

FÁRMACOS:	reserpina, propranolol, l-dopa, contraceptivos orais, corticosteróides, α -metildopa, abstinência a anfetaminas, dependência química.
ALTERAÇÕES ENDÓCRINAS:	hipertireoidismo, diabetes melitus, síndrome de Cushing, período pré-menstrual e pós-parto.
DISTÚRBIOS NEUROLÓGICOS:	esclerose múltipla, tumor de lobo frontal, encefalites, cerebrites, doença de Parkinson, acidentes cérebro-vasculares, demências.
DISTÚRBIOS IMUNOLÓGICOS:	LES, SIDA.
INFECÇÕES:	mononucleose, tuberculose, hepatite, estados gripais.
DEFICIÊNCIAS VITAMÍNICAS:	vitamina B ₁₂ , folato.

Outra questão a se pensar é que as células do SI ultrapassam a barreira hêmato-encefálica e podem secretar as substâncias por elas produzidas diretamente no cérebro (REICHLIN, 1993). O quanto a produção destas substâncias pode influenciar no quadro clínico

da depressão e sobre a própria atividade imune é uma questão em aberto. Isso torna-se mais relevante quando consideramos que alguns autores relacionam quadros clínicos de depressão com a presença de títulos aumentados de anticorpos para determinados vírus como o vírus de Epstein-Barr e citomegalovírus, evidenciando uma provável ativação policlonal (KRUPP et al., 1991). Em nosso estudo não efetuamos a análise de anticorpos anti-virais.

Uma história familiar de doença mental foi relacionada em nosso trabalho a uma diminuição da atividade NK ($p = 0,03$). Nossos estudos são os primeiros a relacionar implicações genéticas na gênese das alterações imunes observadas nos pacientes deprimidos. Estes dados estão de acordo com a literatura, onde fatores genéticos têm sido implicados na etiologia das depressões (GRAEFF e BRANDÃO, 1993). É sabido que parentes de indivíduos com DM, em relação à população geral, têm risco aumentado para DM (WINOKUR, 1986; RODRIGUES, 1995). Os resultados deste estudo corroboram estes achados, mostrando que 53% dos familiares dos pacientes com história familiar de doença mental tinham depressão. Os cromossomas mais estudados nos Transtornos do Humor são o 11, ou herança dominante ligada ao cromossoma X. Provavelmente os loci em Xq27-28 estariam envolvidos na segregação da depressão (BARCELLOS et al., 1995; RODRIGUES et al., 1995). Contudo, as pesquisas atuais sobre o modo de transmissão dos Transtornos do Humor continuam inconclusivas (BARCELLOS et al., 1995; RODRIGUES et al., 1995). Além disto, muitos estudos apontam para um padrão multifatorial de herança, isto é, vários genes determinando um genótipo que, sob determinadas condições ambientais, resultariam numa expressão fenotípica. Cada gene e cada fator ambiental seriam um fator aditivo. O modelo de herança multifatorial, em termos evolutivos, teria um caráter

mais adaptativo, pois funções tão nobres para a espécie como as do funcionamento cerebral seriam mais protegidas se relacionadas a vários fatores do que a um único determinante genético. Também sabemos que os quadros clínicos dos Transtornos do Humor e, entre eles, o da DM unipolar, com frequência apresentam-se com características distintas (i.e., depressão melancólica, depressão atípica, depressão sazonal, depressão com ou sem sintomas psicóticos), o que pode ser resultado de diferentes fatores etiológicos. O futuro isolamento e clonagem dos genes envolvidos talvez nos auxilie a encontrar respostas para estas questões.

O fato de termos encontrado uma relação entre o prejuízo na atividade NK e a presença de uma história familiar de doença mental nos leva a pensar na existência de uma relação entre os fatores orgânicos que determinam o desenvolvimento da DM e a alteração na atividade NK. Com este propósito apresentamos na figura 16 um modelo sobre as possíveis interações psiconeuroimunológicas envolvidas na depressão: 1) uma possível mutação genética poderia estar relacionada com alterações na função de aminas biogênicas no cérebro e possivelmente ativando mecanismos neuroendócrinos (ativação do eixo HPA e SNA) (GRAEFF e BRANDÃO, 1993); 2) a ativação destas vias tem como resultado uma elevação nos níveis séricos de cortisol, catecolaminas e opióides endógenos e neuropeptídeo Y; 3) substâncias derivadas do eixo HPA e liberadas via SNA podem atuar direta ou indiretamente, via regulação inibitória de citocinas sintetizadas por células T ou monócitos, sobre a atividade NK; 4) a supressão da atividade NK aumenta morbidade e mortalidade (SHEKELLE et al., 1981; ZODERNAN et al., 1989; COHEN e WILLIAMSON, 1991; KIECOLT-GLASER e GLASER, 1991).

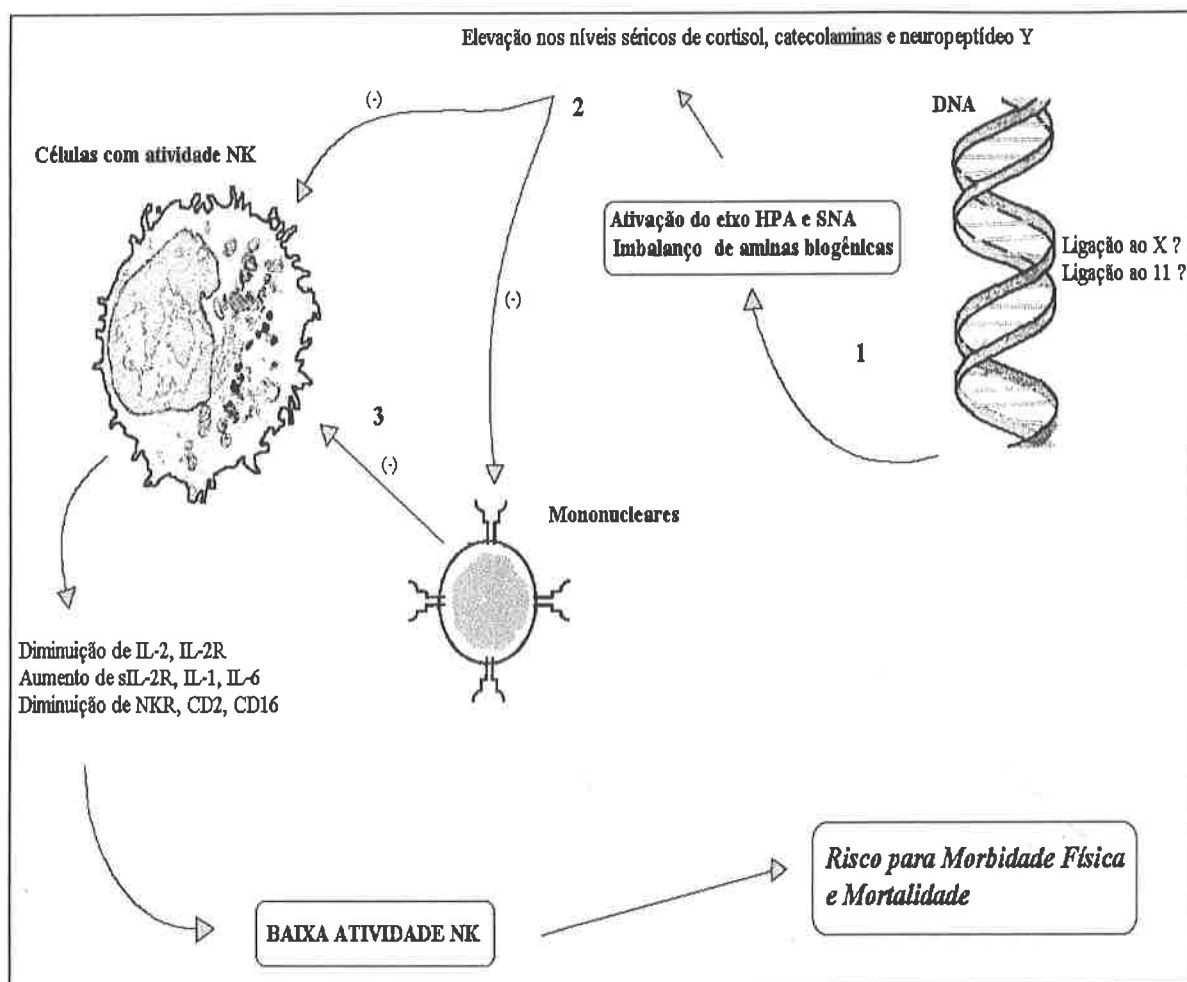


Figura 16. Modelo proposto envolvendo as relações entre genes, SNC e o sistema imune na DM: 1) uma predisposição genética determinaria uma alteração na função de monoaminas e/ou seus receptores no cérebro (e.g. noradrenalina, dopamina, serotonina), ativação do SNA e do eixo HPA, 2) como resultado direto da hiperatividade destas vias, 3) ou indireto via regulação inibitória de citocinas sintetizadas por células T ou monócitos, temos um prejuízo na atividade NK. Outros fatores que podem estar envolvidos no prejuízo da atividade NK são a diminuição dos receptores para IL-2 (IL-2R) e receptores das células NK (NKR) CD2 e CD16. Como resultado temos um risco aumentado de morbidade e mortalidade.

Tem sido demonstrado que os fármacos, em especial os de ação no SNC, prejudicam a atividade NK *in vitro* (MILLER e LACKNER, 1989; LA ROCQUE et al., 1995). Em concentrações semelhantes ou inferiores aos níveis plasmáticos terapêuticos utilizados *in vivo*, o antidepressivo tricíclico cloridrato de nortriptilina é inibitório da proliferação linfocitária e da atividade NK e LAK (FERNANDES et al., 1995). Entretanto, em nosso estudo não existiram diferenças significativas na atividade NK dos pacientes que utilizaram BZD antes do ensaio NK em relação aos que não usaram. Podemos pensar que diferente dos antidepressivos tricíclicos os BZD não influenciam a atividade NK, o que também é confirmado com achados semelhantes de outros autores (MAES et al., 1991; ANDREOLI et al., 1993).

Existem estudos demonstrando que a gestação está associada a um aumento na imunidade humoral e a um prejuízo na imunidade celular e que os estrógenos reduzem a atividade NK (McCRUDEN e STIMSON, 1991). Entretanto, não encontramos nenhuma alteração significativa relacionada ao uso de contraceptivos orais. Está provavelmente de acordo com nosso achado um estudo de BAKER et al. (1985) que encontraram que os contraceptivos orais não afetam as contagens de células NK. Podemos supor que as alterações decorrentes de situações vitais como a gestação sejam de maior impacto no organismo que as devidas ao uso de ACO.

No nosso estudo, além da presença de história familiar de doença mental, não encontramos nenhuma variável clínica, daquelas investigadas relacionada com alterações na atividade NK. Nem a gravidade do quadro clínico, os escores na escala MADRS de depressão e o

predomínio de sintomas psicológicos ou somáticos condicionou alterações na atividade NK. Limitou a nossa possibilidade de comparação dos achados o fato de termos estudado uma população de pacientes ambulatoriais muito homogênea, tratando-se na maioria de quadros depressivos leves e sem risco de suicídio e/ou sintomatologia psicótica importante. Seria provavelmente importante comparar pacientes ambulatoriais leves com pacientes hospitalizados graves, o que não foi objetivo do presente trabalho.

Também não foram relacionadas com as alterações na atividade NK outras variáveis como sexo, idade, nível sócio-econômico, escolaridade, atividade física, história menstrual e tabagismo dentro do grupo de pacientes com DM (ver tabela 11). Provavelmente não encontramos diferenças na atividade NK relacionadas à idade devido a homogeneidade do grupo de pacientes e controles, onde somente uma paciente tinha mais do que 60 anos de idade (C.S.L., 63 anos de idade).

Encontrou-se que a atividade NK está prejudicada nos pacientes em relação aos controles. Entretanto fica ainda a dúvida de o quanto este prejuízo na atividade NK tenha alguma repercussão clínica. Seria esta alteração suficiente para que o paciente com DM se tornasse mais suscetível às doenças causadas por vírus e neoplasias? O prejuízo na atividade NK destes pacientes se prolonga por um grande período de tempo, ou é breve e restrito ao episódio agudo de depressão? Estes indivíduos apresentam realmente a longo prazo uma tendência maior a doenças virais e neoplasias? O prejuízo da atividade NK no sangue periférico dos pacientes reflete um

prejuízo na atividade NK nos possíveis sítios de lesão? Teria o paciente deprimido a mesma falta de sensibilidade e de responsividade dos seus linfócitos às citocinas que os seus receptores pós-sinápticos a nível de SNC apresentam à serotonina e catecolaminas? Sabemos que quando expostos a um agente infeccioso somente uma parte dos indivíduos irá desenvolver uma doença. E que a severidade e duração da sintomatologia varia amplamente entre aqueles que a desenvolvem. O porquê desta variabilidade na resposta ainda não é completamente entendido, mas provavelmente os fatores psíquicos possuem um papel nos fatores relacionados ao hospedeiro.

Todas essas questões são importantes e não serão respondidas por um único estudo. Aliás, este é um campo do conhecimento que apenas recentemente começou a ser elucidado. Deve-se ter em mente que a nossa dificuldade em demonstrar estas relações é um reflexo da limitada habilidade que temos para analisar a complexa biologia imune *in vivo*. Futuros estudos no campo da psiconeuroimunologia irão resultar em conceitos mais elaborados e unificados a propósito das interrelações entre os principais mecanismos integrativos disponíveis aos organismos superiores e uma maior compreensão do organismo humano como um todo. Em especial, da relação entre SNC e atividade NK e suas implicações na saúde e doença humana.

7. CONCLUSÕES

I. Ocorre diminuição da atividade NK nos pacientes com DM unipolar em relação a controles sadios.

II. A ativação do eixo hipotálamo-pituitário-adrenal não pôde ser demonstrada no nosso estudo através da dosagem de cortisol sérico, o que sugere o envolvimento de outras vias neuroendócrinas (e.g. noradrenérgica) na regulação da atividade NK.

IV. O uso de benzodiazepínicos e contraceptivos orais não parece influenciar a atividade NK de pacientes com DM.

V. A presença de história familiar de doença mental esteve relacionada a uma diminuição da atividade NK. Os mesmos fatores genéticos que determinam o quadro de DM podem estar relacionados ao prejuízo na atividade NK.

VI. O prejuízo na atividade NK dos pacientes com DM não se relacionou com alterações nutricionais e hematológicas e não é resultado de sintomas da depressão como o emagrecimento.

VII. O prejuízo na atividade NK não se relacionou com variáveis demográficas (idade, sexo), nível sócio-econômico (renda familiar, escolaridade), atividade física, história menstrual e estado nutricional dos pacientes com DM.

VIII. O prejuízo na atividade NK não se relacionou com variáveis clínicas como a gravidade do quadro de DM, escores na escala MADRS de depressão, número de episódios prévios e tempo de evolução do episódio atual.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AARONE, R., MOLINOFF, P. Changes in the density of β -adrenergic receptors in rat lymphocytes, heart and lung after chronic treatment with propranolol. **J. Pharm. Exp. Ther.**, v.221, p.439-443, 1982.
2. ABBAS, A.K., LICHTMAN, A.H., POBER, J.S. **Cellular. and Molecular Immunology.**, 2nd Ed., Philadelphia : W.B. Saunders, 1994.
3. ABO, T. et al. Interleukin 2 receptor expression by activated HNK1⁺ granular lymphocytes: a requirement for their proliferation. **J. Immunol.**, v.131, p.1822-1826, 1983.
4. ABREU, P. **Estudo de Fatores de Risco para Esquizofrenia.** Tese (Doutorado) - Hospital de Clínicas, Faculdade de Medicina da UFRGS, 1994. 269 p.
5. _____ et al. Estudo de Confiabilidade do DSM-III-R-Checklist. **J. Bras. Psiq.**, v.43, p.561-563, 1994.
6. ADER, R. et al. Behaviourally conditioned immunosuppression. **Psychosom. Med.**, v.37, p.333, 1975.
7. AGOSTINI, C. et al. Phenotypical and functional analysis of natural killer cells in sarcoidosis. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, v.37, p.262-275, 1985.
8. ALBRECHT, J. et al. A Controlled Study of Cellular Imune Function in Affective Disorders Before and during Somatic Therapy. **Psychiatry Res.**, v.15, p.185-193, 1985.
9. ALTSHULER, L.L. et al. Lymphocyte Function in Major Depression. **Acta Psychiatr. Scand.**, v.80, p.132-136, 1989.
10. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION TASK FORCE ON NOMENCLATURE AND STATISTICS; DIAGNOSTIC AND STATISTICAL MANUAL OF MENTAL DISORDERS. 3rd. ed. Revised. Washington: American Psychiatric Association (APA), 1987.
11. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION TASK FORCE ON NOMENCLATURE AND STATISTICS; DIAGNOSTIC AND STATISTICAL MANUAL OF MENTAL DISORDERS, 4nd. ed., Washington: American Psychiatric Association (APA), 1994.
12. ANDREOLI A.V. et al. Depression and Immunity: Age, Severity and Clinical Course. **Brain, Behav. Immun.**, v.7, p.279-292, 1993.
13. AOKI, R. et al. Low NK syndrome (LNKS): clinical and immunologic features. **Nat. Immun. Cell. Growth Regul.**, v.6, p.116-128, 1987.
14. ASBERG, M. et al. The CPRS: development and applications of a psychiatric ranting scale. **Acta Psychiatr. Scand. (suppl.)**, v.271, p.57-27, 1978.
15. BAKER, D. et al. Lymphocyte subsets in women on low dose oral contraceptives. **Contraception**, v.32, p.377-381, 1985.

16. BALARAM, P. et al. Immune Function in Malignant Cervical Neoplasia: A Multiparameter Analysis. **Gynecol. Oncol.**, v.31, p.409-423, 1988.
17. BALLAS, Z.K. Lymphokine-activated killer (LAK) cells: Differential recovery of LAK, natural killer cells, and cytotoxic T lymphocytes after a sublethal dose of cyclophosphamide. **J. Immunol.**, v.137, p.2380-2384, 1986.
18. BANKI, C. et al. CSF corticotropin releasing factor like immunoreactivity in depression and schizophrenia. **Am. J. Psychiatry**, v.144, p.873-877, 1987.
19. BARCELLOS, A.P. et al. Genética dos transtornos afetivos: uma visão crítica. **Rev. Psiqu. RGS**, v.17, p. 4-9, 1995.
20. BARLOZZARI, T., REYNOLDS, C., HERBERMAN, R. *In vivo* role of natural killer cells: Involvement of large granular lymphocytes in the clearance of tumor cells in anti-asialo GM1-treated rats. **J. Immunol.**, v.131, p.1024, 1983.
21. BARTROP, R.W. et al. Depressed Lymphocyte Function After Bereavment. **Lancet**, v.1, p.834-836, 1977.
22. BAUER, M.E., GAUER, G.J.C., NARDI, N.B. Depressão Maior e atividade do sistema imunológico. **Rev. ABP-APAL**, v.15, p.87-94, 1993.
23. _____ et al. Evaluation of Immune Parameters in Depressed Patients. **Life Sci.**, v.57, p.665-674, 1995.
24. BELL, I.R. et al., Depression and Allergies: Survey of a Nonclinical Population. **Psychother. Psychosom.**, v.55, p.24-31, 1991.
25. BENEZUR, M. et al. Dysfunction of natural killer cells in multiple sclerosis: A possible pathogenetic factor. **Clin. Exp. Immunol.**, v.39, p.657-662, 1980.
26. BERRIDGE, C., DUNN, A. Corticotropin relasing factor elicits naloxone sensitive stress-like alterations in exploratory behavior in maes. **Regul. Peptides**, v.16, p.83-93, 1986.
27. BESEDOVSKY, H., et al. Changes in blood hormones levels during the immune response. **Proc. Soc. Experim. Biol. Med.**, v.150, p.466-470, 1975.
28. _____, SORKIN, E. Network of immune-neuroendocrine interactions. **Clin. Experim. Immunol.**, v.27, p.1-12, 1977.
29. _____ et al. Immunoregulation mediated by simpathetic nervous system. **Cell. Immunol.**, v.48, p.346-355, 1979.
30. BINDON, C. et al. Clearance rates and systemic effects of intravenously administered interleukin 2 (IL 2) containing preparations in human subjects. **Br. J. Cancer**, v.47, p.123-133, 1983.
31. BIRD, J., HARRISON, G. **Examination Notes in Psychiatry**. 2nd. ed. London: Butterworth Heinemann, 1991. 348 p.

32. BIRMAHER, B. et al. Cellular immunity in depressed, conduct disorder, and normal adolescents: role of adverse life events. **J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry**, v.33, p.671-678, 1994.
33. BIRON, C., WELSH, R. Activation and role of natural killer cells in virus infections. **Med. Microbiol. Immunol.**, v.170, p.155-172, 1982.
34. _____, BYRON K., SULLIVAN, J. Severe herpes virus infections in an adolescent without natural killer cells. **N. Engl. J. Med.**, v. 320, p.1731-1735, 1989.
35. BLALOCK, J.E. A Molecular Basis for Bidirectional Communication between the Immune and Neuroendocrine Systems. **Physiol. Rev.**, v.69, p.1-32, 1989.
36. _____. The syntax of immune-neuroendocrine communications. **Immunol. Today**, v.15, n.11, p.504-510, 1994.
37. BOCCHINI, G., BONANNO, G., CANIVARI, A. Influences of morphine and naloxone on human peripheral blood T-lymphocytes. **Drug Alcohol Depend.**, v.11, p.233-237, 1983.
38. BOHUS, B., KOOLHAAS, J. Psychoimmunology of Social Factors in Rodants and Other Subprimate Vertebrates. IN: ADER, R., FELTEN, D., COHEN, N. **Psyconeuroimmunology**. 2nd. ed. San Diego: Academic Press, 1991. p.807-830.
39. BONNEAU, R.H., KIECOLT-GLASER, J.K., GLASER, R. Stress-Induced Modulation of the Immune Response. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v.594, p.253-268, 1990.
40. BRADFORD, H.F. **Chemical Neurobiology**. New York : W.H. Freeman & Company, 1986.
41. BRAY, G. Classification and evaluation of the obesities. **Med. Clin. North. Am.**, v.73, p.161-184, 1989.
42. BREY, R., GHARAVI, A., LOCKSHIN, M. Neurologic complications of antiphospholipid antibodies. **Rheum. Dis. Clin. North. Am.**, v.19, p.833-850, 1993.
43. BROWN, M., FISHER, L. Central nervous system defects of corticotropin releasing hormone in the dog. **Brain Res.**, v.280, p.75-80, 1983.
44. _____. CRF: Central nervous system sites of action. **Brain Res.**, v.399, p.10-14, 1986.
45. _____, GRAY, T., FISHER, L. Corticotropin releasing factor receptor antagonist: effects on the autonomic nervous system and cardiovascular function. **Regul. Peptides**, v.16, p.321-329, 1986.
46. _____, VAN EPPS, D. Opioid peptides modulate production of interferon- γ by human mononuclear cells. **Cell. Immunol.**, v.103, p.19-26, 1986.
47. BULLOCH, K., POMERANTZ, W. Autonomic nervous system innervation of thymic-related lymphoid tissue in wild-type and nude mice. **J. Comp. Neurol.**, v.228, p.57-68, 1984.
48. BUSNELLO, E. et al. Morbidade Psiquiátrica na População Urbana de Porto Alegre, **J. Bras. Psiq.**, v.42, p.558-608, 1993.

49. BUZZETTI, R. et al. A critical assesment of the interactions between the immune system and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. **J. Endocrinol.**, v.120, p.183-187, 1988.
50. CALABRESE, J.R. et al. Depression, Immunocompetence, and Prostaglandins of the E Series. **Psychiaty Res.**, v.17, p.41-47, 1986.
51. _____ et al. Alterations in Immunocompetence During Stress, Bereavement, and Depression: Focus on Neuroendocrine Regulation. **Am. J. Psychiatry**, v.144, p.1123-1134, 1987.
52. CALIGIURI, M. et al. Phenotypic and functional deficiency of natural killer cells in patients with chronic fatigue syndrome. **J. Immunol.**, v.139, p.3306-3313, 1987.
53. _____ et al. Selective modulation of human natural killer cells in vivo after prolonged infusion of low dose recombinant interleukin 2. **J. Clin. Invest.**, v.91, p.123-132, 1993.
54. CAPPEL, R, GREGOIRE, F., THIRY, L. Antibody and Cell-Mediated Immunity to Herpes simplex Virus in Psychotic Depression. **J. Clin. Psychiatry**, v.39, p.266-268, 1978.
55. CARR, D., BLALOCK, E. Neuropeptide Hormones and Receptors Common to the Immune and Neuroendocrine Systems: Bidirectional Pathway of Intersystem Communication. IN: ADER, R., FELTEN, D., COHEN, N. **Psychoneuroimmunology**. 2nd. ed. San Diego: Academic Press, 1991. p.573-588.
56. CHANDRA, R.K. 1990 McCollum Award Lecture. Nutrition and Immunity: Lessons From the Past and New Insights into the Future. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.53, p.1087-1101, 1991.
57. CHIN, T.W. et al. Cytotoxic studies in human newborns; lessened allogeneic cell-induced (augmented) cytotoxicity but strong lymphokine-activated cytotoxicity of cord mononuclear cell. **Cell. Immunol.**, v.103, p.241-251, 1986.
58. CHOE, B. et al. Natural Killer cell activity of prostatic cancer patients. **Cancer Invest.**, v.5, p.285-291, 1987.
59. COHEN, N. Behavioral and Immunological Evidence of Reciprocal Signaling between the Immune System and the Central Nervous System. **Periph. Signal. Brain**, v.6, p.37-54, 1991.
60. COHEN, S., WILLIAMSON, G. Stress and Infectious Disease in Humans. **Psycholog. Bull.**, v.109, p.5-24, 1991.
61. DARKO, D.F. et al. Cellular Immunity and The Hypothalamic-Pituitary Axis in Major Affective Disorder: A Preliminary Study. **Psychiatry Res.**, v.25, p.1-9, 1988.
62. _____ et al. Mitogen-Stimulated Lymphocyte Proliferation and Pituitary Hormones in Major Depression. **Biol. Psychiatry**, v.26, p.145-155, 1989.
63. DEKARIS, D. et al. Multiple Changes of Immunologic Parameters in Prisoners of War. **JAMA**, v.270, p.595-599, 1993.
64. DEL PRETE, G. et al. Cytolytic T lymphocytes with natural killer activity in thyroid infiltrate of patients with Hashimoto's thyroiditis: Analysis at clonal level. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v.62, p.52-57, 1986.

65. DEMETRIKOPOULOS, M. et al. Electrical stimulation of the dorsal midbrain periaqueductal gray suppresses peripheral blood natural killer cell activity. **Brain, Behav. Immun.**, v.8, p.218-228, 1994.
66. DORIAN, B. Stress, immunity and illness - a review. **Psycholog. Med.**, v.17, p.393-407, 1987.
67. DOWD, P.S., HEATLEY, R.V. The Influence of Undernutrition on Immunity. **Clin. Scienc.**, v.66, p.241-248, 1984.
68. DRATCU, L., RIBEIRO, L., CALIL, H. Escalas de Avaliação da Depressão e sua utilidade clínica: Hamilton, Montgomery-Asberg e Visual Análoga do Humor. **Rev. Assoc. Bras. Psiq.**, v.7, p.59-65, 1985.
- 69._____. Depression Assessment in Brazil. **Br. J. Psychiatry**, v.150, p.797-800, 1987.
70. EGAN, M. et al. Natural killer cells in systemic lupus erythematosus: Abnormal numbers and functional immaturity of HNK1⁺ cells. **Arthritis Rheum.**, v.26, p.623-629, 1983.
71. ELLIOT, G.R., EISDORFER, C. **Stress and Human Health**. New York: Springer Publishing, 1982.
72. ENDICOTT, J., SPITZER, R.L. A Diagnostic Interview: The Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.35, p.837-844, 1978.
73. EVANS, D.L. et al. Circulating Natural Killer Cell Phenotypes in Men and Women With Major Depression. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.49, p.388-395, 1992.
74. FAASSEN, A.E. et al. Diminished Heat-Shock Protein Synthesis following Mitogen Stimulation of Lymphocytes from Aged Donors. **Exp. Cell. Res.**, v.183, p. 326-334, 1989.
75. FAGRAEUS, A. et al. Characterization of blood mononuclear cells reacting with K562 cells after yellow fever vaccination. **Cell. Immunol.**, v.67, p.37-48, 1982.
76. FARRAR, J.J. et al. Biochemical Relationship of thymocyte mitogenic factor and factors enhancing humoral and cell-mediated immune responses. **J. Immunol.**, v.121, p.1353-1360, 1978.
77. FARRAR, W. Endorphin modulation of lymphokine activity. **Dev. Neurosci.**, v.18, p.159-165, 1984.
78. FELTEN, D. et al. Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid tissue. **J. Immunol.**, v.135, p.765-775, 1985.
- 79._____. et al. Central Neural Circuits Involved in Neural-Immune Interactions. IN: ADER, R., FELTEN, D., COHEN, N. **Psychoneuroimmunology**. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1991. p. 3-25.
- 80._____. Direct innervation of lymphoid organs: substrate for neurotransmitter signaling of cells of the immune system. **Neuropsychobiology**, v.28, p.110-112, 1993.
81. FELTEN, S., HOUSEL, J., FELTEN, D. Use of *in vivo* dialysis for evaluation of splenic norepinephrine and serotonin. **Soc. Neurosci. Abstr.**, v.12, p.1065, 1986.

82. _____, OLSCHOWKA, J. Noradrenergic sympathetic innervation of the spleen, II: tyrosine hydroxylase (TH)-positive nerve terminals form synaptic-like contacts of lymphocytes in the splenic white pulp. **J. Neurosci. Res.**, v.18, p.37-48, 1987.
83. FERNANDES, L. et al. Ação do antidepressivo tricíclico cloridrato de nortriptilina (Pamelor) sobre a proliferação de linfócitos, atividade da célula Natural Killer (NK) e células citotóxicas ativadas por linfocina (LAK). Congresso da FESBE, Serra Negra, agosto, 1995.
84. FERSON, M. et al. Low Natural Killer-Cell Activity and Immunoglobulin Levels Associated with Smoking in Human Subjects. **Int. J. Cancer**, v.23, p.603-609, 1979.
85. FISCHLER, B. et al. Major Depressive Disorder, Endogeneity and Natural Killer Cell Numbers and Activity. **Int. J. Neurosci.**, v.5, p.357-358, 1990.
86. FLEISS, J. Measuring Nominal Scale Agreement Among many raters. **Psycholog. Bull.**, v.76, p.378-382, 1971.
87. FOOTE, S., BLOOM, F., ASTON-JONES, G. Nucleus locus coeruleus: new evidences of anatomical and physiological specificity. **Physiol. Rev.**, v.63, p.844-914, 1983.
88. FRIZZERA, A. et al. Polymorphic diffuse B-cell hyperplasia in lymphomas in renal transplant recipients. **Cancer Res.**, v.41, p.4262-4271, 1981.
89. FROELICH, C. et al. Deficient interleukin-2 activated killer cell cytotoxicity in patients with systemic lupus erythematosus. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, v.50, p.132-145, 1989.
90. GATTI, G. et al. Interplay *in vitro* between ACTH, β -Endorphin, and Glucocorticoids in the Modulation of Spontaneous and Lymphokine-Inducible Human Natural Killer Cell Activity. **Brain Behav. Immun.**, v.7, p.16-28, 1993.
91. GAUER, G.J.C., SILLA, L.M.R.S., Von MÜHLEN, C.A. Desordem Depressiva Maior e Atividade das Células Natural Killer. **Rev. Psiqu. do R.G.S.**, v.14, p.169-179, 1992.
92. _____ et al. Atividade *natural killer*: implicações na saúde e na doença humanas. **Rev. AMRIGS**, v.39, p.75-81, 1995.
93. GILLIS, S., SMITH, K.A. Long-term culture of tumor specific cytotoxic T cells. **Nature**, v.268, p.154-156, 1977.
94. GILMORE, W., WEINER, R. β -endorphin enhances interleukin-2 production in murine lymphocytes. **J. Neuroimmunol.**, v.18, p.125-138, 1988.
95. _____. The opioid specificity of β -endorphin enhancement of murine lymphocyte proliferation. **Immunopharmacology**, v.17, p.19-30, 1989.
96. GINSBURG, C. et al. Impaired natural killer cell activity in patients with inflammatory bowel disease: Evidence for a qualitative defect. **Gastroenterology**, v.85, p.846-851, 1983.
97. GOETZL, E.J., ADELMAN, D.C., SPREEDHARAN, S.P. Neuroimmunology. **Adv. Immunol.**, v.48, p.161-190, 1990.
98. GOLD, P., GOODWIN, F., CHROUSOS, G. Clinical and biochemical manifestation of depression. **N. Engl. J. Med.**, V.319, p.413-420, 1988.

99. GOODWIN, J.S., WEBB, D.R. Review: Regulation of the Immune Response by Prostaglandins. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, v.15, p.106-122, 1980.
100. GORELIK, E. et al. Role of NK cells in the control of metastatic spread and growth of tumor cells in mice. **Int. J. Cancer**, v.30, p.107-312, 1982.
101. GRAEFF, F.G., BRANDÃO, M.L. **Neurobiologia das Doenças Mentais**. 2nd. ed. São Paulo: Lemos, 1993. 188 p.
102. GRIGORIADIS, D., PERSALL, D., DE SOUZA, E. Effects of cronic anti depressant and benzodiazepine treatment on corticotropin-releasing factor receptors in rat brain and pituitary. **Neuropsychopharmacology**, v.2, p.53-60, 1988.
103. GRIMM, E.A. Human llymphokine-activated killer cells (LAK cells) as a potential immunotherapeutic modality. **Biochim. Biophys. Acta**, v.865, p.267-279, 1986.
104. GUYTON, A. Os Hormônios Cortico-Supra-Renais. **Tratado de Fisiologia Médica**. 8nd. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. Cap. 77, p. 741-752.
105. HADDEN, J., HADDEN, E., MIDDLETON, E. Lymphocyte host transformation, I: demonstration of adrenergic receptors in human peripheral lymphocytes. **J. Cell. Immunol.**, v.1, p.583-595, 1970.
106. HALIOTIS, T. et al. Chediak-Higashi gene in humans. Impairment of natural killer function. **J. Exp. Med.**, v.151, p.1029-1048, 1980.
107. HAMEED, A. et al. Cytolysis by Ca-permeable transmembrane channels: pore formation causes extensive DNA degradation and cell lysis. **J. Exp. Med.**, v.169, p.765, 1989.
108. HANNA, N. Role of natural Killer cell in control of cancer metastasis. **Cancer Metastasis Rev.**, v.1, p.45, 1982.
109. HANTO, D. et al. Epstein-Barr virus, immunodeficiency and B cell lymphoproliferation. **Transplantation**, v.39, p.461-472, 1985.
110. HARLOW, H., SUOMI, S. Induced depression in monkeys. **Behav. Biol.**, v.12, p.273-296, 1974.
111. HATA, K. et al. Natural killer activity of human liver-derived lymphocytes in various hepatic diseases. **Hepatology**, v.14, p.495-503, 1991.
112. HEFENEIDER, S.H. et al. *In vivo* interleukin 2 administration augments the generation of alloreactive cytolytic T lymphocytes and resident natural killer cells. **J. Immunol.**, v.130, p.222-227, 1983.
113. HEILIG, M. et al. Sympathetic Regulation of T-Helper Cell Function. **Brain. Behav. Immun.**, v.7, p.154-163, 1993.
114. HEISKALA, M. et al. Characteistics of soluble tumor-derived lymphocites in various hepatic disease. **Hepatology**, v.14, p.495-503, 1988.

115. HELLSTRAND, K., HERMODSSON, S., STRANNEGARD, O. Evidence for beta adrenoceptor mediated regulation of human natural killer cells. **J. Immunol.**, v.134, p.4095-4099, 1985.
116. HELZER, J., JANCA, A. **DSM-III-R Criteria Checklist**. St. Louis, 1988. 47p. (mimeo)
117. HENDERSON, C., CANELLOS, G. Cancer of the breast: The past decade. **N. Engl. J. Med.**, v.30, p.302-317, 1980.
118. HENKART, Pierre A. Mechanism of Lymphocyte-Mediated Cytotoxicity. **Annual Rev. of Immunol.**, v.3, p.31-58, 1985.
119. HERBERT, T., COHEN, S. Depression and immunity: a meta-analytic review. **Psychol. Bull.**, v.113, p.472-486, 1993.
120. HERCEND, D.T., SCHMIDT, R.E. Characteristics and uses of natural killer cells. **Immunol. Today**, v.9, p.291-293, 1988.
121. _____ et al. Immunotherapy with lymphokine-activated natural killer cells and recombinant interleukin 2: a feasibility trial in metastatic renal cell carcinoma. **J. Biol. Resp. Mod.**, v.9, p.546-555, 1990.
122. HERMAN, J., KEW, M., RABSON, A. Defective interleukin-1 production by natural killer cells of patients with cancer. **Cancer Immunol. Immunother.**, v.19, p.148-153, 1985.
123. HERSEY, P. et al. Low natural killer-cell activity in familial melanoma patients and their relatives. **Brit. J. Cancer**, v.40, p.113-122, 1979.
124. HERTZ, L., McFARLIN, D.E., WAKSMAN, B.H. Astrocytes: Auxiliary Cells for Immune Responses in the Central Nervous System. **Immunol. Today**, v.11, p.265-268, 1990.
125. HICKIE, I. et al. Editorial: Is there Immune Dysfunction in Depressive Disorders? **Psycholog. Med.**, v.20, p.755-761, 1990.
126. HIRAI, N. et al. Natural killer (NK) cell activity and its *in vitro* response to interferon-alpha in chronic liver diseases and hepatocellular carcinoma. **Liver**, v.6, p.212-220, 1986.
127. HIROFUJI, H. et al. Natural Killer inactivated killer activities in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma: Evidence for a decreased lymphokine-induced activity of effector cells. **Clin. Exp. Immunol.**, v.68, p.348-356, 1987.
128. HO, M. et al. The frequency of Epstein-Barr virus infection and associated lymphoproliferative syndrome after transplantation and its manifestations in children. **Transplantation**, v.45, p.719-727, 1988.
129. HOFFMAN, T. Natural killer function in systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum.**, v.23, p.30-35, 1980.
130. HOLBROOK, N., COX, W., HORNER, H. Direct suppression of natural killer activity in human peripheral blood leukocyte cultures by glucocorticoids and its modulation by interferon. **Cancer Res.**, v.43, p.4019-4025, 1983.

131. HOLMES, G.P. et al. Chronic fatigue syndrome: A working case definition. **Ann. Int. Med.**, v.108, p.387-389, 1988.
132. HOMO-DELARCHE, F., DARDENNE, M. The neuroendocrine-immune axis. **Springer Semin. Immunopathol.**, v.14, p.221-238, 1993.
133. INTRONA, M., MANTOVANI, A. Natural killer cells in human solid tumors. **Cancer Metastasis Rev.**, v.2, p.337, 1983.
134. IRWIN, M. et al. Life Events, Depressive Symptoms, and Immune Function. **Am. J. Psychiatry**, v.144, p.437-441, 1987.
135. _____, BRITTON, K., VALE, W. Central corticotropin-releasing factor suppresses natural killer cell activity. **Brain Behav. Immun.**, v.1, p.81-87, 1987.
136. _____, SMITH, T., GILLIN, C. Low Natural Killer Cytotoxicity in Major Depression. **Life Sci.**, v.41, p.2127-2133, 1987.
137. _____, HAUGER, R. Adaptation to chronic stress: temporal pattern of immune and neuroendocrine correlates. **Neuropsychopharmacology**, v.1, p.239-243, 1988.
138. _____ et al. Major Depressive Disorder, Alcoholism and Reduced Natural Killer Cell Cytotoxicity. **Arch. Gen. Psychiat.**, v.47, p.713-718, 1990.
139. _____ et al. Reduction of Immune Function in Life Stress and Depression. **Biol. Psychiat.**, v.27, p.22-30, 1990.
140. _____ et al. Neuropeptide Y and natural killer cell activity: findings in depression and Alzheimer caregiver stress. **FASEB J.**, v.5, p.3100-3107, 1991.
141. _____. Cellular Immune Changes in Stress and Depression: Role of Corticotropin-Releasing Factor and Endogenous Opioid Peptides. IN: RISCH, S. **Central Nervous System Peptide Mechanisms in Stress and Depression**. Washington: American Psychiatric Press, 1991. p.105-128.
142. _____, LACHER, U., CALDWELL, C. Depression and reduced natural killer cytotoxicity: a longitudinal study of depressed patients and control subjects. **Psycholog. Med.**, v.22, p.1045-1050, 1992.
143. KALIN, N., SHELTON, S., BARKSDALE, C. Separation distress in infant rhesus monkeys: effects of diazepam and Ro 15-1788. **Brain Res.**, v.408, p.192-198, 1987.
144. _____. Behavioral and physiological effects of CRH administered to infant primates undergoing maternal separation. **Neuropsychopharmacology**, v.2, p.97-104, 1989.
145. _____, TAKAHASHI, L. Animal Studies Implicating a Role of Corticotropin-Releasing Hormone in Mediating Behavioral Associated With Psychopathology. IN RISCH, S. **Central Nervous System Peptide Mechanisms in Stress and Depression**. Washington: American Psychiatric Press, p.53-72, 1991.
146. KAPZINSKI, Flávio. **Memória e padrões cognitivos em velhos: A influência da Depressão**. Tese (Mestrado) - Faculdade de Medicina, UFRGS, 1991. 106p.

147. KASL, S. et al. Psychosocial risk factors in the development of infectious mononucleosis. **Psychosom. Med.**, v.41, p.445, 1979.
148. KAVELAARS, A., BALLIEUX, R., HEIJNEN, C. The role of interleukin-1 in de CRF and AVP-induced secretion of ir- β -endorphin by human peripheral blood monuclear cells. **J. Immunol.**, v.142, p.2338-2342, 1989.
149. KAY, N., ALLEN, J., MORLEY, J. Endorphins stimulate normal human peripheral blood lymphocyte natural killer activity. **Life Sci.**, v.35, p.53-59, 1984.
150. KELLER, S., et al. Suppression of immunity by stress: effects of a graded series of stressors on lymphocytes stimulation in the rat. **Science**, v.213, p.1397-1400, 1981.
151. _____ et al. Stress suppression of immunity in adrenalectomized rats. **Science**, v.221, p.1301-1304, 1983.
152. KELLEY, K.W. The Role of Growth Hormone in Modulation of the Immune Response. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.594, p.95-103, 1990.
153. KHANSARI, D., MURGO, A., FAITH, R. Effects of Stress on the Immune System. **Immun. Today**, v.11, p.170-174, 1990.
154. KIECOLT-GLASER, J.K. et al. Psychosocial Modifiers of Immunocompetence in Medical Students. **Psychosom. Med.**, v.46, p.7-14, 1984.
155. _____ et al. Distress and DNA repair in human lymphocytes. **J. Behav. Med.**, v.8, p.311-320, 1985.
156. _____, GLASER, R. Stress and Immune Function in Humans. IN: ADER, R., FELTEN, D., COHEN, N. **Psychoneuroimmunology**. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1991. p. 849-867.
157. KRONFOL, Z. et al. Impaired Lymphocyte Function in Depressive Illness. **Life Sci.**, v.33, p.241-247, 1983.
158. _____ et al. Leukocyte Regulation in Depression and Schizophrenia. **Psychiatry Res.**, v.13, p.13-18, 1984.
159. _____, HOUSE, J. Depression, hypothalamic-pituitary adreno cortical activity and lymphocyte function. **Psychopharmacol. Bull.**, v.21, p.476-478, 1985.
160. _____ et al. Depression, Cortisol Metabolism and Lymphocytopenia. **J. Affect. Disord.**, v.9, p.169-173, 1985.
161. _____ et al. Depression, Urinary Free Cortisol Secretion and Lymphocyte Function. **Br. J. Psychiatry**, v.148, p.70-73, 1986.
162. _____ et al. Natural Killer Cell Activity in Depressive Illness: Preliminary Report. **Biol. Psychiatry**, v.26, p.753-756, 1989.
163. _____, HOUSE, J. Lymphocyte Mitogenesis, Immunoglobulin and Complement Levels in Depressed Patients and Normal Controls. **Acta Psychiatry Scand.**, v.80, p.142-147, 1989.

164. KRUPP, L.B., MENDELSON, W.B., FRIEDMAN, R. An Overview of Chronic Fatigue Syndrome. **J. Clin. Psychiatry**, v.52, p.403-410, 1991.
165. LA ROCQUE, L. et al. Inhibition of human LAK-cell activity by the antidepressant trifluoperazine. **Immunopharm.**, v.29, p.1-10, 1995.
166. LAUDENSLAGER, M., et al. Coping and immunosuppression: inescapable but not escapable shock suppresses lymphocyte proliferation. **Science**, v.221, p.568-570, 1983.
167. LEVY, S. et al. Prognostic risk assessment in primary breast cancer by behavioral and immunological parameters. **Health Psychol.**, v.4, p.99-113, 1985.
168. _____ et al. Persistently low natural killer cell activity in normal adults: immunological, hormonal and mood correlates. **Nat. Immun. Cell. Growth Regul.**, v.8, p.173-186, 1989.
169. LIMA, B. **Manual de Cuidados de Salud Mental en Desastres**. Ecuador: Ministerio de Salud Publica, 1991.
170. LOPEZ, C., FITZGERALD, P., SIEGAL, F. Severe acquired immune deficiency syndrome in male homosexuals: Diminished capacity to make interferon alpha *in vitro* associated with severe opportunistic infections. **J. Infect. Dis.**, v.148, p.962-966, 1983.
171. LOWY, M. et al.. Immune Function, Glucocorticoid Receptor Regulation, and Depression. IN: MILLER, A. **Depressive Disorders and Immunity**. Washington: American Psychiatric Press, 1989. p.105-133.
172. LUZ, C. et al. Relação entre a evolução clínica na depressão maior e a atividade do sistema imune (comunicação breve). **Rev. Psiq. do R.G.S.**, v.17, p.68-70, 1995.
173. MACKINNON, R., YUDOFKY, S. **A Avaliação Psiquiátrica**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1988. 273p.
174. MADHAVAN, P. et al. Effect of Neuropeptide Y on Natural Killer Activity of Normal Human Lymphocytes. **Brain, Behav. Immun.**, v.7, p.70-78, 1993.
175. MAES, M. et al. Impaired Lymphocyte Stimulation by Mitogens in Severely Depressed Patients. A Complex Interface with HPA-axis Hyperfunction, Noradrenergic Activity and the Aging Process. **Brith. J. Psychiatry**, v.155 : 793-798, 1989.
176. _____, et al. A Study on The Blunted Natural Killer Cell Activity in Severely Depressed Patients. **Life Scienc.**, v.50, p.505-513, 1991.
177. _____, et al. Depression-Related Disturbances in Mitogen-Induced Lymphocyte Responses and IL-1 β and Soluble IL2 Receptor Production. **Acta Psychiatr. Scand.**, v.84, p.379-386, 1991.
178. _____, et al. Natural Killer Cell Activity in Major Depression: Relation to Circulating Natural Killer Cells, Cellular Indices of the Immune Response, and Depressive Phenomenology. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiatry**, v.18, p.717-730, 1994.

179. MASON, D., MACPHEE, I., ANTONI, F. The role of the neuroendocrine system in determining genetic susceptibility to experimental allergic encephalomyelitis in the rat. **Immunology**, v.70, p.1, 1990.
180. _____. Genetic Variation in the Stress Response: Susceptibility to Experimental Allergic Encephalomyelitis and Implications for Human Inflammatory Disease. **Immunol. Today**, v.12, p.57-60, 1991.
181. MATHEWS, P. et al. Enhancement of natural cytotoxicity and their relation to pharmacological actions. **J. Immunol.**, v.130, p.1658-1662, 1983.
182. McCAIN, H., LAMSTER, I., BILOTTA, J. Modulation of human T-cell suppressor activity by β -endorphin and glycyl-L-glutamine. **Int. J. Immunopharmacol.**, v.8, p.443-446, 1986.
183. McCANN, S.M. et al. The Role of Brain Peptides in Neuroimmunomodulation. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.496, p.173-181, 1987.
184. McCRUDEN, A.B., STIMSON, W.H. Sex Hormones and Immune Function. IN: ADER, R. et al. (Eds.) **Psychoneuroimmunology**. 2nd. ed. San Diego: Academic Press, 1991. p. 475-493.
185. MELDER, R.J. et al. Adhesion characteristics of human interleukin 2-activated natural killer cells. **Cell. Immunol.**, v.132, p.177-192, 1991.
186. MEYER, R.J., HAGGERTY, R. Streptococcal Infections in Families: Factors Altering Individual Susceptibility. **Pediatrics**, v.29, p.539-549, 1962.
187. MILENKOVIC, L. Cachectin alters anterior pituitary hormone release by a direct action *in vitro*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.86, p.2418-2422, 1989.
188. MILES, K., QUINTANS, E., CHELMICKA-SCHORR, E. The sympathetic nervous system modulates antibody responses to thymus-independent antigens. **J. Neuroimmunol.**, v.1, p.101-105, 1981.
189. MILLAR, D., et al. Natural Killer Cell Cytotoxicity and T-Cell Proliferation Is Enhanced by Avoidance Behavior. **Brain, Behav. Immun.**, v.7, p.144-153, 1993.
190. MILLER, A.H., LACKNER, C. Tricyclic Antidepressants and Immunity. IN: MILLER, A.H. et al. **Depressive Disorders & Immunity**. Washington: American Psychiatric Press, 1989. p.85-104.
191. _____, NORIN, A.J. Neural-Immune Interactions. IN: MILLER, A.H. et al. **Depressive Disorders & Immunity**. Washington: American Psychiatric Press, 1989. p.23-49.
192. MINATO, N. et al. Studies of the functions of natural-interferon system in patients with Sjogren's syndrome. **J. Clin. Invest.**, v. 69, p.581-588, 1982.
193. MOGA, M., GRAY, T. Evidence of corticotropin releasing factor, neurotensin and somatostatin in the neural pathway from the central nucleus of amygdala to the parabrachial nucleus. **J. Comp. Neurol.**, v.241, p.275-284, 1985.

194. MOHL, P.C. et. al. Natural Killer Cell Activity In Major Depression. **Am. J. Psychiatry**, v.144, p.6-19, 1987.
195. MONJAN, A. Stress and immunologic competence: Studies in animals. IN: ADER, R., FELTEN, D., COHEN, N. **Psiconeuroimunology**. 2nd. ed. San Diego: Academic Press, 1981. p.185-228.
196. MORGAN, D.A.; RUSCETTI, F.W. e GALLO, R.C. Selective *in vitro* growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. **Science**, v.193, p.1007-1008, 1976.
197. MORMEDE, P., et al. Influence of stressor predictability and behavioral control on lymphocyte reactivity, antibody responses and neuroendocrine activation in rats. **Physiol. Behav.**, v.43, p.577-583, 1988.
198. MOTULSKY, H., INSEL, P. Medical progress, adrenergic receptors in man: direct identification, physiologic regulation in clinical alterations. **N. Eng. J. Med.**, v.307, p.18-29, 1982.
199. MUNCK, A., GUYRE, P.M. Glucocorticoids and Immune Function. IN: ADER, R., FELTEN, D., COHEN, N. **Psychoneuroimmunology**. 2nd. ed. San Diego : Academic Press, 1991. p. 447-474.
200. NELSON, D., GATTI, R. Humoral Factor Influencing Lymphocyte Transformation. **Prog. Allergy**, v.21, p.261-341, 1976.
201. NEMEROFF, C., WIDERLOV, E., BISSETTE, G. et al. Elevated concentration of CSF corticotropin releasing factor -like immunoreactivity in depressed patients. **Science**, v.226, p.1342-1344, 1984.
202. NEROZZI, D., et al. Reduced Natural Killer Cell Activity in Major Depression: Neuroendocrine Implications. **Psychoneuroendocrinology**, v.14, p.295-302, 1989.
203. O'NEIL, B., LEONARD, B.E. Abnormal Zymosan-induced Neutrophil Chemiluminescence as a Marker of Depression. **J. Affect. Disord.**, v.19, p.265-272, 1990.
204. OLESON, D., JOHNSON, D. Regulation of human natural cytotoxicity by enkephalins and selective opiates agonists. **Brain Behav. Immun.**, v.2, p.171-186, 1988.
205. _____, GRIERSON, H., GOLDSMITH, J. Augmentation of natural cytotoxicity by leucine enkephalin in cultured peripheral blood mononuclear cells from patients infected with HIV. **Clin. Immunol. Immunopatol.**, v.51, p.386-395, 1989.
206. OLIVEIRA, G.S., GAUER, G.J.C. Atividade do sistema imune e alterações do eixo hipotalâmico hipofisário adrenal em pacientes com depressão maior. **Rev. Med. PUCRS**, v.4, p.27, 1994.
207. OSHIMI, K. et al. Natural killer cell activity in untreated SLE. **Ann. Rheum. Dis.**, v.41, p.417-420, 1982.
208. OTTAWAY, C. HUSBAND, A. The influence of neuroendocrine pathways on lymphocyte migration. **Immunol. Today**, v.15, p.511-517, 1994.

209. OWENS, M., BISSETTE, G., NEMEROFF, C. Acute effects of alprazolam and adinazolam on the concentration of corticotropin-releasing factor in rat brain. **Synapse**, v.4, p.196-202, 1989.
210. _____, MAYNOR, B., NEMEROFF, C. Release of corticotropin releasing factor from rat prefrontal cortex *in vitro*. **Soc. Neurosci. Abstr.**, v.13, p.1110, 1987.
211. OYEINKA, G.O. Age and Sex Differences in Immunocompetence. **Gerontology**, v.30, p.188-195, 1984.
212. PARRILLO, J., FAUCI, A. Comparison of the effector cells in human spontaneous cellular cytotoxicity and antibody-dependent cellular cytotoxicity: Differential sensitivity of effector cells to *in vivo* and *in vitro* corticosteroids. **Scand. J. Immunol.**, v.8, p.99-107, 1978.
213. PASCUAL, D.W., et al. Neuroimmune modulation of lymphocyte function-I. Substance P enhances immunoglobulin synthesis in lipopolysaccharide activated murine splenic B cell cultures. **International Immunol.**, v.3, p.1223-1229, 1991.
214. PESCOVITZ, O., LORIAUX, L., CUTLER, G. Synthesis and Secretion of Corticosteroids. IN: BECKER, K. et al. **Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism**. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1990. Parte V, p.579-591.
215. PLATA-SALAMAN, C. Immunoregulators in the nervous system. **Neurosc. Biobehav. Rev.**, v.15, p.185, 1991.
216. PODACK, E.R. Killer and Natural Killer Cells: Function of Non-Major Histocompatibility Complex-restricted Killer Cells. IN: LACHMANN, P.J. et al. **Clinical Aspects of Immunology**. 5th. ed., Boston: Blackwell Scientific Publications, 1993. v.1, Chapter 31, p. 619-633.
217. _____. Molecular Mechanism of Lymphocyte Mediates Tumor Lysis. **Immunol. Today**, v.6, p.21-27, 1985.
218. POLLACK, S., HOLLENBECK, L. *In vivo* reduction of NK activity with anti-NK1 serum: Direct evaluation of NK cells in tumor clearance. **Int. J. Cancer**, v.29, p.203-207, 1982.
219. PREGER, J., GAUER, G.J.C., Von MÜHLEN, C.A. Sistema Neuroendócrino e Atividade Imune no Estresse e na Depressão. **Psiq. Biológica**, v.3, p.14-24, 1995.
220. PRETE, P., LEVIN, E., PEDRAM, A. The *in vitro* effects of endogenous opiates on natural killer cells, antigen-specific cytolytic T cells, and T-cell subsets. **Experimental Neurol.**, v.92, p.349-359, 1986.
221. PROSS, H., BAINES, M. Spontaneous human lymphocyte-mediated cytotoxicity against tumor target cells. The effect of malignant disease. **Int. J. Cancer**. v.18, p.593-604, 1976.
222. PURTILO, D. et al. Documentation of Epstein-Barr virus infection in immunodeficient patients with life-threatening lymphoproliferative diseases by clinical, virological and immunopathological studies. **Cancer Res.**, v.41, p.4226-4235, 1981.

223. RAAB, A. et al. Behavioral, physiological and immunological consequences of social status and aggression in chronically coexisting resident-intruder dyads of male rats. **Physiol. and Behav.**, v.36, p.223-228, 1986.
224. RABIN, B. et al. Alterations of immune competency by and number of mice housed per cage. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.496, p.492-500, 1987.
225. RABKIN, J.G., HARRISON, W.M. Effect of Imipramin on Depression and Immune Status in a Sample of Men with HIV Infection. **Am. J. Psychiatry**, v.147, p.495-497, 1990.
226. _____ et al. Depression, Distress, Lymphocyte Subsets and Human Immunodeficiency Virus Symptoms on Two Occasions in HIV-Positive Homosexual Men. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.48, p.111-119, 1991.
227. RAHE, R.H. et al. The Epidemiology of Illness in Naval Environments: Illness Type, Distribution, Severities, and Relationship to Life Change. **Military Med.**, v.135, p.443-452, 1970.
228. REDMOND, D., HUANG, Y. Current concept II: New evidence for locus coeruleus-norepinephrine connection with anxiety. **Life Sci.**, v.25, p.2149-2162, 1979.
229. _____. Studys of the nucleus locus coeruleus in mankeys and hypotheses for neuropsychopharmacology. IN: MELTZER, H. **Psychopharmacology: The Third Generation of Progress**. New York: Raven, 1987. p.967-973.
230. REICHLIN, S. Neuroendocrine-immune interactions. **N. Eng. J. Med.**, v.329, p. 1246-1253, 1993.
231. REED, S.G. *In vivo* administration of INF- γ induces macrophage activation, and prevents acute disease, immune suppression, and death in experimental *Trypanosoma cruzi* infections. **J. Immunol.**, v.140, p.4342-4347, 1988.
232. RIELLA, M. **Suporte Nutricional Parenteral e Enteral**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1987. p.16-25.
233. RISCH, S. **Central Nervous System Peptide Mechanism in Stress and Depression**. Washington: American Psychiatric Press, 1991. 128p.
234. ROBERTSON, M.J., RITZ, J. Biology and Clinical Relevance of Human Natural Killer Cells. **Blood**, v.76, p.2421-2438, 1990.
235. ROBINSON, B.W.S, MORSTYN, G. Natural killer (NK) resistant human lung cancer cells are lysed by recombinant interleukin-2 activated NK cells. **Cell. Immunol.**, v.106, p.215-222, 1987.
236. RODER, J. et al. A new immunodeficiency disorders in humans involving NK cells. **Nature**, v.284, p.553-555, 1980.
237. RODRIGUES, K. et al. Aspectos Biológicos na Etiologia da Depressão Maior. **Acta Médica da PUCRS**, p.571-585, 1995.
238. RODRIGUEZ, L. **Estudos da Modulação da Atividade Natural Killer**. Tese (Mestrado) - Universidade Estadual do Rio de Janeiro, 1987. 117 p.

239. ROITT, I., BROSTOFF, J., MALE, D.K. **Imunologia**. 2nd. ed. São Paulo : Manole, 1992.
240. ROSENBERG, S. et al. A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer cells and interleukin 2 or high dose interleukin 2 alone. **N. Engl. J. Med.**, v.316, p.889-897, 1987.
241. _____ et al. Immunotherapy of cancer using interleukin 2: Current Status and future prospects. **Immunol. Today**, v.9, p.58-62, 1988.
242. _____ et al. Prospective randomized trial of high-dose interleukin-2 alone or in conjunction with lymphokine-activated killer cells for the treatment of patients with advanced cancer. **J. Nat. Cancer Inst.**, v.85, p.622-632, 1993.
243. ROSSI, M. et al. Effect of a polyvalent bacterial preparation on natural killer cell activity in children with recurrent respiratory infections. **Int. J. Immunotherapy**, v.10, n.4, p.225-233, 1993.
244. ROY, A. et al. Plasma Norepinephrine Level in Affective Disorders. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.42, p.1181-1185, 1985.
245. _____, PICKAR, D., PAUL, S. et al. CSF corticotropin releasing hormone in depressed patients and normal control subjects. **Am. J. Psychiatry**, v.144, p.641-645, 1987.
246. RUSCETTI, F.W., MORGAN, D.A., GALLO, R.C. Functional and morphologic characterization of human T cells continuously grown *in vitro*. **J. Immunol.**, v.119, p.131-138, 1977.
247. SAEMUNDSEN, A.K. et al. Epstein-Barr virus carrying lymphoma in a patient with ataxia telangectasia. **Br. Med. J.**, v.282, p.425-427, 1981.
248. SANTOLI, D., TRINCHIERI, G., LEIF, F. Cell-mediated cytotoxicity against virus-infected target cells in humans. Characterization of the effector lymphocytes. **J. Immunol.**, v. 121, p.526-531, 1978.
249. SAVINO, W., DARDENNE, M. Immune-neuroendocrine interactions. **Immunol. Today**, v.16, p.318-321, 1995.
250. SAXENA, R.K. et al. Augmentation of spleen natural killer activity in mice treated with interleukin 2 preparation. **Indian. J. Exp. Bio.**, v.21, p.54-60, 1983.
251. SCARBOROUGH, D.E. Cytokine Modulation of Pituitary Hormone Secretion. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v.594, p.169-182, 1990.
252. SCHANTZ, S., GOEPFERT, H. Multi modality therapy and distant metastasis: The impact of natural killer cell activity. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v.113, p.1207-1213, 1987.
253. _____ et al. Evidence for the role of natural immunity and the control of metastatic spread of head and neck cancer. **Cancer Immunol. Immunother.**, v.25, p.141-145, 1987.
254. SCHLEIFER, S.J. et al. Lymphocyte Function in Major Depressive Disorder. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.41, p.484-486, 1984.

255. _____ et al. Depression and Immunity: Lymphocyte stimulation in Ambulatory Depressed Patients, Hospitalized Schizophrenic Patients, and Patients Hospitalized for Herniorrhaphy. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.42, p.129-133, 1985.
256. _____ et al. Major Depressive Disorder and Immunity, Role of Age, Sex, Severity and Hospitalization. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.46, p.81-87, 1989.
257. SENGAR, D.P.S. et al. Lymphocyte subpopulations and Mitogenic Responses of Lymphocytes in Manic-Depressive Disorders. **Biol. Psychiatry**, v.17, p.1017-1022, 1982.
258. SHAVIT, Y. Stress-Induced Immune Modulation in Animals: Opiates and Endogenous Opioid Peptides. IN: ADER, R., FELTEN, D., COHEN, N. **Psychoneuroimmunology**. 2nd. ed. San Diego: Academic Press, 1991. p.789-806.
259. SHAW, J. et al. Effects of costimulator of immune responses *in vitro*. **J. Immunol.**, v.120, p.1974-1980, 1978.
260. SHAW, A.R.E. et al. Modulation of human natural killer cell activity by recombinant human interleukin 2. **Cell. Immunol.**, v.90, p.547-554, 1985.
261. SHEKELLE, R.B. et al. Psychological Depression and 17-Years Risk of Death From Cancer. **Psychosom. Med.**, v.43, p.117-125, 1981.
262. SHERMAN, J. e KALIN, N. ICV-CRH alters stress-induced freezing behavior without affecting pain sensitivity. **Pharm. Biochem. Behav.**, v.30, p.801-807, 1988.
263. SILVEIRA, R.O., GAUER, G.C. Depressão e Imunidade: Uma Breve Análise Descritiva e Metodológica. **ACTA da Médica PUCRS**, p.411-426, 1994.
264. SIMON, H.B. Exercise and Human Immune Function. IN: ADER, R., FELTEN, D., COHEN, N. **Psychoneuroimmunology**. 2nd. ed. San Diego: Academic Press, 1991. p.869-895.
265. SIRINATHSINGHJI, D. Modulation of lordosis behavior in the female rat by corticotropin releasing factor, β -endorphin and gonadotropin-releasing hormone in the mesencephalic central gray. **Brain Res.**, v.336, p.45-55, 1985.
266. _____. Inhibitory influences of corticotropin releasing factor on components of sexual behavior in the mail rat. **Brain Res.**, v.407, p.185-190, 1987.
267. SOLOMON, G., AMKRAUT, A. Psychoneuroendocrinological effects of the immune response. **Ann. Rev. Microbiol.**, v.35, p.155-184, 1981.
268. SOMMER, M.H. **Efeito de aminoácidos sobre a resposta linfocitária in vitro de linfócitos periféricos humanos estimulados por Fito-Hemaglutinina, Concanavalina-A e Pokeweed Mitogênio.** Tese (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1992. 157 p.
269. SPANGELO, B.L. et al. Biology and Chemistry of Thymosin Peptides. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.496, p.196-204, 1987.
270. SPITZER, R.L., ENDICOTT, J., ROBINS, E. Research Diagnostic Criteria: Rationale and Reliability. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.35, p.837-844, 1978.

271. _____ et al. **DSM-III-R Case Book**. Washington: American Psychiatric Press, 1989. 515p.
272. STARZL, T.E. et al. Liver stability of lymphomas and lymphoproliferative lesions developing under cyclosporine-steroid therapy. **Lancet**, v.1, p.583-587, 1985.
273. STEIN, M. et al. Depression and the Immune System. IN: ADER, R., FELTEN, D., COHEN, N. **Psychoneuroimmunology**. 2nd. ed. San Diego : Academic Press, 1991. p. 897-929.
274. _____, MILLER, A., TRESTMAM, R. Depression, the Immune System, and Health and Illness. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.48, p.171-177, 1991.
275. STEINHAUER, E. et al. Effective natural cytotoxicity in patients with cancer: Normal number of effector cells but decreased recycling capacity in patients with advanced disease. **J. Immunol.**, v.129, p.2255-2259, 1982.
276. STRAUS, S.E. et al. Persisting illness in fatigue in adults with evidence of Epstein-Barr virus infection. **Ann. Int. Med.**, v.102, p.7-16, 1985.
277. STRAYER, D.R. et al. Low natural cytotoxicity of peripheral blood mononuclear cells in individuals with high familial incidences of cancer. **Cancer Res.**, v.44, p.370-374, 1984.
278. _____ et al. Familial occurrence of breast cancer is associated with reduced natural killer cytotoxicity. **Breast Cancer Res. Treat.**, v.7, p.187-192, 1986.
279. SULKE, A, JONES, D., WOOD, P. Variation in natural killer activity in peripheral blood during the menstrual cycle. **Br. Med. J.**, v.290, p.884-886, 1985.
280. SUSUKI, R.K. et al. Natural killer (NK) cells as a responder to interleukin 2 (IL 2). Proliferative response and establishment of cloned cells. **J. Immunol.**, v.130, p.981-987, 1983.
281. SUZUKI, Y., CONLEY, F.K., REMINGTON, J.S. Treatment of toxoplasmic encephalitis in mice with recombinant gamma-interferon. **Infect. Immun.**, v.58, p.3050-3055, 1990.
282. SVEDERSKY, L.P. et al. Augmentation of human natural cell-mediated cytotoxicity by recombinant human interleukin 2. **J. Immunol.**, v.133, p.714-718, 1984.
283. SVENSSON, T. Peripheral autonomic regulation of locus coeruleus noradrenergic neurons in brain: putative implications for psychiatry and psychopharmacology. **Psychopharmacol.**, v.92, p.1-7, 1987.
284. SYVÄLAHTI, E. et al. Nonsuppression of Cortisol in Depression and Immune Function. **Prog. Neuropsychopharm. Biol. Psychiatry**, v.9, p.413-422, 1985.
285. _____. Endocrine and Immune Adaptation in Stress. **Ann. Clin. Research**, v.19, p. 70-77, 1987.
286. TAKAHASHI, L., KALIN, N., BAKER, E. Corticotropin-releasing factor antagonists attenuates defensive-withdrawal behavior elicited by odors of stressed conspecifics. **Behav. Neurosci.**, v. 104, p.386-389, 1990.

287. TAKASUGI, M., RAMSEYER, A., E TAKASUGI, J. Decline of natural nonselective cell-mediated cytotoxicity in patients with tumor progression. **Cancer Res.**, v.37, p. 413-418, 1977.
288. TALBOTT, J.A. **Tratado de Psiquiatria**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1992. 1003 p.
289. TERENIUS, L. Endorfine och stress. **Läkartidningen**, v.82, p.1167-1170, p.1985.
290. TESCHEMACHER, H. et al. Opioid Peptides: Immunological Significance? **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.594, p.66-77, 1990.
291. TRINCHIERI, G., PERUSSIA, B. Human natural killer cells: Biologic and pathologic aspects. **Lab. Invest.**, v.50, p.489-513, 1984.
292. _____. Biology of natural killer cells. **Adv. Immunol.**, v.47, p.187-376, 1989.
293. URCH, A. et al. Lytic Effector cell Function in Schizophrenia and Depression. **J. Neuroimmunol.**, v.18, p.291-301, 1988.
294. VALENTINO, R., FOOTE, S., ASTON-JONES, G. Corticotropin-releasing factor activates noradrenergic neurons of the locus coeruleus. **Brain. Res.**, v.270, p.363-367, 1983.
295. _____. Corticotropin-releasing factor disrupts sensory responses of brain noradrenergic neurons. **Neuroendocrinology**, v.45, p.28-36, 1987.
296. VARGAS, M., OWENS, M., NEMEROFF, C. Corticotropin-Releasing Factor: Brain and Cerebrospinal Fluid Studies. IN: RISCH, S. **Central Nervous System Peptide Mechanisms in Stress and Depression**. Washington: American Psychiatry Press, 1991. p.73-92.
297. VIGO, A., FACHEL, J. **Estrutura Teórica dos Coeficientes tipo Kappa**. UFRGS, Porto Alegre, 1989. 86pp. (monografia).
298. Von EULER, U. The presence of substance with sympathin E properties in spleen extracts. **Acta Physiol. Scand.**, v.11, p.168-170, 1946.
299. Von MÜHLEN, D. G. **Atividade Física Desenvolvida por Adultos em Porto Alegre: Características Demográficas e Sócio-Econômicas e sua Associação com Fatores de Risco para Doenças Cardiovasculares**. Tese (Mestrado) - UFRGS, Porto Alegre, 1992. 138pp.
300. VOSE, B.M., BONNARD, G.B. Limiting dilution analysis of the frequency of human T cells and large granular lymphocytes proliferating in response to interleukin 2: The effect of lectin on the proliferative frequency and cytotoxic activity of cultured lymphoid cells. **J. Immunol.**, v.130, p.687-693, 1983.
301. WEIGENT, D.A., CARR, J.J., BLALOCK, J.E. Bidirectional Communication between the Neuroendocrine and Immune Systems: Common Hormones and Hormone Receptors. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.579, p.17-27, 1990.
302. WEKSLER, M.E. Senescence of the Immune System. **Med. Clin. North Am.**, v.67, p.263-272, 1984.

303. WELSH, R. Regulation of virus infections by natural killer cells. **Nat. Immun. Cell Growth Regul.**, v.5, p.169-199, 1986.
304. WENGER, G.E., O'DORISIO, M.S., GOETZL, E.J. Vasoactive Intestinal Peptide: Messenger in a Neuroimmune Axis. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, 579 : 17-27, 1990.
305. WHITESIDE, T.L., HERBERMAN, R.B. The Role of Natural Killer Cells in Human Disease. **Clin. Immunol. and Immunopathol.**, v.53, p.1-23, 1989.
306. _____ et al. Natural Killer Cytotoxicity in the Diagnosis of Immune Dysfunction: Criteria for a Reproducible Assay. **J. Clin. Lab. Anal.**, v.4, p.102-114, 1990.
307. _____, HERBERMAN R.B. Characteristics of natural killer cells and lymphokine-activated killer cells: their role in the biology and treatment of human cancer. **Immunol. Allergy Clin. N. Am.**, v.10, p.663-704, 1990.
308. _____. Extravasation of antitumor effector cells. **Invasion Metastasis**, v.12, p.128-46, 1992.
309. _____. Human Natural Killer Cells in Health and Disease: Biology and Therapeutic Potential. **Clin. Immunoth.**, v.1, p.56-66, 1994.
310. WILLIAMNS, L., SNYDERMAN, R., LEFKOWITZ, R. Identification of beta-adrenergic receptors in human lymphocytes by (-) 3H-alprenolol binding. **J. Clin. Invest.**, v.57, p.149-155, 1976.
311. WILSON, S.N. et al. Unusual Lymphocyte Subset Distribution in Some Depressed Patients. **J. Clin. Psychiatry**, v.51, p.2, 1990.
312. WINOKUR, G. Unipolar Depression. IN: WINOKUR, G., CLAYTON, P. **The Medical Basis of Psychiatry**. Philadelphia : W. B. Saunders, 1986. p. 60-79.
313. WINSA, B. et al. Stressful Life Events and Graves' Disease. **Lancet**, v.338, p.1475-1479, 1991.
314. WRONA, D. et al. Electrolytic lesions of the lateral hypothalamus influence peripheral blood NK cytotoxicity in rats. **J. Neuroimmunol.**, v.55, p.45-54, 1994.
315. YOUNG, J. et al. Purification and Characterization of a Cytolytic Pore-Forming Protein From Granules of Cloned Lymphocytes with Natural Killer Activity. **Cell**, v.44, n.6, p.849-859, 1986.
316. _____ et al. A Calcium and Perforin-Independent Pathway of Killing Mediated by Murine Cytolytic Lymphocytes. **J. Med.**, v. 166, n.6, p.1894-1899, 1987.
317. _____, COHN, Z. How killer cells kill. **Scientific Americ.**, p.38-44, 1988.
318. ZONDERNAN, A.B., COSTA, P.T. Jr., McCRAE, R.R. Depression as a Risk for Cancer Morbidity Mortality in a Nationally Representative Sample. **JAMA**, p.1191-1195, 1989.
319. ZUNICH, K., KIRKPATRICK, C. Methionin-enkephaline as immunomodulator therapy in HIV infections: clinical and immunological effects. **J. Clin. Immunol.**, v.8, p.95-102., 1988.

I

Desordem Depressiva Maior e atividade das células "Natural Killer" (NK)

Gabriel José Chittó Gauer *
Lucia Mariano da Rocha Silla **
Carlos Alberto von Mühlen ***

1. INTRODUÇÃO

Os estudos iniciais que sugeriram a existência de uma relação entre o sistema nervoso central (SNC) e alterações específicas no sistema imune (SI) demonstraram que fatores como o estresse, o luto, a solidão e a depressão poderiam prejudicar a atividade dos linfócitos humanos. A mensuração desta atividade foi feita principalmente através da estimulação da proliferação dos linfócitos com mitógenos, como a fitohe-maglutinina (PHA) e a concanavalina A (Con A).

Entre os primeiros estudiosos do assunto temos BARTROP et al (1977) (1) que realizaram um estudo controlado com cônjuges de esposas (os) doentes e constataram uma diminuição da resposta dos linfócitos T aos mitógenos nestes indivíduos. Estes achados foram posteriormente replicados por outros autores, como SCHLEIFER et al (1983) (18), os quais avaliaram ho-

mens que haviam perdido a esposa por câncer de mama e também encontraram um embota-mento da estimulação dos linfócitos por mitóge-nos. O mesmo ocorreu em indivíduos com alto grau de solidão, submetidos a um estresse mui-to grande e principalmente quando existem sin-tomas depressivos intensos, como ocorre na De-sordem Depressiva Maior (DDM).

2. O PAPEL DAS CÉLULAS NK NO SI

A função "natural killer" (NK) foi original-mente atribuída aos linfócitos conhecidos co-mo células nulas ("null cells") — aproximada-mente 20% dos linfócitos do sangue periférico cuja característica é a ausência de marcadores para células T ou B (OZER et al, 1979)(13). A fun-ção NK se caracteriza por promover a lesão de células infectadas por vírus ou neoplásicas sem sensibilização prévia, na ausência de antígenos do complexo maior de histocompatibilidade. Com o aprimoramento das técnicas de isolamento e cultivo celular foi possível distinguir dentre os "linfócitos" uma célula com características pecu-liares que é a principal responsável pelo desem-penho desta função.

Trabalho realizado no Hospital São Lucas da PUCRS, Porto Alegre.

* Professor de Psiquiatria da PUCRS, Aluno do Curso de Pós-Graduação em Medicina a nível de Doutorado da PUCRS.

** Professora de Medicina Interna e Hematologia da PUCRS, Aluna do Curso de Pós-Graduação em Medicina a nível de Mestrado da UFRGS.

*** Professor Adjunto de Medicina Interna e Reumatologia e do Curso de Pós-Graduação em Medicina da PUCRS e UFRGS.

Hoje se considera as células nulas como sendo, na maioria, células NK (ROITT et al, 1989)⁽¹⁷⁾, cuja característica morfológica mais comum é a de "linfócitos" grandes de citoplasma granular (LGCG). No entanto, nem todos os LGCG são células NK, assim como nem todas as células NK são LGCG (KÄRRE et al, 1991)⁽⁹⁾. Imunofenotipicamente, estas células se caracterizam por apresentarem antígenos CD56 (NKH-1, LEU-19) e CD16, na ausência de CD3. Embora não existam dúvidas da origem medular das células NK, não se sabe de qual célula tronco deriva, podendo pertencer a uma terceira linhagem, não linfóide e não mielóide (ROBERTSON e RITZ, 1990)⁽¹⁶⁾, ou ainda à linhagem mielóide e não linfóide como naturalmente parecia (KÄRRE et al, 1991)⁽⁹⁾.

A célula NK, quando ativada, é capaz de produzir mediadores biológicos dentre os quais figuram os fatores de necrose tumoral alfa e beta (PAYA et al, 1988)⁽¹⁴⁾, a interleucina 3, o fator estimulador de colônias granulocíticas-monocíticas (GM-CSF), o fator estimulador de colônias de monócitos (M-CSF) e o interferon-gama (ROBERTSON e RITZ, 1990)⁽¹⁶⁾.

Do ponto de vista funcional, as células NK estão envolvidas na imunidade anti-microbiana, particularmente anti-viral (ROBERTSON e RITZ, 1990)⁽¹⁶⁾ e desempenham importante papel na imunidade anti-tumoral (LOTZOVA, 1989)⁽¹⁰⁾. Parecem ter função reguladora da hematopoiese (PISTOIA et al, 1989)⁽¹⁵⁾, participam dos fenômenos envolvidos na fisiopatologia das doenças auto-imunes (FROELICH, 1989)⁽⁴⁾. Recentemente, tem-se demonstrado estarem funcionalmente alteradas em síndromes psíquicas, parecendo existir uma relação causa-efeito (WHITESIDE & HERBERMAN, 1989)⁽²⁰⁾.

3. ALTERAÇÕES PSÍQUICAS E ATIVIDADE DAS CÉLULAS NK

WHITESIDE & HERBERMAN (1989)⁽²⁰⁾ referem que em uma população de adultos jovens saudáveis, aproximadamente 30% tinham baixa atividade NK e que 14% apresentavam uma atividade de células NK diminuída de forma crônica e persistente. Os achados psicológicos nestes indivíduos incluíram uma presença maior de depressão, com uma tendência a relatar mais sintomas semelhantes à fadiga. Todavia, após um seguimento de meses, os indivíduos com atividade NK diminuída tiveram uma frequência significativamente alta de doenças virais, associadas a febre de longa duração. O que sugere ser possível, pela utilização de ensaios NK, identificar a subpopulação de risco para certas doenças,

mesmo dentre os indivíduos de uma população "saudável".

Com o objetivo de estudar a relação entre fatores psíquicos e atividade das células NK, HEISEL et al (1986)⁽⁶⁾ avaliaram 111 estudantes colegiais com o Inventário Multifásico da Personalidade de Minnesota - MMPI⁽²⁾. Encontraram uma correlação estatisticamente significativa entre os valores de atividade NK e o grau de psicopatologia para a maioria das escalas do MMPI. Os estudantes que apresentavam os valores de atividade NK mais elevados tinham um perfil mais saudável no MMPI. No que se refere à avaliação da depressão também encontraram, naqueles que apresentavam altos escores, uma diminuição da atividade NK. Ainda que as alterações nas escalas de depressão não tenham sido as únicas relacionadas com a baixa atividade NK, tal achado está de acordo com estudos que propõem uma relação entre estas variáveis. A propósito da relação entre sintomas depressivos no MMPI e suas conseqüências, o que pode-se pensar como sendo resultado de uma baixa atividade NK, temos um estudo de SHEKELLE et al (1981)⁽¹⁹⁾ que sugere ser a escala de depressão a única do MMPI cujos escores estão associados com risco para câncer. SHEKELLE et al (1981)⁽¹⁹⁾ estudaram 2.000 homens de meia-idade, eletricitários, prospectivamente, durante 17 anos, considerando morbidade e mortalidade como variáveis de resultado. Encontraram que homens com altos escores de depressão na MMPI (20% da amostra) tinham o dobro de possibilidade de morrer por câncer do que seus colegas de trabalho menos deprimidos. Isto foi confirmado mesmo quando outros fatores de risco tais como idade, fumo e consumo de álcool foram controlados.

IRWIN et al (1987)⁽⁷⁾ estudaram esposas de maridos com câncer de pulmão e/ou falecidos há menos de 7 meses pela mesma doença e compararam com um grupo controle de esposas com marido sadio. Aplicaram nesta população a escala de Hamilton para Depressão — HAMD⁽⁵⁾. Encontraram uma correlação entre a severidade dos sintomas depressivos com um prejuízo na atividade das células NK, baixo número de células T supressoras e uma alta percentagem de células T helper em relação às células T supressoras. Sugerem, ainda, que os efeitos dos sintomas depressivos na função imune podem ser relativamente mais importantes que os efeitos associados com eventos vitais como o estresse e o luto.

Em outro estudo IRWIN et al (1990)⁽⁸⁾ descobriram uma atividade das células NK ainda mais reduzida nos pacientes deprimidos que abusa-

vam de bebidas alcoólicas e nos alcoolistas que apresentavam uma depressão secundária, em relação aos que tinham depressão ou alcoolismo isolados. Encontraram também uma associação entre o quadro de depressão e uma redução de aproximadamente 60% na atividade das células NK, com um aumento significativo das células brancas circulantes e dos neutrófilos.

Da mesma forma, estudos de autores como NEROZZI et al (1989)⁽¹²⁾ e MOHL et al (1987)⁽¹¹⁾ também encontraram uma atividade das células NK reduzida em pacientes psiquiátricos com DDM e em luto.

4. CONCLUSÃO

Muitos dos estudos existentes relacionando DDM com alterações no SI podem ser questionados devido a falhas metodológicas, como a falta de grupo controle e/ou de uma escala que quantifique os sintomas depressivos. Entretanto, vários trabalhos executados com um razoável rigor científico apontam para uma relação estatisticamente significativa entre estas duas variáveis, o que é enriquecido pelos trabalhos em laboratório com cobaias e os recentes avanços tanto na imunologia como na neurotransmissão.

Os estudos que tratam da psiconeuroimunologia dizem respeito a um enorme quebra-cabeças que só recentemente começou a ser montado e promete ser uma das mais interessantes, e talvez demoradas, tarefas científicas a serem levadas adiante e cuja conclusão irá requerer o trabalho de muitos centros de pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) BARTROP, R.W. et al. *Depressed Lymphocyte Function After Bereavement*. *Lancet*, vol. 1, p. 834-836, 1977.
- (2) DAHLSTROM, W.G.; WELSH, G.S.; DAHLSTROM, L.E. *An MMPI Handbook*. Vol.2, Research and Applications. Minneapolis, University of Minnesota Press, 1975.
- (3) DORIAN, B.J. et al. Stress, Immunity and Illness. *Psychosom. res.*, v. 48, p.304, 1986.
- (4) FROELICH, C.J.; GUIFFAUT, S.; SOSENKO, M. and MUTH, K. Deficient interleukine-2-activated killer cell cytotoxicity in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, vol. 50, p.132-145, 1989.
- (5) HAMILTON, M. A rating scale for depression. *Journal Neurol. Neurosurg., Psychiatry*, 32, p. 56, 1960.
- (6) HEISEL, J.S. et al. Natural Killer Cell Activity and MMPI Scores of a Cohort of College Students. *American Journal of Psychiatry*, 143, n. 11, p. 1382-1386; November, 1986.
- (7) IRWIN, M. et al. Life Events, Depressive Symptoms and Immune Function. *American Journal of Psychiatry*, 144, n. 4, p. 437-441, April, 1987.
- (8) IRWIN, M. et al. Major Depressive Disorder, Alcoholism and Reduced Natural Killer Cell Cytotoxicity. *Arch. Gen. Psychiatry*, 47, p. 713-719; August, 1990.
- (9) KARRE, K.; HANSSON, M. and KIESSLING, R. Multiple interactions at the natural killer workshop. *Immunol. Today*, 12, n. 10, p. 343-345, 1991.
- (10) LOTZOVA, E. Analysis of effector mechanisms in cancer. *Cur. Opin. Immunol.*, 1, p. 904-909, 1989.
- (11) MOHL, P.C. et al. Natural Killer Cell Activity In Major Depression. *Am. Journal of Psychiatry*, 144, p. 1619, 1987.
- (12) NEROZZI, D. et al. Reduced Natural Killer Cell Activity in Major Depression: neuroendocrine Implications. *Psiconeuroendocrinology*, 14, p. 295-302, 1989.
- (13) OZER, H. et al. The functional dissection of human peripheral null cells with respect to antibody-dependent cellular cytotoxicity and natural killing. *Eur. J. Immunol.*, 9, p. 112-118, 1979.
- (14) PAYA, C.V. et al. Tumor necrosis factor and lymphotoxin secretion by natural killer cells leads to antiviral cytotoxicity. *J. Immunol.*, 141, p. 1989-1995, 1988.
- (15) PISTOIA, V. et al. Production of colony stimulating activity by human natural killer cells: Analysis of conditions that influence the release and detection of colony-stimulating activity. *Blood.*, 74, p. 156-164, 1989.
- (16) ROBERTSON, M. and RITZ, J. Biology and clinical relevance of human natural killer cells. *Blood*. 76, n.12, p. 2421-2438, Dec-15, 1990.
- (17) ROITT, I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. Cells Involved in the Immune response. In: *Immunology*, 2ª ed. Gower Medical Publishing. p. 2.1-2.18, 1989.
- (18) SCHLEIFER, S.J. et al. Suppression of Lymphocyte Stimulation Following Bereavement. *JAMA*, vol. 250, p. 374-377, 1983.
- (19) SHEKELLE, R.B. et al. Psychological depression and 17 year risk of death from cancer. *Psychosomatic Medicine*. 43, p. 117-125, 1981.
- (20) WHITESIDE, T. & HERBERMAN, R.B. The Role of Natural Killer Cells in Human Disease. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 53, p. 1-23, 1989.

RESUMO

A psiconeuroimunologia é uma disciplina híbrida e recente que explora as interações entre o sistema nervoso central e o sistema imune. Os primeiros achados in vitro sugestivos de tal interação foram a diminuição das respostas linfocitárias aos mitógenos em pacientes deprimidos e/ou enlutados. Posteriormente surgiram trabalhos relacionando fatores psíquicos, tais como sintomas depressivos e estresse, com diminuição de atividade das células NK, inclusive demonstrando um prejuízo na atividade destas células em pacientes com Desordem Depressiva Maior. O trabalho mostra as evidências presentes interligando atividade de células NK e depressão.

Unitermos: Fatores psíquicos e funcionamento imune; fatores psíquicos e atividade das células NK; Desordem Depressiva Maior e depressão imunitária. Depressão e atividade NK.

ABSTRACT

The psychoneuroimmunology is a recent hybrid discipline that explores interactions between the central nervous system and the immune system. The first in vitro findings regarding these interactions were that lymphocyte responses to mitogen stimula-

tion had been found to be lower in patients with depression or bereaved persons. Other studies have relating to psychic features, like stress and depressive symptoms, with lower NK cell activity. An impairment of this activity was shown in patients with major depressive disorders. We comment, in more detail, the evidences linking NK function and depression.

Keywords: Psychic features and immune function; psychic features and NK cell activity; Major Depressive Disorder and depression of immune function. NK activity and depression.

Agradecemos ao Dr. Henrique Staub pelas importantes sugestões apresentadas.

II

Depressão maior e atividade do sistema imunológico

MOISÉS E. BAUER¹, GABRIEL J. GAUER² E NANCE B. NARDI³

O conceito de que o estresse psíquico pode predispor à doença física é de séculos atrás, mas apenas recentemente atraiu a atenção da comunidade científica. Vários trabalhos no campo da *psiconeuroimunologia* apontam a existência de uma comunicação bidirecional entre os sistemas imunológico e neuroendócrino. É com base nesse eixo de intercomunicações que podemos pensar que uma alteração psíquica ocasiona modificações do comportamento imune. Os indivíduos deprimidos apresentam alterações neuroquímicas e endócrinas que podem estar relacionadas à baixa imunidade celular e à relativa estimulação da atividade humoral.

Major depression and immune system activity

The concept that psychic distress may predispose to physical illness is centuries old but has only recently attracted the attention of the scientific community. Several works in the psychoneuroimmunological field suggest the existence of the bidirectional communication between the immunological and neuroendocrinal systems. By this axis of intercommunications we can think how the psychic stress causes immunological modifications. The depressed patients show neurochemical and endocrinal alterations that may be associated with the decrease in cellular immunity and the relative stimulation of the humoral immunity.

Palavras-chave: *Fatores psíquicos e funcionamento imune; Depressão maior e imunossupressão; Psiconeuroimunologia.*
Key words: *Psychic factors and immune activity; Major depression and immunosuppression; Psychoneuroimmunology.*

INTRODUÇÃO

Os distúrbios do humor certamente são tão antigos quanto a própria história das civilizações humanas. A medicina hipocrática já propunha a existência de episódios de *mania e melancolia*. Anualmente, milhões de pessoas do mundo inteiro vêm procurando um atendimento psiquiátrico adequado.

1. Aluno do Curso de Graduação em Ciências Biológicas/Ênfase em Genética da UFRGS; Bolsista de Iniciação Científica do CNPq.
2. Professor de Psiquiatria da PUCRS; Aluno do Curso de Pós-Graduação em Medicina a nível de Doutorado da PUCRS; Bolsista de doutorado da FAPERGS.
3. Professora Adjunta do Depto. Genética da UFRGS; Doutora em Imunologia pela Universidade de Londres; Pesquisadora do CNPq.

A incidência da depressão maior (DM) na população é muito variável. Certamente, ela afeta todas as faixas etárias — os adultos, idosos e as crianças. A incidência na população adulta masculina varia de 5-12%, chegando a valores 2-3 vezes mais elevados nas mulheres (DSM-III-R, 1987). No quadro clínico, cerca de 20-35% dos casos desenvolvem um curso crônico, com consideráveis prejuízos sintomáticos e sociais (WINOKUR, 1986).

Não obstante os desconfortos diretos da doença como as alterações somáticas de anorexia, emagrecimento, insônia ou hipersonia, desânimo, apatia e alterações psicológicas de culpa, baixa auto-estima, temos ainda uma maior incidência de mortes por acidentes e suicídio entre os pacientes deprimidos. Além disso, ainda que seja uma área de intensas controvérsias, estes pacientes podem estar sujeitos a disfunções do seu sistema imunológico. Entretanto, os mecanismos neuroendócrinos envolvidos nos quadros depressivos que alteram o estado imune ainda não foram completamente esclarecidos e requerem maiores estudos. Segundo STEIN e col. (1991), o sistema imune na depressão deve ser visto sob perspectiva de função na manutenção da saúde e do desenvolvimento da doença física.

Eventos determinantes de estresse, como o luto e o divórcio, têm como conseqüência a ansiedade e a depressão. Durante as últimas décadas, numerosos estudos relatam indicações de que os estados psicológicos e as doenças psiquiátricas podem influenciar o comportamento imune. Muito embora exista considerável variabilidade nos dados, diversos estudos realizados encontraram que os indivíduos deprimidos têm menor atividade imunológica que os controles não-deprimidos.

Além disso, vários estudos da pesquisa neuroimunológica apontam evidências de que possam existir subgrupos de pacientes com DM ou sintomas depressivos que exibem alterações do quadro imune. Um exemplo disso é a imunossupressão aumentada nos indivíduos severamente deprimidos e nos idosos.

PSICONEUROIMUNOLOGIA: UMA REVISÃO

Quando estudarmos qualquer sistema biológico, nunca poderemos separar este do todo. Cada parte do siste-

ma pertence ao organismo e dele é inseparável funcionalmente. Baseado nesse princípio, é interessante salientar que os mamíferos respondem à inflamação com complexas adaptações envolvendo os sistemas imune, nervoso e endócrino (SCARBOROUGH, 1990).

Vários trabalhos no campo da psiconeuroimunologia apontam a existência de uma comunicação bidirecional entre os sistemas imunológico e neuroendócrino — o eixo neuroimunoendócrino (BLALOCK, 1989; BONNEAU e col., 1990; WEIGENT e col., 1990). A existência dessas interconexões tem sido suspeitada por vários anos, mas somente agora suas bases celulares e moleculares começam a ser desvendadas (fig. 1). A comunicação bidirecional pode ser resumida da seguinte forma:

— **Primeiro:** uma alteração nervosa (e.g. estresse, depressão) pode modular, direta ou indiretamente, uma atividade imunológica (e.g. resistência às infecções). Isso pode ocorrer diretamente, através das inervações nervosas simpáticas (e.g. adrenérgica, colinérgica) dirigidas a órgãos linfóides primários como o timo (GOETZL e col., 1990; ROITT e col., 1992; SAVINO, 1992), ou através da liberação de neuropeptídeos hormonais (KELLEY, 1990; McCANN e col., 1987; PASCUAL e col., 1991; TESCHEMACHER e col., 1990; WENGER e col., 1990). De acordo com BESEDOVSKY e col. (1979), a desnervação cirúrgica do baço e a simpatectomia química determinam um incremento da imunocompetência. A noradrenalina e adrenalina são moduladores imunológicos bem conhecidos. Um exemplo desse fenômeno é o efeito dramático da adrenalina ao terminar reações anafiláticas agudas. Sobretudo, a modulação neuroimunológica pode ser indireta quando um neuropeptídeo influencia a secreção de um segundo hormônio endócrino, que agirá sobre as células imunes. Isso pode ser claramente demonstrado através da liberação exagerada de glicocorticóides (i.e. cortisol, corticosterona) pelas adrenais numa situação depressiva ou estressante (KIECOLT-GLASER e GLASER, 1991). Esses hormônios possuem, na maioria dos casos, efeito imunossupressor (KRONFOL e col., 1985; MASON, 1991; MUNCK e GUYRE, 1991), além de complexos efeitos sobre o sistema nervoso central (SNC).

— **Segundo:** as células imunocompetentes podem sintetizar citocinas e certos hormônios, modulando várias funções imunes e nervosas. O sistema imune pode modular processos de conduta, que, por sua vez, atuam “corrigindo” distúrbios homeostáticos dentro do sistema imune (COHEN, 1991). Recentes estudos, *in vitro* e *in vivo*, demonstraram que as citocinas são os principais mediadores nas respostas neuroendócrinas, nos estados inflamatórios e infecciosos (SCARBOROUGH, 1990). As citocinas parecem modular o SNC em vias cerebrais, hipotálamicas ou mesmo hipofisárias. A IL-2 induz a matura-

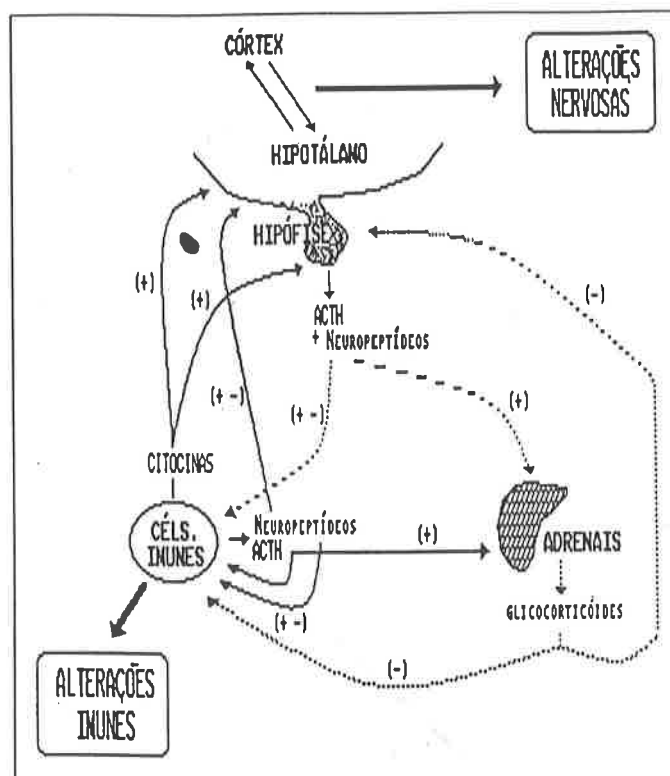


Fig. 1 — Esquema geral das interações entre o sistema imune e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Linha pontilhada = neuromodulação; linha sólida = imunomodulação; (+) = estimulação; (-) = inibição.

ção de oligodendrócitos e aumenta a produção de mielina (GOETZL e col., 1990); também parece induzir a liberação de ACTH (hormônio adrenocorticotrófico) e endorfinas pela hipófise (BLALOCK, 1989). Já a IL-1 pode induzir a febre (ABBAS e col., 1991; ROITT e col., 1992), o sono *slow-wave* (BLALOCK, 1989), a liberação de ACTH e endorfinas (BUZZETTI e col., 1988) e o aumento de níveis neurais de NGF [fator de crescimento neuronal] (GOETZL e col., 1990). Além destas, várias outras citocinas parecem modular o SNC: o TNF [i.e. (fator de necrose tumoral)] (MILENKOVIC, 1989), o IFN-alfa e gama (BONNEAU e col., 1990) e as timosinas (BLALOCK, 1989; SPANGELO e col., 1987).

— **Terceiro:** as células nervosas também sintetizam algumas citocinas e neuropeptídeos hormonais que então modulam as atividades imunes e nervosas. Da mesma forma, as células imunes podem igualmente sintetizar neurotransmissores e citocinas com ações imunes e nervosas. HERTZ e col. (1990) demonstraram que os astrócitos podem realizar uma série de funções imunes, como a expressão de MHC I e II, secreção de citocinas (e.g. IL-6, IFN- β , TNF) e a identificação de atividades fagocítica e enzimática. Além de exercer tais funções, foi demonstrado também que estas células são sensíveis a inúmeros estímulos imunes, como citocinas e complexos antígeno-

TABELA 1 — Produtos neuroendócrinos produzidos por células imunes*

Células origem	Neuromediador
LINFÓCITOS	GH, VIP, prolactina
— Células T	ACTH, β -endorfina, encefalinas, TSH, CRF, FPCG, FCO, GC
PMN	
— Eosinófilos	VIP, SP
— Mastócitos	Encefalinas, somatostatina
MONONUCLEARES	VIP
— Macrófagos	ACTH, encefalinas
— Monócitos	Somatostatina
TIMÓCITOS	AVP, oxitocina, neurofisina
CÉLULAS LEUCÉMICAS	GH

* Adaptado de BLALOCK (1989) e GOETZL (1990).

ACTH = hormônio adrenocorticotrófico; AVP = vasopressina; GC = gonadotropina coriônica; CRF = hormônio de liberação do ACTH; FPCG = fator de promoção do crescimento glial; GH = hormônio do crescimento; FCO = fator de crescimento de oligodendrócitos; SP = substância P; TSH = tirotrópina; VIP = peptídeo vasointestinal.

anticorpo. BLALOCK (1989) e GOETZL e col. (1990) demonstraram a enorme variabilidade na síntese de substâncias neuroativas por células imunológicas (tabela 1). Além disso, foi também demonstrada a existência de receptores nas células imunes para a maioria destas substâncias. Dessa forma, tanto as citocinas como os neurotransmissores atuam de forma (autócrina), parácrina ou endócrina.

ALTERAÇÕES DA IMUNOCOMPETÊNCIA DURANTE A DEPRESSÃO

Imunidade celular

Entre os primeiros a examinar o assunto, temos CAPPEL e col. (1978) que estudaram a imunidade celular em pacientes com depressão psicótica. Posteriormente, KRONFOL e col. (1983) estudaram 26 indivíduos deprimidos livres de drogas e verificaram respostas diminuídas à estimulação por mitógenos — *concanavalina A* (Con A), *fitoemaglutinina* (PHA) e *"pokeweed" mitogênico* (PWM). SCHLEIFER e col. (1984) replicaram estes achados em pacientes severamente doentes; além disso, apresentaram os primeiros dados de anormalidades numa subpopulação linfocitária. Relataram que a contagem absoluta de linfócitos T e B estava reduzida, ainda que as percentagens relativas estivessem inalteradas.

Entretanto, num estudo controlado e mais recente, SCHLEIFER e col. (1989) verificaram que pacientes ambulatoriais moderadamente deprimidos apresentavam parâmetros imunes normais. Por outro lado, houve inibição da resposta proliferativa induzida por mitógenos e redução da atividade NK (*Natural Killer*) naqueles indivíduos deprimidos que estavam hospitalizados e que eram mais velhos (i.e. com mais de 60 anos). Estes achados demons-

traram a influência da severidade da doença e da idade dos pacientes nas alterações imunológicas. MAES e col. (1989, 1991) corroboram estes dados através de suas pesquisas com indivíduos deprimidos, nas quais foi demonstrada significativa relação inversa entre a severidade da doença e as respostas linfocitárias induzidas por mitógeno. Da mesma forma, KIECOLT-GLASER e GLASER (1991) demonstram que existe também nos indivíduos deprimidos uma associação inversa entre a idade e a imunidade celular.

KRONFOL e col. (1983-1989) relataram que a depressão está associada à neutrofilia e linfocitopenia, análoga à observada na *síndrome de Cushing*. Sugeriram que a hipercortisolemia poderia estar subjacente às anormalidades imunológicas comumente observadas nestas duas síndromes.

Temos ainda vários estudos demonstrando uma atividade das células NK reduzida em pacientes psiquiátricos com DM e em situações de luto (GAUER e col., 1992; IRWIN e col., 1987, 1990; MOHL e col., 1987; NEROZZI e col., 1989). Particularmente, IRWIN e col. (1987) relataram que a severidade dos sintomas depressivos, em mulheres que sofreram grandes mudanças de vida (i.e. doença, morte do marido), está relacionada com uma redução da atividade NK, uma absoluta perda de células supressoras/citotóxicas e um aumento da taxa de *T helper/T supressora* (Th/Ts).

Imunidade humoral

Certamente, o comprometimento da imunidade humoral em indivíduos com DM está intimamente relacionado com a manutenção da atividade celular. Isso ocorre porque níveis circulantes de *imunoglobulinas*, *complemento*, *citocinas* e *prostaglandinas* estão ligados a possíveis alterações das células responsáveis pela coordenação da resposta imune (i.e. células Th, Ts).

Recentes estudos conduzidos por KRONFOL e HOUSE (1989) demonstraram que níveis de cortisol basal e de componentes C3 e C4 do complemento circulante estavam aumentados nos indivíduos deprimidos. As concentrações plasmáticas de imunoglobulinas IgG, IgM e IgA apresentavam pequeno aumento no grupo deprimido. Não foi demonstrada nenhuma correlação significativa entre valores de cortisol plasmático e subpopulações de linfócitos, resposta mitogênica linfocitária ou níveis de imunoglobulinas e complemento. Apesar disso, os níveis elevados de componentes do complemento estão relacionados à redução da capacidade linfocitária.

CALABRESE e col. (1986) replicaram os achados de KRONFOL e col. (1983), documentando a presença de níveis plasmáticos aumentados de prostaglandinas E1 e E2. De acordo com GOODWIN e WEBB (1980), estas substâncias podem

contribuir diretamente para a deficiência na imunidade celular.

ALTERAÇÕES ENDÓCRINAS

A associação entre o hipercortisolismo e a imunossupressão durante o estresse, o luto e a depressão constitui um dogma central na pesquisa psiconeuroimunológica. A desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) é uma das mais estudadas anormalidades neuroendócrinas na depressão. A elevação de níveis noradrenérgicos é outra característica de indivíduos com DM (MAES e col., 1989).

O hipercortisolismo observado nos indivíduos deprimidos pode ser análogo àquele visto nos portadores da síndrome de Cushing, já que podemos verificar neutrofilia e linfocitopenia em ambas as situações (KRONFOL e col., 1984, 1985, 1989). Dentre os linfócitos, considera-se que há uma predominância das anormalidades de linfócitos T sobre B. Além disso, verificou-se que as células Th são preferencialmente afetadas, enquanto que a atividade das células supressoras permanece intacta (CALABRESE e col., 1987). De acordo com MUNCK e GUYRE (1991), os glicocorticóides inibem virtualmente todas as funções dos monócitos e macrófagos (e.g. quimiotaxia, apresentação do antígeno, fagocitose, liberação do mediador). IRWIN e col. (1987) demonstraram que o cortisol suprime igualmente a atividade NK *in vitro*.

Além das alterações celulares, os glicocorticóides inibem uma série de outros mediadores importantes para o controle das mudanças homeostáticas e imunológicas. Inibem uma série de citocinas (e.g. IL-1, IL-2, IL-3, TNF, IFN-GAMA, GMCSF), agentes inflamatórios diversos (e.g. histamina, serotonina, eicosanóides, colagenase) e vários hormônios e neurotransmissores [e.g. insulina, CRF, ADH, ACTH, β -endorfina] (CALABRESE e col., 1987; MUNCK e GUYRE, 1991).

LOWY e col. (1989) sugerem que anormalidades nos receptores para glicocorticóides podem estar presentes nos indivíduos deprimidos. Tais alterações referem-se a um reduzido número de receptores para glicocorticóides, presentes mesmo em deprimidos que não apresentaram taxas elevadas de cortisol basal. O paciente deprimido possivelmente teria poucos receptores para glicocorticóides a nível de hipotálamo. O aumento de cortisol circulante não acarretaria mudanças no seu controle via *feedback*. Não haveria diminuição do fator hipotalâmico (i.e. CRF) e a hipófise, por sua vez, continuaria a secretar ACTH.

Pacientes que necessitam usar corticóides (e.g. doenças auto-imunes) com frequência desenvolvem transtorno do humor secundário, com depressão ou mania. Outro exemplo é a reserpina (i.e. droga usada como anti-

hipertensivo e tranqüilizante), que depleta certos neurotransmissores [i.e. noradrenalina] (BRADFORD, 1986) e causa depressão.

Mas diante de todas as alterações "maléficas" causadas pelos glicocorticóides, qual seria o papel destes no comportamento imunológico normal? Recentemente, MASON (1991) relatou evidências de que a resposta imunológica poderia ser limitada pelos glicocorticóides — evitando assim que o sistema atinja níveis potencialmente prejudiciais ao hospedeiro. Um exemplo disso é que certas doenças inflamatórias (e.g. artrite reumatóide) podem surgir numa fraca modulação, pelos glicocorticóides, da imunidade celular. As evidências apontam então que os glicocorticóides desviam o balanço dinâmico entre as respostas imunes celulares e humorais, em favor da última. Dessa forma, o nível aumentado de glicocorticóides (e.g. depressão, estresse) seria útil na resistência a doenças auto-imunes via ação celular, mas da mesma forma aumentaria a suscetibilidade a organismos patogênicos que requerem a mesma imunidade celular para seu controle. Além disso, o mesmo autor verificou que na população existe variação genética quanto à resposta ao estímulo estressante — alguns indivíduos possuem ação de glicocorticóides mais eficaz, outros não. Conseqüentemente, a suscetibilidade à doença depende de ambos os fatores genéticos e ambientais.

ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS

Atualmente, existe grande quantidade de trabalhos epidemiológicos consistente com os eventos estressivos. Tais dados sugerem que indivíduos que recentemente experimentaram grandes mudanças negativas na vida podem ser um grupo de risco para uma variedade de enfermidades, incluindo as doenças infecciosas (KIECOLT-GLASER e GLASER, 1991).

Deve ser ressaltado que as anormalidades imunológicas observadas na depressão são muito similares àquelas verificadas no luto e nas pessoas cronicamente estressadas. Portanto, em teoria, os indivíduos deprimidos poderiam também ser mais vulneráveis às doenças evitadas pelo sistema imune celular, tais como infecções por fungos, por vírus e doenças neoplásicas. MEYER e HAGGERTY (1962) demonstraram que o estresse crônico estava relacionado a um aumento das infecções estreptocócicas em 16 famílias. Surpreendentemente, todavia, existem poucos estudos avaliando o aumento da vulnerabilidade a doenças específicas em indivíduos deprimidos.

WINSA e col. (1991) relataram que eventos negativos da vida como estresse, luto e divórcio, bem como fatores hereditários, podem ser fatores de risco para a doença de Graves (doença auto-imune). Foi demonstrado um risco para a doença de Graves maior nos pacientes

que estavam divorciados do que naqueles que eram casados ou viviam juntos.

KIECOLT-GLASER e GLASER (1991) demonstraram que linfócitos de indivíduos altamente deprimidos, após exposição à radiação X, detinham taxa de reparo do DNA significativamente mais baixa do que linfócitos obtidos de pacientes pouco deprimidos. Este achado é importante devido à falha de reparo do DNA estar associada a uma maior incidência de câncer: a maioria dos carcinógenos parece agir através de danos ao DNA em células, produzindo assim células mutantes.

O comprometimento ou ausência de imunidade natural, mensurada pela atividade NK *in vitro* e diminuição do número absoluto de células NK circulantes, tem sido encontrado em associação com o desenvolvimento e progressão de carcinomas, em infecções virais agudas e crônicas (i.e. incluindo a AIDS), síndrome da fadiga crônica, depressão psiquiátrica, várias síndromes de imunodeficiência e certas doenças auto-imunes (RODRIGUES, 1987; TRINCHIERI, 1989; ROBERTSON e RITZ, 1990).

Recentes estudos apontam uma possível ligação da depressão com reações de hipersensibilidade tipo I (i.e. alergia atópica; mediada por IgE). BELL e col. (1991), avaliando uma amostra não-clínica de estudantes universitários, relataram que indivíduos inclinados à depressão clínica têm mais alergias que não-depressivos. Esses dados replicam achados previamente analisados pelos mesmos autores numa população clínica.

HICKIE e col. (1990) recentemente relataram que a depressão está ligada ao surgimento de infecções, distúrbios auto-imunes, doenças cardiovasculares e neoplasias.

FATORES QUE ALTERAM A AÇÃO PSICONEUROIMUNOLÓGICA

Até agora, os estudos da imunocompetência durante a depressão não têm fornecido achados conclusivos. As possíveis razões para esta falta de concordância podem ter relação com a metodologia dos estudos e com as próprias avaliações imunológicas. Os sintomas relacionados com a depressão, tais como anorexia, emagrecimento, desnutrição, bem como a privação do sono devido à insônia, são variáveis difíceis de controlar e dificultam a interpretação dos achados obtidos (tabela 2).

A heterogeneidade da DM parece ser importante para o comprometimento da resposta imune. Recentes pesquisas apontam que as alterações biológicas existentes entre pacientes bipolares e unipolares possam ser diferentes e possivelmente distintas (STEIN e col., 1991). Além disso, pacientes hospitalizados são geralmente considerados mais severamente deprimidos. Outra variável a ser consi-

derada é que os antidepressivos atualmente empregados são comumente drogas imunossupressoras.

A senescência é um fator crítico que determina alterações orgânicas importantes. Durante o envelhecimento, a involução tímica e os distúrbios neuroendócrinos parecem ser os mais importantes para a manutenção correta do sistema imune. Como já citado anteriormente, alguns autores apontam evidências de que a severidade da doença e a idade avançada dos pacientes deprimidos estão inversamente relacionadas com a resposta imunológica (KIECOLT-GLASER e GLASER, 1991; MAES e col., 1989; SCHLEIFER e col., 1989).

FAASEN e col. (1989) sugerem que o envelhecimento *in vivo* de linfócitos T resulta de um defeito na indução de genes necessários para a transição da fase mitótica G₀ para S. Para tanto, tais autores estudaram uma população de idosos (média 75 anos) e relataram que a resposta proliferativa diminuída à PHA era acompanhada de uma diminuição paralela da síntese de proteínas de choque térmico (i.e. HSP90 e P73). Os dados deste autor podem estar relacionados com o embotamento linfoproliferativo observado nos pacientes deprimidos.

O sexo é provavelmente outro fator que influencia as interações do eixo neuroimunológico. Segundo McCRU-DEN e STIMSON (1991), as mulheres podem ser consideradas imunologicamente mais reativas que os homens. Tal reatividade aumentada pode estar refletida na incidência aumentada da maioria das doenças auto-imunes nas mulheres (ABBAS e col., 1991; McCRU-DEN e STIMSON, 1991). O grupo feminino apresenta níveis elevados de imunoglobulinas e relativa redução da atividade celular. Foi também demonstrado que os estrógenos geralmente deprimem a imunidade celular — inibindo a capacidade linfoproliferativa estimulada por mitógenos e reduzindo a atividade de NK. Pode-se especular que tais hormônios sejam os

TABELA 2 — Possíveis fatores que alteram o comprometimento imunológico do paciente deprimido

1. Severidade da doença
2. Heterogeneidade da doença
3. Status de hospitalização
4. Uso de psicofármacos
5. Associação com outras enfermidades
6. Estado físico e nutricional
7. Idade
8. Sexo
9. Grupos étnicos (?)
10. Tabagismo
11. Uso de drogas
12. Fatores humorais
13. Ritmo circadiano
14. Variabilidade genética

responsáveis por algumas variações observadas nos experimentos com pacientes deprimidos. As variações endócrinas do ciclo menstrual e a gravidez, possivelmente, acarretam interpretações errôneas acerca do comportamento imunológico nas mulheres.

Existem numerosos fatores humorais que alteram a imunidade celular do indivíduo normal e deprimido. Várias substâncias do soro inibem a transformação linfocitária *in vitro*, como as imunoglobulinas (IgG1, IgG2 ou IgG4), proteína C reativa, gonadotropina coriônica, cortisol, prostaglandinas e inúmeras citocinas (NELSON e GATTI, 1976; SOMMER, 1992). Particularmente, SOMMER (1992) demonstrou que certos aminoácidos modulam a linfoproliferação *in vitro* de indivíduos normais. A cisteína apresentou um efeito estimulatório, sendo que a fenilalanina, glutamato, glutamina e triptofano causaram uma inibição desta resposta.

De acordo com CALABRESE e col. (1987), o estresse físico extremo também diminui a imunocompetência — especialmente da imunidade celular. A esse respeito, são as alterações quantitativas como, por exemplo, um decréscimo no número e percentagem de células T e alterações qualitativas como um embotamento da capacidade linfocitária estimulada por mitógenos.

Enfim, a própria variabilidade genética existente na população gera potencial suficiente para o surgimento de anomalias no eixo neuroimunoendócrino. Sabe-se também que o comportamento imunológico varia muito no indivíduo e, sobretudo, entre indivíduos. Foi demonstrado que a linfoproliferação estimulada por mitógenos no indivíduo varia de um fator de cinco vezes num período de algumas semanas, e cerca de dez vezes entre indivíduos diferentes (NELSON e GATTI, 1976). Tal flutuação imunológica é devida à interação entre vários fatores, como ritmo circadiano, metabolismo e outros já comentados acima.

CONCLUSÕES

Para o atual conhecimento científico, existem consideráveis evidências de que a DM está associada com alterações do sistema imunológico. Estudos enumerativos e funcionais demonstram o embotamento *in vitro* do sistema imune. Contudo, surgem dúvidas a respeito da correlação dos achados *in vitro* com as respostas imunes *in vivo*, como poderia ser esperado no combate às infecções ou tumores. Além disso, é necessário o planejamento de estudos prospectivos, delineando observações patofisiológicas da doença com análises quantitativas e qualitativas da imunocompetência.

Algumas evidências sugerem que possam existir subgrupos de pacientes com DM que exibem alterações nas avaliações imunológicas, por exemplo, os idosos e os se-

veramente deprimidos (SCHLEIFER e col., 1989). Além disso, possivelmente pacientes unipolares e bipolares, bem como as demais diferenças entre os grupos, exibam um quadro imunológico diferenciado.

A resposta imune deve ser entendida num contexto de um sistema integrado e não mais como uma ação solitária num vácuo. Como já vimos, existe na verdade uma comunicação bidirecional entre os sistemas imune e neuroendócrino: citocinas modulam algumas atividades nervosas, bem como neuro-hormônios modulam diversas atividades imunológicas.

Futuros estudos nesta área irão prover conceitos mais elaborados e unificados acerca das inter-relações existentes entre os principais mecanismos integrativos disponíveis aos organismos superiores, além de uma maior compreensão do organismo humano como um todo. Neste compromisso, certamente encontraremos novas propostas para prevenções/tratamentos de enfermidades ou distúrbios associados com os sistemas imune, endócrino e nervoso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. e POBER, J.S. (1991). *Cellular and Molecular Immunology*, W.B. Saunders, Philadelphia, pp. 375-376.
2. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION (1987). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 3ª ed. revisada, American Psychiatric Association, Washington DC.
3. BELL, I.R. (1991). "Depression and allergies: survey of a nonclinical population". *Psychother Psychosom* 55: 24-31.
4. BESEDOVSKY, H.D.; del REV, A. e SORKIN, E. (1979). "Immunoregulation mediated by the sympathetic nervous system". *Cell Immunol* 48: 346-355.
5. BLALOCK, J. (1989). "A molecular basis for bidirectional communication between the immune and neuroendocrine systems". *Physiol Rev* 69: 1-32.
6. BONNEAU, R.; KIECOLT-GLASER, J. e GLASER, R. (1990). "Stress-induced modulation of the immune response". *Ann N Y Acad Sci* 594: 253-268.
7. BRADFORD, H. (1986). *Chemical Neurobiology*, W.H. Freeman & Company, New York, pp. 463-466.
8. BUZZETTI, R.; McLOUGHLIN, L.; SCAVO, D. e REES, L. (1988). "A critical assessment of the interactions between the immune system and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis". *J Endocrinol* 120: 183-187.
9. CALABRESE, J.; SKWERER, R.; BARN, B.; GULLEDGE, A.; VALENZUELA, R.; BUTKUS, A.; SUBICHIN, S. e KRUPP, N. (1986). "Depression, immunocompetence, and prostaglandins of the E series". *Psychiatry Res* 17: 41-47.
10. CALABRESE, J.; KLING, M. e GOLD, P. (1987). "Alteration: in immunocompetence during stress, bereavement, and depression: focus on neuroendocrine regulation". *Am J Psychiatry* 144: 1123-1134.
11. CAPPEL, R.; GREGOIRE, F. e THIRY, L. (1978). "Antibody and cell-mediated immunity to herpes simplex virus in psychotic depression". *J Clin Psychiatry* 39: 266-268.

12. COHEN, N.; MOYNIHAN, J.; GROTA, L. e ADER, R. (1991). "Behavioral and immunological evidence of reciprocal signaling between the immune system and the central nervous system". *Peripheral Signaling of the Brain* 6: 37-54.
13. FAASSEN, A. e col. (1989). "Diminished heat-shock protein synthesis following mitogen stimulation of lymphocytes from aged donors". *Exp Cell Res* 183: 326-334.
14. GOODWIN, J. e WEBB, D. (1980). "Review: Regulation of the immune response by prostaglandins". *Clin Immunol Immunopathol* 15: 106-122.
15. GOETZL, E.; ADELMAN, D. e SPREEDHARAN, S. (1990). "Neuroimmunology". *Advances in Immunol* 48: 161-190.
16. HERTZ, L.; McFARLIN, D. e WAKSMAN, B. (1990). "Astrocytes: auxiliary cells for immune responses in the central nervous system". *Immunol Today* 11: 265-268.
17. HICKIE, I.; SILOVE, D.; HICKIE, C.; WAKEFIELD, D. e LLOYD, A. (1990). "Editorial: Is there immune dysfunction in depressive disorders?" *Psychological Medicine* 20: 755-761.
18. IRWIN, M.; DANIELS, M.; BLOOM, E.; SMITH, T. e WEINER, H. (1987). "Life events, depressive symptoms, and immune function". *Am J Psychiatry* 144: 437-441.
19. IRWIN, M.; CALDWELL, C.; SMITH, T.; BROWN, S.; SCHUCKIT, M. e GILLIN, J. (1990). "Major depressive disorder, alcoholism, and reduced natural killer cell cytotoxicity". *Arch Gen Psychiatry* 47: 713-719.
20. KELLEY, K. (1990). "The role of growth hormone in modulation of the immune response". *Ann N Y Acad Sci* 594: 95-103.
21. KIECOLT-GLASER, J. e GLASER, R. (1991). "Stress and immune function in humans". Em: Ader, R. e col. (Eds.) *Psychoneuroimmunology*, 2ª ed., Academic Press, San Diego, pp. 849-867.
22. KRONFOL, Z.; SILVA, J.; GREDE, J.; DEMBINSKI, S.; GARDNER, R. e CARROLL, B. (1983). "Impaired lymphocyte function in depressive illness". *Life Sci* 33: 241-247.
23. KRONFOL, Z.; TURNER, R.; NASRALLAH, H. e WINOKUR, G. (1984). "Leukocyte regulation in depression and schizophrenia". *Psychiatry Res* 13: 13-18.
24. KRONFOL, Z.; NASRALLAH, H.; CHAPMAN, S. e HOUSE, J. (1985). "Depression, cortisol metabolism and lymphocytopenia". *J of Affective Disorders* 9: 169-173.
25. KRONFOL, Z. e HOUSE, J.D. (1989). "Lymphocyte mitogenesis, immunoglobulin and complement levels in depressed patients and normal controls". *Acta Psychiatr Scand* 80: 142-147.
26. LOWY, R.; GORMLEY, G.; REDER, A. e MELTZER, H. (1989). "Immune function, glucocorticoid receptor regulation, and depression". Em: Miller, A.H. e col. (Eds.) *Depressive Disorders & Immunity*, American Psychiatric Press, Washington, pp. 107-133.
27. MAES, M.; BOSMANS, E.; SUY, E.; MINNER, B. e RAUS, J. (1989). "Impaired lymphocyte stimulation by mitogens in severely depressed patients. A complex interface with HPA-axis hyperfunction, noradrenergic activity and the aging process". *Br J Psychiatry* 155: 793-798.
28. MAES, M.; BOSMANS, E.; SUY, E.; VANDERVORST, C.; DEJONCKHEERE, C. e RAUS, J. (1991). "Depression-related disturbances in mitogen-induced lymphocyte responses and IL-1 β and soluble IL-2 receptor production". *Acta Psychiatr Scand* 84: 379-386.
29. MASON, D. (1991). "Genetic variation in the stress response: susceptibility to experimental allergic encephalomyelitis and implications for human inflammatory disease". *Immunol Today* 12: 57-60.
30. McCANN, S.; ONO, N.; KHORRAM, O.; KENTROTI, S. e AGUILA, C. (1987). "The role of brain peptides in neuroimmunomodulation". *Ann N Y Acad Sci* 496: 173-181.
31. McCRUDEN, A. e STIMSON, W. (1991). "Sex hormones and immune function". Em: Ader, R. e col. (Eds.) *Psychoneuroimmunology*, 2ª ed., Academic Press, San Diego, pp. 475-493.
32. MEYER, R. e HAGGERTY, R. (1962). "Streptococcal infections in families: factors altering individual susceptibility". *Pediatrics* 29: 539-549.
33. MILENKOVIC, L.; RETTORI, V.; SNYDER, G.; BEUTLER, B. e McCANN, S. (1989). "Cachectin alters anterior pituitary hormone release by a direct action in vitro". *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 2418-2422.
34. MOHL, P.; HUANG, L.; BOWDEN, C.; FISCHBACH, M.; VOGTBERGER, K. e TALA, N. (1987). "Natural killer cell activity in major depression". *Am J Psychiatry* 144: 1619.
35. MUNCK, A. e GUYRE, P.M. (1991). "Glucocorticoids and immune function". Em: Ader, R. e col. (Eds.) *Psychoneuroimmunology*, 2ª ed., Academic Press, San Diego, pp. 447-474.
36. NELSON, D. e GATTI, R. (1976). "Humoral factors influencing lymphocyte transformation". *Prog Allergy* 21: 261-341.
37. NEROZZI, D.; SANTONI, A.; BERSANI, G.; MAGNANI, A.; BRESSAN, A.; PASSINI, A.; ANTONOZZI, I. e FRAJESE, G. (1989). "Reduced natural killer cell activity in major depression: neuroendocrine implications". *Psychoneuroendocrinology* 14: 295-302.
38. PASCUAL, D.; McGHEE, J.; KIYONO, H. e BOST, K. (1991). "Neuroimmune modulation of lymphocyte function — I. Substance P enhances immunoglobulin synthesis in lipopolysaccharide activated murine splenic B cell cultures". *International Immunol* 3: 1223-1229.
39. ROBERTSON, M.J. e RITZ, J. (1990). "Biology and clinical relevance of human natural killer cells". *Blood* 76: 2421-2438.
40. ROITT, I.; BROSTOFF, J. e MALE, D. (1992). *Imunologia*, 2ª ed., Manole, São Paulo.
41. SAVINO, W. (1992). *Comunicação pessoal*.
42. SCARBOROUGH, D. (1990). "Cytokine modulation of pituitary hormone secretion". *Ann N Y Acad Sci* 594: 169-182.
43. SCHLEIFER, S.; KELLER, S. e MEYERSON, A. (1984). "Lymphocyte function in major depressive disorder". *Arch Gen Psychiatry* 41: 484-486.
44. SCHLEIFER, S.; KELLER, S.; BOND, R.; COHEN, J. e STEIN, M. (1989). "Major depressive disorder and immunity, role of age, sex, severity and hospitalization". *Arch Gen Psychiatry* 46: 81-87.
45. SOMMER, M. (1992). *Efeito de aminoácidos sobre a resposta linfocitária "in vitro" de linfócitos periféricos humanos estimulados por fito-hemaglutinina, concanavalina-A e pokeweed mitogênico*, tese de mestrado (Bioquímica), Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
46. SPANGELO, B.L. e col. (1987). "Biology and chemistry of thymosin peptides". *Ann N Y Acad Sci* 496: 196-204.
47. STEIN, M.; MILLER, A. e TRESTMAN, R. (1991). "Depression and the immune system". Em: Ader, R. e col. (Eds.) *Psychoneuroimmunology*, 2ª ed., Academic Press, San Diego, pp. 897-929.
48. TESCHEMACHER, H.; KOCH, G.; SCHEFFLER, H.; HILDEBRAND, A. e BRANTL, V. (1990). "Opioid peptides: immunological significance?" *Ann N Y Acad Sci* 594: 66-77.
49. TRINCHIERI, G. (1989). "Biology of natural killer cells". *Advances in Immunol* 47: 187-329.

50. WEIGENT, D.; CARR, J. e BLALOCK, J. (1990). "Bidirectional communication between the neuroendocrine and immune systems: common hormones and hormone receptors". *Ann N Y Acad Sci* 579: 17-27.
51. WENGER, G.; O'DORISIO, M. e GOETZL, E. (1990). "Vasoactive intestinal peptide: messenger in a neuroimmune axis". *Ann N Y Acad Sci* 579: 17-27.
52. WINOKUR, G. (1986). "Unipolar depression". Em: Winokur, G. e Clayton, P. *The Medical Basis of Psychiatry*, W.B. Saunders, Philadelphia, pp. 60-79.
53. WINSA, B.; ADAMI, H.-O.; BERGSTRÖM, R.; GAMSTREDT, A.; DAHLBERG, P.; ADAMSON, U.; JANSSON, R. e KARLSSON, A. (1991). "Stressful life events and Graves' disease". *The Lancet* 338: 1475-1479.

Moisés E. Bauer

Depto. Genética/Lab. Imunogenética
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Caixa Postal 15053
91501-970 — Porto Alegre, RS

III

DEPRESSÃO E IMUNIDADE: UMA BREVE ANÁLISE DESCRITIVA E METODOLÓGICA

Ricardo de Oliveira Silveira *
Gabriel Chittó Gauer **

UNITERMOS:

Fatores psíquicos e funcionamento Imune; Depressão Maior e Imunossupressão; Psiconeuroimunologia.

SUMÁRIO:

Os autores analisam o estado atual das pesquisas relacionadas às alterações dos parâmetros imunes nos distúrbios depressivos. São revisadas questões metodológicas e conceituais envolvidas na investigação das Doenças Depressivas e sua interrelação com o sistema imune.

INTRODUÇÃO:

Durante a última década, diversos Investigadores têm realizado esforços para determinar se fatores psicossociais como o estresse e a depressão estão associados com o início, curso e conseqüências das doenças físicas. Estudos sugerem que eventos vitais estressantes e desordens depressivas estão associadas com aumento da morbidade e mortalidade^{40,49}. Um grande corpo de pesquisas, nos últimos anos, tem considerado a possibilidade de que alterações imunológicas podem ocorrer devido a desordens depressivas e aos sintomas depressivos que acompanham os

* Doutorando da Faculdade de Medicina da PUCRS. Monitor de Pesquisa em Psiquiatria.
** Professor auxiliar do Departamento de Psiquiatria e Medicina Legal da PUCRS.

eventos vitais estressantes. As alterações imunológicas relatadas têm sido vistas como uma ligação entre a depressão, estresse e o aumento do risco para doenças relacionadas com o estado imune, tais como o câncer, doenças auto-imunes e infecções, incluindo a Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA). Entretanto, permanecem controvérsias quanto à existência desta relação. Muitas críticas têm sido feitas à metodologia empregada pelos trabalhos existentes na literatura. Diferentes achados nesses estudos têm criado discordâncias e confusões em relação à conceitualização, métodos, delineamento das pesquisas e seus resultados. Num esforço para clarificar o estado atual das pesquisas relacionadas às alterações imunes na depressão, iremos revisar e considerar as questões metodológicas e conceituais que estão envolvidas na investigação das desordens depressivas e o sistema imune.

O primeiro estudo que examinou as relações entre o sistema imune e depressão, utilizando provas laboratoriais, foi realizado por CAPPEL et al em 1978. Numa pesquisa bibliográfica "on line" (base de dados MEDLINE, 1987-1993), onde são vistos os artigos relativos ao tema, publicados nos últimos 6 anos, foram encontrados mais de 30 artigos. Destes, 28 estudos incluem grupos experimentais com diagnóstico de Depressão Maior (DM) e grupos com controles saudáveis. Alguns estudos adicionais incluíram indivíduos doentes como controles, tais como pacientes psiquiátricos, e não serão incluídos nesta revisão. Também foram realizados trabalhos relacionando estresse e eventos vitais estressantes com alterações imunes e trabalhos estudando sintomas depressivos e alterações imunes em populações de indivíduos "sadios", bem como estudos investigando citocinas e outras variáveis imunológicas. Estes trabalhos também não serão incluídos nesta revisão. Nos artigos revisados, todos utilizavam medidas do sistema imune, tais como contagem de células imunocompetentes e avaliação funcional das mesmas. As características destes estudos estão sumarizadas na Tabela 1.

ESTUDOS DESCRITIVOS:

As alterações numéricas dos linfócitos podem refletir alterações significativas no sistema imune em relação a uma variedade de doenças. Temos como exemplo, um decréscimo no número de linfócitos CD4 (T helper ou T4) como preditivo no desenvolvimento da SIDA, em indivíduos HIV positivos. Dos 28 estudos aqui revisados, temos 14 deles que incluem descrição celular e os achados estão sumarizados na Tabela 2. Dos 6 estudos que descrevem

o número de leucócitos, observa-se que 2 referem um aumento na contagem dos mesmos.

TABELA 1 - Resumo das Características dos Estudos da Função Imune em Pacientes com DM.

AUTOR*	Diagnóstico	Crítérios	N. Pacientes	N. Controles	Idade	Sexo	Raça	N. Sócio-Econ
Cappel 78	DP	-----	21	22	N	N	N	N
Sengar 82	BP	-----	15	19	N	N	N	N
Kronfol 83	DDM	-----	26	20	N	N	N	N
Schleifer 84	DDM	-----	18	18	S	S	N	N
Kronfol 85	DDM-E	-----	26	20	N	N	N	N
Schleifer 85	DDM	-----	15	15	S	S	N	N
Albrecht 85	DDM-E, DBP, NE	-----	27	13	N	N	N	N
Sylavahti 85	DDM-E, NE	-----	18	15	N	N	N	N
Kronfol 86	DDM	RDC	33	20	N	N	N	N
Calabrese 86	DDM	SADS, RDC	10	11	N	N	N	N
Mohl 87	DDM, BP	-----	10	10	N	N	N	N
Irwin 87	DDM	SADS, RDC	19	19	S	S	S	N
Darko 88	DDM	SADS RDC DSM-III	20	20	S	S	S	N
Urch 88	DDM, BP	DSM-III	29	27	S	S	N	N
Altshuler 89	DDM	DSM-III	8	8	S	S	N	N
Darko 89	DDM	SADS RDC DSM-II	20	20	S	S	S	N
Kronfol 89	DDM	DSM-III	40	37	N	N	N	N
Kronfol 89	DDM	SADS RDC DSM-III	12	12	S	S	N	N
Nerozzi 89	DDM	DSM-III	22	22	S	S	N	N
Schleifer 89	DDM, UP	SADS RDC DSM-III	91	91	S	S	N	N
Irwin 90	DDM	DSM-III	18	50	S	S	N	N
Irwin 90	DDM	DSM-III	36	36	S	S	N	N
Wilson 90	DDM	DSM-III	10	35	S	S	N	N
Fischer 90	DDM-E, NE	SADS RDC DSM-III	12	12	S	S	N	N
O'Neil 90	DDM	-----	15	15	S	S	N	N
Maes 91	DDM**	DSM-III-R	37	13	N	N	N	N
Evans 92	DDM	SADS, DSM-III-R	44	48	S	S	N	N
Andreoli 93	DDM, UP	SCID, DSM-III-R	53	53	S	S	N	S

*citado apenas o autor principal e o ano parcialmente (1984=84). **Maes dividiu os pacientes em dois grupos: com e sem melancolia. DP = Depressão Psicótica; BP = Depressão Bipolar; DDM = Desordem Depressiva Maior; E = subtipo endógeno; NE = subtipo não endógeno; UP = subtipo unipolar, DSM-III = Diagnostic and Statistical Manual of Mental (R=Revised), Disorders, RDC = Research Diagnostic Criteria, SADS = Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia.

O número total de linfócitos foi avaliado em 10 estudos, e somente SCHLEIFER (1984) e KRONFOL(1989) encontraram diferenças no sentido de uma diminuição nos deprimidos em relação aos controles saudáveis. ANDREOLI (1993) também encontrou uma correlação negativa

O número total de linfócitos foi avaliado em 10 estudos, e somente SCHLEIFER (1984) e KRONFOL (1989) encontraram diferenças no sentido de uma diminuição nos deprimidos em relação aos controles saudáveis. ANDREOLI (1993) também encontrou uma correlação negativa entre a idade e o número absoluto de linfócitos nos pacientes deprimidos, mas não nos controles. Foram realizados 7 estudos mensurando o número de neutrófilos em deprimidos. Em 3 destes, foi descrito uma neutrofilia, sendo que um destes relatou um padrão de neutrofilia com linfopenia como é visto na Tabela 2.

Tabela 2 - Estudos Descritivos em DM.

	Leucócito	Neutró- filos	Linfóci- tos	Linfóci- tos T	CD4 _T	CD8	CD4/CD	8Linfóci- tos B	Células NK
Autores	s*								
Sengar, 82	-----	-----			-----	-----	-----		-----
Schleifer, 84			D	D	-----	-----	-----	D	-----
Albrech, 85					-----	-----	-----	-----	-----
Schleifer, 85				D	-----	-----	-----		-----
Sylavahti, 85	-----	-----	-----					-----	-----
Calabrese, 86	-----	-----	-----				-----	-----	-----
Irwin, 87	-----	A		-----	-----	-----	-----	-----	-----
Darko, 88	-----	-----	-----				A		
Kronfol, 89	A	A	D	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Schleifer, 89									-----
Irwin, 90	A	A		-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wilson, 1990	-----	-----	-----	-----	A		D	-----	-----
Fisher, 1990	-----	-----						-----	-----
Andreoli, 1993	-----	-----	*	*	-----	-----	-----	*	D

D: Indica significativo decréscimo na resposta de pacientes x controles.

I: Indica que não há diferença significativa entre pacientes x controles.

A: Indica significativo aumento na resposta de pacientes x controles.

* Como é abordado posteriormente no texto, foi encontrado uma correlação negativa entre idade e número absoluto de linfócitos e linfócitos B. Também que existe uma relação entre curso clínico e decréscimo no número de linfócitos T.

Em relação à proporção entre células CD4 e CD8 (T supressora ou T8), observa-se 3 que não encontraram diferenças e dois com achados contraditórios com DARKO et al (1988) encontrando um aumento e, WILSON et al (1990) diminuição. Temos 6 estudos avaliando o número de células B em deprimidos, sendo que SCHLEIFER et al (1984) observaram número diminuído em pacientes hospitalizados e ANDREOLI et al (1993) encontrou uma correlação negativa entre idade e o número absoluto de células B em pacientes com depressão. Em relação ao número de células "Natural Killer" (CNK) temos um estudo onde se demonstra uma diminuição quantitativa nos

pacientes em relação aos controles. Quanto ao número de células T, em 7 estudos não houve alterações, em 2 uma diminuição e, no estudo de ANDREOLI et al (1993) uma diminuição relacionada ao curso clínico da doença.

Na maioria dos estudos em que se investigou o número de células do sistema imune e subtipos de células no sangue periférico de indivíduos com depressão maior, não se encontrou diferenças comparado com controles saudáveis. Uma grande variação na metodologia e delineamento empregado nos estudos é um fator de confusão para interpretação e quantificação do número de células em pacientes deprimidos, como é abordado posteriormente.

ESTUDOS FUNCIONAIS

A grande maioria dos trabalhos utiliza como parâmetro para avaliação da função imune à resposta a estimulação da proliferação linfocitária induzida por mitógenos (REPLM) e, a avaliação da atividade das células "Natural Killer" (ACNK). Estas medidas da imunidade têm sido amplamente empregadas para avaliar doenças imunes e para o estudo da biologia dos linfócitos⁴⁷. Dos trabalhos revisados, o único a empregar outro parâmetro foi o de O'NEIL & LEONARD, 1990, que utilizou a resposta dos polimorfonucleares a ativação pelo zymosan opsonizado, encontrando uma diminuição nos pacientes deprimidos. Há 15 estudos avaliando a resposta linfocitária a um ou mais mitógenos Fitohemaglutinina (PHA), Concanavalina (Con-A), e "Pokeweed" (PWM), como podem ser vistos na Tabela 3. Sendo que, em 7 estudos temos uma REPLM diminuída nos pacientes deprimidos em relação aos seus controles. Em um único estudo houve aumento da resposta à PHA. E, em 8 estudos não foram encontrados nenhuma alteração, quando comparados pacientes com controles. Destes, ANDREOLI (1993) encontrou diminuição da REPLM à PHA e CON-A nos pacientes deprimidos em relação à idade. E, também uma correlação negativa entre REPLM à PHA mais significativa em relação ao uso prévio de antidepressivos.

As CNK são um subtipo de linfócito envolvido no reconhecimento e destruição de células neoplásicas e infectadas por vírus. Como se observa na Tabela 4, 11 estudos examinaram a ACNK em pacientes deprimidos. Destes, 8 encontraram decréscimo na ACNK nos pacientes em relação aos controles. MOHL et al, 1987, não encontrou nenhuma alteração entre os grupos, SCHLEIFER et al, 1989, encontrou um decréscimo da ACNK apenas nos pacientes hospitalizados e mais idosos. E EVANS et al, 1992, encontrou um decréscimo da ACNK nos pacientes masculinos e não nos femininos.

Tabela 3 – Estudos da REPLM em DM

Autores	Pareamento*	PHA	CON-A	PWM
Cappel, 1978	N	I	-----	-----
Sengar, 83	N	I	-----	-----
Kronfol, 83	N	D	D	D
Schleifer, 84	S	D	D	D
Kronfol, 85	N	D	D	D
Schleifer, 85	S	I	I	I
Albrech, 85	N	I	I	I
Syvalahti, 85	N	D	I	I
Kronfol, 86	N	D	D	D
Calabrese, 86	N	D	D	D
Altshuler, 89	S	D	-----	-----
Darko, 89	S	I	I	-----
Kronfol, 89	N	I	D	D
Schleifer, 89	S	I	I	I
Andreoli, 93	S	I**	I**	I

* Refere-se ao fato dos ensaios terem sido realizados no mesmo dia e hora para pacientes e controles.
 ** Encontrou várias alterações, no sentido de uma diminuição, quando considerou idade e curso clínico em pacientes.

Como o delineamento e a metodologia empregada pelos trabalhos existentes é muito variada, torna-se difícil avaliar a fidedignidade dos dados existentes até o momento. Entretanto, parece que as alterações relativas às CNK, tanto quantitativas como qualitativas, são as que mais foram reproduzidas, suportando a hipótese de que os dados relativos às CNK são particularmente sensíveis e relevantes para futuras investigações no campo da psiconeuroimunologia. A isto, se soma o fato de que a ACNK é mais específica que uma medida funcional, tal como a REPLM, e de maior importância clínica, pois é cada vez mais evidente a importância das CNK como um indicador de saúde e doença dos indivíduos^{35,47}.

A METODOLOGIA DOS TRABALHOS:

Uma grande variedade de questões metodológicas limitam a interpretação e generalização da maioria dos estudos revisados. Entre estas podemos citar a heterogeneidade nos diagnósticos utilizados, o tamanho das amostras, a composição dos grupos controles e as diferenças nas técnicas laboratoriais realizadas.

Tabela 4 - Estudos da ACNK na DM

Autores	Resultados
Mohl. 87	I
Irwin. 87	D
Urch. 88	D
Kronfol. 89	D
Nerozzi, 89	D
Schleifer, 89	I
Irwin, 89	D
Irwin, 90	D
Fischler, 91	D
Maes, 91	D
Evans, 92	D(H);I(M)*

* Evans encontrou um decréscimo nos homens e inalterado nas mulheres.

A heterogeneidade nos diagnósticos empregados é uma variável de confusão na tentativa de se avaliar estas pesquisas. Como é visto na Tabela 1, muitos trabalhos não distinguem pacientes com transtorno do humor unipolar dos bipolares. Também, os quadros depressivos não são estratificados conforme seus subtipos. Por exemplo, em episódio único ou recorrente, com predomínio de sintomas psicológicos ou somáticos, uso prévio de antidepressivo ou não, com ou sem sintomas psicóticos. Já que existem evidências de que estas variáveis estariam relacionadas com populações biologicamente distintas.

Podemos ainda observar na Tabela 1 que o tamanho das amostras é pequeno na grande maioria dos estudos e, que muitos também não incluíram controles pareados, pelo menos, para sexo e idade. Sabemos que existem alterações na função imune ligadas a idade e ao sexo³³. Se os controles eram mais velhos que os pacientes e não eram pareados por sexo, fica difícil determinar em que extensão o sexo e a idade contribuíram para os achados. Em geral, as mulheres podem ser consideradas imunologicamente mais reativas que os homens. A atividade física melhora a função imune⁴¹ e os pacientes com Depressão Maior (DM), em geral, se apresentam apáticos e com retardo psicomotor. Se os controles forem atletas, é lógico que esta variável irá influenciar os achados. Da mesma forma podemos também citar a raça dos indivíduos. Alguns trabalhos sugerem que indivíduos negros, apresentam uma ACNK maior que os demais. O tabagismo e uso de outras substâncias psicoativas, bem como determinadas doenças orgânicas, prejudicam o funcionamento do sistema imunológico. Existem evidências de que durante a gestação, a imunidade humoral está aumentada e a imunidade

mediada por células deprimida. Os estrógenos deprimem a imunidade mediada por células, reduzindo a ACNK²⁶. Por estes motivos, ao realizar um estudo onde uma grande parcela da amostra trata-se de mulheres, devem ser consideradas variáveis como gravidez, período de ciclo menstrual e uso de medicações como os contraceptivos orais. Um único estudo considerou parcialmente estas questões (WILSON et al, 1990) e 3 estudos avaliaram o uso de tabaco pelos pacientes (IRWIN et al, 1987; WILSON et al, 1990 e ANDREOLI et al, 1993). Apenas ANDREOLI et al, (1993) avaliou o nível sócio-econômico e a atividade física da amostra.

Um dos fatores amplamente estudados como influenciando de forma prejudicial a imunidade é a desnutrição, determinando, por exemplo, um decréscimo na ACNK⁹. Como a perda do apetite e o emagrecimento são muito comuns entre os pacientes com DM, de que forma poderemos afirmar que a baixa atividade imune nos pacientes se deva a DM, sem avaliar o comprometimento do seu estado nutricional. E se os indivíduos não possuem o mesmo nível sócio-econômico, poderão existir diferenças no aporte nutritivo de um e de outro grupo.

Podemos citar também duas questões técnicas em relação a REPLM, que podem comprometer muitos dos estudos revisados. Uma é a utilização de uma dose ótima única, ao invés de uma curva dose-resposta nas avaliações funcionais, e outra, a ausência de controle para a variabilidade entre os ensaios. O uso de uma dose ótima única numa avaliação por mitógenos pode levar a uma interpretação errônea dos resultados. O que pode ser uma dose ótima para alguns indivíduos, pode ser inadequada ou excessiva para outros. O uso de uma curva de dose-resposta, com pelo menos três pontos, geralmente reduz este risco e é um procedimento recomendado⁴⁴. Outro detalhe técnico em relação aos ensaios é que estes variam de laboratório para laboratório. Por exemplo, alguns utilizam para os ensaios sangue total e outros linfócitos separados por gradiente de Ficoll. Os autores partidários da primeira técnica afirmam que o melhor é avaliar atividade dos linfócitos quando estes estão sendo influenciados pelos fatores humorais que estão presentes no plasma (aminoácidos, fatores de coagulação, hormônios, etc.). Os demais preferem avaliar os linfócitos isoladamente, evitando assim os efeitos dos fatores humorais que alteram a REPLM IN VITRO³⁰. Em relação a tais efeitos, SOMMER (1992) comprovou que os aminoácidos alteram a resposta linfocitária IN VITRO de linfócitos periféricos humanos. Estudos recentes têm demonstrado que mais de 50% nas variações de dados na REPLM é atribuída ao momento da medida⁴⁴. Sabe-se, por exemplo, que a REPLM no mesmo indivíduo pode

variando até 5 vezes em um período de poucas semanas e cerca de 10 vezes em indivíduos diferentes³⁰. Esta pronunciada variabilidade entre os ensaios pode ser controlada somente pelas medidas simultâneas dos pacientes e seus controles, o que não foi realizado na maioria dos estudos. A propósito desta questão sabemos, por exemplo, que o ciclo circadiano pode influenciar os achados e que os linfócitos perdem a viabilidade com o decorrer do tempo após a coleta da amostra. Desta forma, é necessário que a coleta e os ensaios sejam realizados na mesma hora para pacientes e controles. Embora este cuidado não tenha sido tomado na maioria dos estudos com REPLM, ele foi realizado em todos os estudos que mensuraram a ACNK. Em relação à ACNK, a única variação que encontramos é um estudo de MAES et al (1991) que não utilizou a liberação de Cr⁵¹ como nos outros estudos. A mensuração da ACNK por fluorescência por este autor, pode ser considerado um viés na comparação dos dados*¹.

Um dos primeiros trabalhos que usou critérios específicos para diagnóstico e, pareou alguns dos elementos citados acima, foi o de SCHLEIFER et al (1989), que incluiu uma ampla amostra de 91 pacientes pareados por sexo e idade com os controles. Os pacientes foram avaliados no mesmo dia dos controles, e as avaliações imunes funcionais usaram curvas de dose-resposta. Foram incluídos pacientes de ambos os sexos, em tratamento hospitalar e ambulatorial, com Desordem Depressiva Maior avaliados pelo SADS¹¹ e RDC⁴³*², representando uma ampla gama de idade e severidade da doença. Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os pacientes deprimidos e seus controles, no número de linfócitos periféricos, linfócitos T e B, células T4 e T8. A REPLM, para PHA, CON-A e PWM para os pacientes deprimidos foram similares os seus controles. Na ACNK também não foi encontrada diferença.

Entretanto, uma análise mais detalhada revelou uma significativa diferença relacionada à idade entre os pacientes deprimidos e os controles na resposta aos mitógenos e, no número de linfócitos T4. Em contraste ao aumento na REPLM relacionada à idade nos controles, os pacientes deprimidos não apresentaram um aumento da REPLM (PHA e PWM) com relação à idade avançada. De forma similar, diferenças relacionadas à idade

¹A forma mais utilizada para mensurar a ACNK é o ensaio com Cr⁵¹. Os linfócitos de pacientes e controles são separados por gradiente de Ficoll e incubados por 4 horas com células alvo de eritroleucemia (K562) marcadas com cromo radioativo, em placas com poços de fundo em "V". Após o sobrenadante é coletado e levado para contagem em contador gama (WHITESIDE & HERBERMA, 1989).

foram encontradas, entre os grupos, para linfócitos T4. Também a severidade da depressão, relacionada à condição de tratamento hospitalar, foi significativamente associada com supressão da REPLM (Con-A e PHA), independente da idade.

Para melhor atender por que subgrupos de pacientes deprimidos, que apresentam características comportamentais e biológicas específicas, podem apresentar alterações imunes, alguns estudos têm investigado os possíveis mecanismos biológicos subjacentes. Uma das características mais estudadas são as anormalidades neuroendócrinas e as alterações relacionadas ao eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), que podem ocorrer em associação com outras variáveis que caracterizam os pacientes deprimidos, como severidade dos sintomas e idade e, podem explicar aspectos dos achados imunes na depressão. Os corticosteróides possuem importante e complexo efeito sobre o sistema imune e podem suprimir a REPLM e a ACNK, induzindo, ainda, uma redistribuição dos neutrófilos para fora da circulação sanguínea²⁴. Neste trabalho, SCHLEIFER et al (1989) encontraram um aumento do nível de cortisol plasmático em amostras de sangue utilizadas nos ensaios imunológicos e uma tendência ao aumento do cortisol com o aumento da idade nos pacientes deprimidos, mas não nos controles. Estes achados estão de acordo com o de diversos autores que encontraram um aumento nos níveis de cortisol plasmático, urinário e nas respostas ao Teste de Supressão a Dexametasona nos pacientes deprimidos com atividade imune prejudicada, em relação aos seus controles. Entretanto, em relação à idade e gravidade do quadro clínico esta correlação não foi tão importante. Mas devemos considerar que, neste trabalho, foi realizada a análise de apenas uma amostra do nível de cortisol, o que não é sensível o suficiente para avaliar as alterações do eixo HPA que poderiam estar influenciando o sistema imune.

As diferenças relacionadas à idade nas medidas imunes entre deprimidos e controles podem ser relacionadas com outras características dos pacientes deprimidos, que são associadas à idade. A idade de início da depressão pode ser um fator importante de heterogeneidade nas desordens afetivas. É possível que o início tardio ou precoce da depressão esteja associado com disfunções biológicas específicas, que poderiam contribuir para as diferenças relacionadas a idade entre deprimidos e controles. Outras características clínicas também podem ser relacionadas: a duração total da doença depressiva, o número de episódios, a cronicidade dos sintomas e a duração do episódio atual. Também ainda não foi bem esclarecido o quanto o tratamento com antidepressivos possa contribuir para estas alterações. O

estudo IN VITRO do efeito dos antidepressivos na REPLM e ACNK demonstram possuírem estes um efeito inibidor da atividade imune. O estudo com cobaias contraria estes achados e, nos estudos realizados, as concentrações dos fármacos sempre foram maiores do que os níveis séricos empregados no tratamento dos pacientes²⁸.

No estudo realizado por SCHLEIFER et al (1989), foram pouco exploradas as relações entre as características clínicas da DM e os achados no sistema imune. Tais questionamentos são retomados num estudo com uma amostra importante de 53 pacientes com Depressão Maior e unipolares de ANDREOLI et al (1993). Os autores tiveram alguns cuidados metodológicos inexistentes até o momento. Os pacientes foram pareados por sexo e idade. Todos faziam tratamento ambulatorial e foram submetidos à aplicação de uma entrevista estruturada para diagnóstico pela DSM-III-R³ e escalas para depressão, com teste de confiabilidade para os entrevistadores. Além dos critérios de inclusão já citados foram, de exclusão o uso de fármacos, exceto benzodiazepínicos (BDZ), doença física que afetasse a imunidade, diagnóstico de doença bipolar, dependência ou abuso de substâncias psicoativas. Também foi fator de exclusão, a existência de outra doença psiquiátrica no eixo I². Mas os autores não utilizaram nenhuma entrevista estruturada para este diagnóstico, que se fundamentou apenas em dados clínicos. É digno de nota, que nenhum dos trabalhos revisados fez qualquer estudo de patologia em eixo II³ nestes pacientes, ficando dúvidas a propósito da contribuição deste fator para os achados.

Avaliaram também critérios sociodemográficos e hábitos vitais, com o objetivo de determinar o ajustamento social, atividade física, situação profissional, solidão, hábitos de alimentação, sono e consumo recente de fumo e álcool. Também registraram a história de tratamento psicofarmacológico nos últimos 5 anos, a idade de início do primeiro episódio inequívoco de DM, o número total de episódios prévios e hospitalizações psiquiátricas, a duração do mais recente episódio de DM, o número de meses com uso de antidepressivos nos últimos 5 anos, o tempo decorrido desde o uso mais recente de antidepressivos e a duração do episódio atual. A coleta de sangue para as medidas imunes foi realizada ao mesmo tempo para pacientes e controles e, através de citometria de fluxo e anticorpos monoclonais,

²Eixo I, se refere ao diagnóstico psiquiátrico positivo pela DSM-III-R. O DSM-III-R apresenta 5 eixos. Os dois primeiros servem para fins diagnósticos. Por exemplo, um paciente pode apresentar em eixo I Depressão Maior e outro diagnóstico, como Distúrbio do Pânico. E em eixo II Transtorno de Personalidade Dependente.³ O eixo II se refere especificamente ao diagnóstico dos Distúrbios de Personalidade.

determinaram o número de células T (CD3), T4, T8, B (CD19), monócitos (Leu M3), receptor para Interleucina-2 (CD-25), célula NK (CD-16) e células HLADR-ativadas. E como estudo funcional, determinaram a REPLM à Con-A, PHA e PWM.

Encontraram 32 pacientes deprimidos que faziam uso de BDZ. E que os pacientes eram mais sozinhos, usavam mais álcool e tabaco. Também encontraram que, apesar dos pacientes morarem mais próximo aos centros urbanos, tinham maior taxa de desemprego e situação profissional inferior aos controles. A atividade física dos pacientes era menor do que nos controles. A idade de início do primeiro episódio foi de 31 anos e 55% pacientes não tinham história de episódio prévio de DM. Do total destes, 76% nunca haviam recebido antidepressivo e 87% nunca haviam se hospitalizado em unidade psiquiátrica. O episódio atual era menor que 3 meses em 70% dos pacientes e 82% dos que tinham episódio prévio, recaíram em menos de um ano do último quadro de DM. A única diferença entre os pacientes com DM e o grupo controle é que o número de CNK apresentava uma tendência a ser menor nos pacientes com DM. Este achado não era obscurecido e nem dependente de nenhuma outra variável. As contagens das outras células eram iguais nos dois grupos. Também não existiam diferenças quanto a REPLM. Da mesma forma que SCHLEIFER et al (1989), ainda que não para os mesmos mitógenos, encontram uma correlação negativa entre a idade e REPLM (PHA e Con-A). Esta mesma correlação foi observada em relação ao número absoluto de linfócitos, células B e células com ativação DR+. Os achados relativos a idade não se reproduziram nos controles. Tal reprodução de achados, faz pensar que a idade seja um mediador significativo das interações psiconeuroimunológicas na depressão. Em relação ao curso clínico da depressão, existiu uma correlação negativa independente, entre a duração do último episódio de DM e a REPLM a todos os 3 mitógenos. E uma significativa correlação negativa, entre a REPLM à Con-A com história de hospitalizações psiquiátricas e à PHA com a duração total dos tratamentos anteriores com antidepressivos durante os últimos 5 anos. Em relação ao uso prévio de antidepressivo, também ocorreu uma significativa correlação negativa em relação ao número das células T e CNK. O tempo que decorreu do último período de uso anterior de antidepressivos estava inversamente correlacionado com o número total de linfócitos, o número de células T e CNK. Observaram, ainda, uma correlação negativa independente entre o número de CNK e a duração total do último período de uso de antidepressivos nos últimos 5 anos. A severidade do episódio atual tinha relação apenas com um efeito negativo independente no número de CNK, o que faz pensar que a du-

ração e frequência de episódios depressivos maiores e o tratamento prévio com antidepressivos, possuem uma importância nas relações psiconeuroimunológicas de DM. Cabe ressaltar, que não encontraram nenhuma alteração nos dados relativos a ajustamento social, atividade física, uso de tabaco, álcool e BDZ.

Em relação ao uso de BDZ os achados estão de acordo com o de outros autores²⁵. Já em relação à atividade física, uso de tabaco e álcool, existem estudos específicos demonstrando sua influência na imunidade^{13,16,41}.

Os estudos iniciais não valorizaram a importância do curso e das diferentes formas da doença depressiva. Tal fato, deve ser considerado nas próximas investigações, pois torna-se cada vez mais forte a hipótese de que uma análise das características da DM, como os aspectos longitudinais e as diferentes formas sintomatológicas de apresentação, podem permitir identificar subtipos de depressão com características clínicas e biológicas distintas. Também deveria ser considerado que esta análise longitudinal fosse feita prospectivamente, e não retrospectivamente, de forma que dados sobre variação dos sintomas depressivos, uso de psicofármacos e aspectos clínicos de cada paciente comparadas com as medidas do sistema imune fossem mais fidedignas e acompanhadas com maior detalhamento. Porém tais estudos suscitariam uma estrutura logística digna de nota, além do tempo de dedicação e importantes recursos financeiros. E provavelmente por estes motivos ainda não foram realizados.

CONCLUSÕES:

São vários os motivos que suscitaram a realização de pesquisas tentando investigar a relação entre depressão e sistema imune. Uma delas, é o papel do sistema imune na manutenção da saúde e o desenvolvimento de doenças físicas. Outra diz respeito às desordens do sistema imune que afetam a atividade do Sistema Nervoso Central (SNC). Estão aqui incluídos, processos virais e auto-ímmunes associados com doenças neuropsiquiátricas e doenças sistêmicas, incluindo a esclerose múltipla, lúpus eritematoso sistêmico e SIDA. As doenças psiquiátricas, incluindo a depressão e a esquizofrenia, também podem ser entendidas a partir de uma referência neuroimunológica. Infecções virais e desordens auto-ímmunes do cérebro há muito têm sido consideradas na patogênese destas desordens, apesar de ainda não existirem evidências consistentes. Uma outra questão, se refere

às interações neuro-imunes. Várias evidências indicam uma interação recíproca entre SNC e Sistema Imune (SI)²⁷. Sendo que ainda serão necessárias muito mais pesquisas básicas para definir este intrincado relacionamento e determinar as possíveis aplicações para desordens clínicas, tais como a depressão. Temos também uma outra aplicação das interações neuro-imunes, que é o uso de células do SI como modelo de alterações no SNC nas desordens psiquiátricas. Ao contrário dos neurônios, elas são facilmente obtidas no sangue periférico e apresentam receptores para muitos hormônios e neurotransmissores, incluindo glicocorticóides e catecolaminas. As células do SI podem ser um modelo útil para identificar indivíduos com anormalidades em receptores, bem como explorar os mecanismos moleculares e bioquímicos que podem estar envolvidos.

Como observamos através da análise dos estudos revisados, ainda não é possível se fazer conclusões definitivas a respeito das relações entre a depressão e SI. Porém, as pesquisas básicas relacionadas com o cérebro, comportamento e SI oferecem uma excitante oportunidade para aumentar os nossos conhecimentos em neurobiologia e imunologia, proporcionando fundamentos para futuros estudos de questões clínicas relevantes.

SUMMARY:

The authors approach the present state of researchs related to changes in the immune parameters in depression, reviewing and considering the methodological and conceptual questions involved in the investigations of depressive disorders and its relation with the immune system.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- 1 - ALBRECHT, J. et al. A Controlled Study of Cellular Immune Function in Affective Disorders Before and during Somatic Therapy. *Psychiatry Res*, v.15, p.185-193, 1985.
- 2 - ALTSHULER, L.L. et al. Lymphocyte Function In Major Depression. *Acta Psychiatry Scan.*, v.80, p.132-136, 1989.
- 3 - AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION TASK FORCE ON NOMENCLATURE AND STATISTICS; DIAGNOSTIC AND STATISTICAL MANUAL OF MENTAL DISORDERS. 3th ed. - Revised. Washington, American Psychiatric Association, 1987.
- 4 - ANDREOLI, A.V. et al. Depression and Immunity: Age, Severity and Clinical Course. *Brain, Behavior and Immunity*, v.7, p.279-292. 1993.
- 5 - CALABRESE, J.R. et al. Depression, Immunocompetence and Prostaglandins of The E Series. *Psychiatry Res.*, v.17, p.41-47, 1986.
- 6 - CAPPEL, R; GREGOIRE, F.; THIRY, L. Antibody and Cell-Mediated Immunity to Herpes Simplex Virus in Psychotic Depression. *Journal Clin. Psychiatry*, v.39, p.266-268, 1978.

- 7 - DARKO, D.F et al. Cellular Immunity and The Hypothalamic-Pituitary Axis in Major Affective Disorder: A Preliminary Study. **Psychiatry Res**, v.25,p.1-9, 1988.
- 8 - DARKO, D.F. et al. Mitogen-Stimulated Lymphocyte Proliferation and Pituitary Hormones in Major Depression. **Biol. Psychiatry**, v.26,p.145-155, 1989.
- 9 - DEKARIS, D. et al. Multiple Changes of Immunologic Parameters in Prisoners of War. **JAMA**, v.270,p.595-599, 1993.
- 10 - ELLIOT, G.R., EISDORFER, C. Stress and Human Health. New York, Springer Publishing, 1982.
- 11 - ENDICOTT, J., SPITZER, R.L. A Diagnostic Interview: The Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia. **Arch Gen Psychiatry**, v. 35, p. 837-844, 1978.
- 12 - EVANS, D.L. et al. Circulating Natural Killer Cell Phenotypes in Men and Women With Major Depression. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 49, p.388-395, 1992.
- 13 - FERSON, M. et al. Low Natural Killer-Cell Activity and Immunoglobulin Levels Associated with Smoking in Human Subjects. **Int. J. Cancer**, v.23, p. 603-609, 1979.
- 14 - FISCHLER, B. et al. Major Depressive Disorder, Endogeneity and Natural Killer Cell Numbers and Activity. **Intern. J. Neuroscience**, v.5, p. 357-358, 1990.
- 15 - IRWIN, M., SMITH, T., GILLIN, C. Low Natural Killer Cell Activity in Major Depression. **Life Sciences**, v. 41, p. 2127-2133, 1987.
- 16 - IRWIN, M. et al. Major Depressive Disorder, Alcoholism and Reduced Natural Killer Cell Cytotoxicity. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.47,p.713-718, 1990.
- 17 - IRWIN, M. et al. Reduction of Immune Function In Life Stress and Depression. **Biol. Psychiatry**, v.27,p.22-30, 1990.
- 18 - KIECOLT-GLASER, J.K., GLASER, R. Stress and Immune Function in Humans. IN: ADER, R. et al. **Psychoneuroimmunology**. 2nded., San Diego: Academic Press, 1991.p.849-867.
- 19 - KRONFOL, Z. et al. Lymphocyte Function in Melancholia **Life Sci**,v.33,p.241-247, 1983.
- 20 - KRONFOL, Z. et al. Depression, Cortisol Metabolism and Lymphocytopenia. **Journal of Affective Disorder**,v.9,p. 169-173, 1985.
- 21 - KRONFOL, Z. et al. Depression, Urinary Free Cortisol Secretion and Lymphocyte Function. **Br. J. Psychiatry**,v.148,p. 70-73, 1986.
- 22 - KRONFOL, Z. et al. Lymphocyte Mitogenesis, Immunoglobulin and Complement Levels in Depression Patients and Normal Control. **Acta Psychiatry Scan**.v.80,p.142-147. 1989.
- 23 - KRONFOL, Z. et al. Natural Killer Cell Activity in Depressive Illness: Preliminary Report. **Biol. Psychiatry**.v.26,p. 753-756, 1989.
- 24 - LOWI, M.T. et al. Immune Function, Glucocorticoid Receptor Regulation, and Depression. IN: MILLER, A.H. et al. Depressive Disorder & Immunity. **Progress in Psychiatry**, Washington: American Psychiatric, 1989. p. 105-133.
- 25 - MAES, M. et al. A Study on the Blunted Natural Killer Cell Activity in Severely Depressed Patients. **Life Sciences**, v.50,p. 505-513, 1991.
- 26 - McCRUDEN, A.B., STIMSON, W.H. Sex Hormones and Immune Function. IN: ADER, R. et al. **Psychoneuroimmunology**. 2nded., San Diego: Academic Press, 1991.p.475-493.
- 27 - MILLER, A.H., NORIN, A.J. Neural-Immune Interactions. IN: MILLER, A.H. et al. Depressive Disorders & Immunity. **Progr. In Psychiatry**, Washington: American Psychiatric, 1989.p.23-49.
- 28 - MILLER, A.H., LACKNER, C. Tricyclic Antidepressants and Immunity. IN: MILLER, A.H. et al. Depressive Disorders & Immunity. **Progress in Psychiatry**, Washington: American Psychiatric, 1989.p.85-103.
- 29 - MOHL, P.C. et al. Natural Killer Cell Activity In Major Depression. **Am. J. Psychiatry**. v. 144, p.16-19, 1987.
- 30 - NELSON, D., GATTI, R. Humoral Factor Influencing Lymphocyte Transformation. **Prog. Allergy**,v.21,p.261-341, 1976.

- 31 - NEROZZI, D. et al. Reduced Natural Killer Cell Activity in Major Depression: Neuroendocrine Implications. **Psychoneuroendocrinology**, v.14, p.295-301, 1979.
- 32 - O'NEIL, B., LEONARD, B.E. Abnormal Zymosan-induced Neutrophil Chemiluminescence as a Marker of Depression. **Journal of Affective Disorders**, v. 19, p.265-272, 1990.
- 33 - OYEINKA, G.O. Age and Sex Differences in Immunocompetence. **Geront.**, v.30, p. 188-195, 1984.
- 34 - RAHE, R.H. et al. The Epidemiology of Illness in Naval Environments: Illness Type, Distribution, Severities, and Relationship to Life Change. **Military Medicine**, v.135, n.6, p. 443-452, 1970.
- 35 - RODRIGUEZ, L. **Estudos da Modulação da Atividade Natural Killer**. Rio de Janeiro: Instituto de Biologia da Universidade Estadual do Rio de Janeiro. Dezembro de 1987. 117p. (Tese de Mestrado)
- 36 - SCHLEIFER, S.J. et al. Lymphocyte Function in Major Depressive Disorder. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.41, p.484-486, 1984.
- 37 - SCHLEIFER, S.J. et al. Depression and Immunity: Lymphocyte stimulation in Ambulatory Depressed Patients, Hospitalized Schizophrenic Patients, and Patients Hospitalized for Hemiorrhaphy. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.42, p. 129-133, 1985.
- 38 - SCHLEIFER, S.J. et al. Major Depressive Disorder and Immunity: Role of Age, Sex, Severity, and Hospitalization. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.46, p.81-87, 1989.
- 39 - SENGAR, D.P.S. et al. Lymphocyte subpopulations and Mitogenic Responses of Lymphocytes in Manic-Depressive Disorders. **Biol. Psychiatry**, v.17, p. 1017-1022, 1982.
- 40 - SHEKELLE, R.B. et al. Psychological Depression and 17-Years Risk of Death From Cancer. **Psychosom. Med.**, v.43, p.117-125, 1981.
- 41 - SIMON, H.B. Exercise and Human Immune Function. IN: ADER, R. et al. **Psychoneuroimmunology**, 2ª ed., San Diego: Academic Press, 1991, p.869-895.
- 42 - SOMMER, R. **Efeito de Aminoácidos sobre a Resposta Linfocitária IN VITRO de Linfócitos Periféricos Humanos Estimulados por Fitohemaglutina. Concanavalina-A e Pokeweed Mitogênico**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1992. (Tese de Mestrado)
- 43 - SPITZER, R.L.; ENDICOTT, J., ROBINS, E. Research Diagnostic Criteria: Rationale and Reliability. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.35, p. 837-844, 1978.
- 44 - STEIN, M., MILLER, A., TRESTMAM, R. Depression, the Immune System, and Health and Illness. **Arch Gen. Psychiatry**, v.48, p.171-177, 1991.
- 45 - SYVALAHTI, E. et al. Nonsuppression of Cortisol in Depression and Immune Function. **Prog. Neuropsychopharmacology Biol. Psychiatry**, v.9, p.413-422, 1985.
- 46 - URCH, A. et al. Lytic Effector cell Function in Schizophrenia and Depression. **J. Neuroimmunol.**, v.18, p.291-301, 1988.
- 47 - WHITESIDE, T., HERBERMAN, R.B. The Role of Natural Killer Cells in Human Disease. **Clinical Immunology and Immunopathology**, v.53, p. 1-23, 1989.
- 48 - WILSON, S.N. et al. Unusual Lymphocyte Subset Distribution in Some Depressed Patients. **J. Clin. Psychiatry**, v.51, p.2, 1990.
- 49 - ZONDERMAN, A.B., COSTA, P.T. Jr., McCRAE, R.R. Depression as a Risk for Cancer Morbidity and Mortality in a Nationally Representative Sample. **JAMA**, p. 1191-1195, 1989.

IV

Utilizamos os questionários SAAD e ADS para quantificar o grau de severidade de dependência alcoólica nos pacientes CAGE positivos, que também foram avaliados por uma entrevista semi-estruturada e por avaliação laboratorial.

Observamos que os marcadores biológicos não foram sensíveis para discriminar severidade de dependência alcoólica. Demonstramos, no entanto, a validade de uma ANAMNESE orientada para detectar a severidade da síndrome de dependência alcoólica, pois se mostrou capaz de apreciar o impacto do abuso de álcool em vários aspectos de vida dos indivíduos, bem, como quantificar o consumo de álcool da amostra.

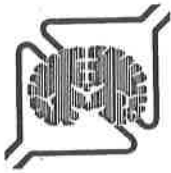
Atividade do sistema imune e alterações do eixo hipotalâmico hipofisiário adrenal em pacientes com depressão maior

GISLAINE SPEGGIORIN DE OLIVEIRA
Médica Residente de Psiquiatria — HSL-PUCRS

GABRIEL J. C. GAUER
Professor do Departamento de Psiquiatria — FAMED-PUCRS

Diversos autores de diferentes centros de pesquisa realizaram estudos demonstrando alterações da imunocompetência em pacientes com Depressão Maior (DSM-III-R). Ainda que esta seja uma área de intensa controvérsia, muitos modelos foram propostos para explicar estas alterações. Um destes modelos é baseado em disfunções do eixo HPA. Com o objetivo de contribuir para uma melhor compreensão do assunto, foi realizado o ensaio de atividade das células *Natural Killer* e verificado o nível de cortisol sérico em 15 pacientes portadores de Depressão Maior. Os pacientes foram divididos em dois grupos. Um com atividade NK menor que 10 ($n = 10$) e outro maior que 10 ($N = 5$). Ainda que o grupo com atividade NK menor tenha apresentado níveis de cortisol maiores (média = 20,6) que os com atividade NK maior (média = 16,1) — a análise estatística destes valores demonstrou que esta diferença não era significativa ($p = 0,56$). Como na literatura encontramos trabalhos demonstrando uma relação entre estas variáveis e outros não, concluímos que novos estudos com amostras maiores, comparando os deprimidos com controles e métodos laboratoriais mais específicos serão necessários para uma conclusão definitiva.

V



Preger, J.*
Gauer, G.C.**
Von Mühlen, C.A.***

- * Médico pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- ** Professor auxiliar de Psiquiatria e aluno do Curso de Pós-Graduação em Medicina a nível de Doutorado da PUCRS.
- *** Professor Adjunto de Medicina Interna e Reumatologia e do Curso de Pós-Graduação em Medicina da PUCRS.

Trabalho apresentado como Tema Livre na XVII Jornada Sul-Riograndense de Psiquiatria Dinâmica.

Sistema Neuroendócrino e Atividade Imune no Estresse e na Depressão

Unitermos

Psiconeuroimunologia
Neuropeptídeos
Resposta imunológica
Sistema nervoso central
Comportamento

Resumo

Na década de 80 se intensificaram as pesquisas que investigam as influências recíprocas entre os sistemas psíquico, neuroendócrino e imunológico. A depressão e o estresse induzem a síntese e liberação de neuropeptídeos e hormônios que têm por função reduzir os efeitos deletérios de determinados fatores ambientais. O CRH (hormônio de liberação da corticotrofina) aparece, neste contexto, como um importante mediador das respostas fisiológicas e comportamentais aos estímulos estressores. Este neuropeptídeo, produzido em diversos sítios do SNC (sistema nervoso central), possui efeito tanto a nível central como periférico, através da ativação de múltiplos sistemas corporais. Dentre os mais importantes estão o eixo HPA (hipotálamo-pituitário-adrenal), com a resultante produção de β -endorfina e cortisol, e das vias cerebrais noradrenérgicas, pelo estímulo direto no locus coeruleus. Por sua vez, os opióides endógenos, corticóides e catecolaminas exercem ação direta nos linfócitos, pela ligação a receptores específicos. Os autores fazem uma revisão dos mecanismos e interações envolvidas entre estes sistemas.

Introdução

Os estudos que sintetizam e integram os conhecimentos cada vez mais se destacam no panorama científico atual. A prática interdisciplinar tornou-se necessária à medida que foi se impondo diante do volume de dados acumulados nas últimas décadas. É que o aumento do saber científico, apesar de nos dar acesso a uma grande quantidade de novas informações, propiciaram na verdade, mais dúvidas que respostas. Dentro deste quadro, surgiu a psicoimunologia, que relaciona conhecimentos da neuroendocrinologia, do sistema imune e do psiquis-

mo. Há muito tempo, existiam teorias à propósito da relação destes sistemas, mas somente na década de 80 é que se intensificaram as pesquisas nesta área. Os resultados delas proporcionaram suporte para a confirmação de antigos conhecimentos e lançaram novas hipóteses sobre a fisiologia, psicopatologia e comportamento humanos. O presente trabalho tem como objeto de estudo a revisão das recentes descobertas e do conhecimento atual de como os neuropeptídeos e o eixo hipotálamo-pituitário-adrenal (HPA) e o sistema nervoso autônomo (SNA) influenciam a imunidade em estados depressivos e de estresse.

O Eixo Hipotálamo-Pituitário-Adrenal (HPA)

O hipotálamo é considerado como braço eferente do cérebro. Ele integra informações corticais, do sistema límbico, da formação reticular e de receptores periféricos, respondendo com ajustes em importantes funções como a atividade simpática e endócrina, com o objetivo de regular o meio corporal interno. Por definição, o estresse físico ou psíquico diz respeito às respostas a estímulos externos que venham a alterar este equilíbrio interno, seja um estímulo térmico, tátil, elétrico, emocional, ou de outra natureza. Na realidade, nosso organismo está constantemente exposto a vários estressores, devido a enorme variação de estímulos a que estamos sujeitos a todo o instante. Ela trabalha constantemente para manter

a sua homeostase, que é, portanto, dinâmica. E, na prática, denominamos estresse somente as respostas do organismo aos estímulos ou situações que requerem maiores mobilizações dos sistemas corporais ou que, inclusive, podem colocar a vida do indivíduo em risco⁽¹⁾.

Sabe-se que no núcleo paraventricular do hipotálamo, é produzido o hormônio de liberação da corticotrofina (CRH)², tanto em ritmo basal como circadiano, em resposta a situação de estresse. Este hormônio é liberado no sistema porta hipotálamo-hipofisiário, onde, através da ligação a receptores específicos, promove a síntese e liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), o qual, através da circulação sistêmica, atinge as glândulas adrenais, onde estimula a produção de glicocorticóides. O sistema de retroalimentação negativa se completa pela

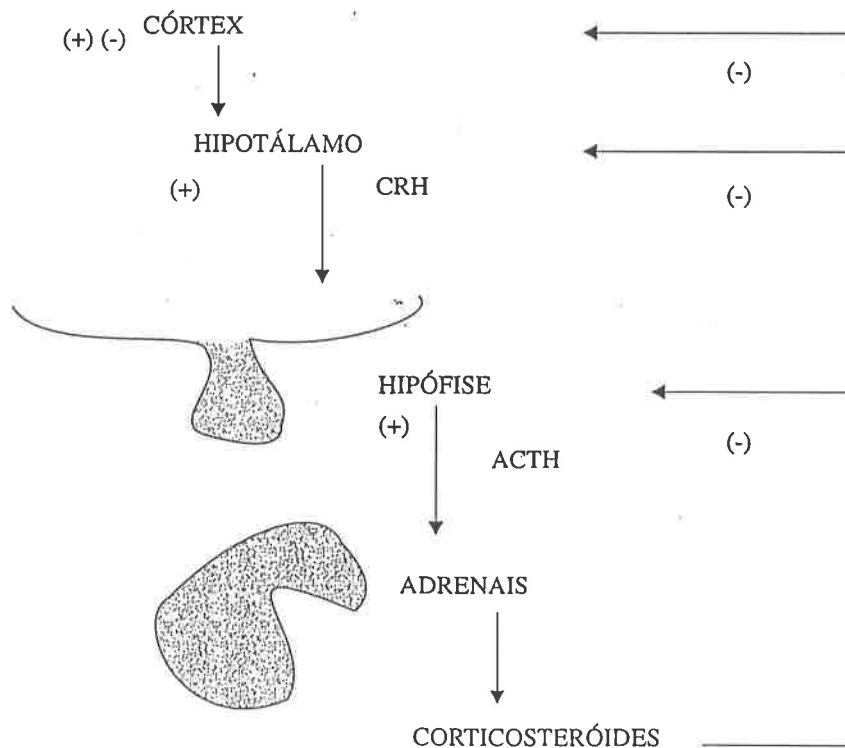


Figura 1

A figura ilustra o funcionamento do eixo HPA. O fator liberador da corticotrofina (CRH) atua na hipófise e induz a liberação sistêmica do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Este, por sua vez, estimula a porção cortical das supra-renais a produzirem corticosteróides. Os corticosteróides, através da circulação sistêmica, chegam ao hipotálamo e à hipófise e se ligam aos receptores inibitórios, realizando retro-alimentação ("feed back") negativa.

² Neste trabalho optamos por utilizar as siglas de acordo com sua descrição nos textos de língua inglesa, por serem estas já consagradas na literatura, inclusive sendo utilizadas nas traduções para a língua portuguesa em livros-textos conhecidos (GOODMAN, 1991; GUYTON, 1992).

existência de receptores específicos para a glicocorticóides nas instâncias superiores do eixo (Figura 1). O CRH também promove a síntese e liberação da β -endorfina pois esta origina-se do mesmo peptídeo precursor do ACTH, a proopiomelanocortina (POMC) e, como veremos mais adiante, este opióide endógeno também influencia a função imune. O principal glicocorticóide nos homens e nos macacos é cortisol e nos ratos é a corticosterona. Estes hormônios desempenham função essencial na regulação dos sistemas metabólicos relacionados à utilização de proteínas, carboidratos e gorduras, principalmente em situação de estresse, durante as quais sua falta pode levar o indivíduo à morte. Situações de estresse agudo podem aumentar em até 20 vezes a síntese e secreção de glicocorticóides e no estresse crônico pode ocorrer aumento de até 50% no volume das glândulas suprenais. Neste caso, as influências corticolímbicas ativadoras do eixo HPA superam a retroalimentação negativa.

O sistema límbico cada vez mais tem sido considerado como tendo uma importante relação com eixo HPA. Sabe-se, por exemplo, que ele pode não só estimular o eixo HPA, como é o principal mediador de sua inibição, além de influenciar na regulação do ritmo circadiano. O sistema límbico é o principal promotor da adaptação do organismo ao ambiente externo, na medida em que modula as respostas ao estímulos de acordo com experiências passadas e adequação à situação atual, avaliando seu significado emocional. Devido à função do sistema límbico na regulação da síntese do CRH, já foi proposta a denominação de eixo LHPA, isto é, límbico-hipotálamo-pituitário-adrenal⁽²⁾.

Em relação ao eixo HPA é também importante salientar que descobertas recentes demonstraram que várias substâncias produzidas nos órgãos e células linfóides podem estimular a produção de glicocorticóides. Entre elas estão a interleucina-1 (IL-1), a timosina fração 5 e o fator de liberação de glicocorticóides. Estas substâncias produzidas, pelos linfócitos agem tanto a nível hipotalâmico quanto pituitário, sendo que a interleucina-1 também age a nível adrenal^(1,3,4).

Mecanismos e Sistemas Envolvidos nas Alterações Imunológicas do Estresse e da Depressão

Diversas pesquisas têm apontado para uma relação entre estresse, depressão, luto e conflitos conjugais e

alterações específicas no sistema imune. Alguns destes estudos sugerem que subgrupos de pacientes deprimidos estariam mais sujeitos a essas alterações^(3,5). Em relação ao estresse, estudos em ratos demonstram que dependendo do tipo de estímulo estressor, da posição social dentro da colônia (submissão x domínio)^(6,7,8), da cronicidade do estímulo, do intervalo de tempo entre o estímulo e a exposição ao agente infeccioso, e da espécie, pode haver redução, aumento, ou nenhuma alteração na atividade imune^(9,10,11). Ratos submetidos a eletrochoque nos pés, mas que têm a possibilidade de interromper o estímulo doloroso, não apresentam diminuição da sua atividade imune, comparados a ratos que não podem interromper ou escapar do choque⁽¹²⁾. Inclusive quando comparado aos ratos controles, aqueles que podem controlar o estressor apresentam melhor desempenho das suas respostas imunológicas⁽¹³⁾. A presença de um estímulo de aviso que preceda o choque protege os animais do prejuízo na atividade imune, o que demonstra a importância da possibilidade de poder prever o acontecimento⁽¹⁴⁾. Estudos em seres humanos têm confirmado a hipótese de que o prejuízo na atividade imune está mais relacionado com a capacidade de lidar com situações adversas do que com o estresse por si próprio⁽¹³⁾. O sistema imunológico hoje é visto como um sistema altamente organizado, com uma complexa rede de comunicação interna e capacidade de comunicação bidirecional com outros sistemas orgânicos. Recebe estímulos através de receptores específicos para hormônios (somatostatina, glicocorticóides, prolactina, hormônio do crescimento, esteróides sexuais), neuropeptídeos (endorfinas, encefalinas, peptídeo intestinal vasoativo e substância P) e neurotransmissores (catecolaminas, serotonina, acetilcolina) e envia estímulos, produzindo algumas destas mesmas substâncias (ACTH, CRH, endorfinas, prolactina, peptídeo intestinal vasoativo, somatostatina, hormônio do crescimento, hormônio estimulador da tireóide e gonadotrofina coriônica humana), bem como substâncias próprias (interleucinas, fator de necrose tumoral, interferons). Devido a esta complexa produção de substâncias, o sistema imune tem sido definido como um órgão neuroendócrino^(1,15). A seguir iremos abordar o papel dos glicocorticóides, eixo HPA, SNA e CRH com mediadores das alterações no sistema imunológico.

Glicocorticóides, Eixo HPA e Atividade do Sistema Imune

Os glicocorticóides foram considerados por muito tempo os responsáveis pelo prejuízo na atividade imune

encontrado em pacientes depressivos ou em situações de estresse. Estes hormônios são potentes inibidores de diversas etapas dos processos inflamatórios e da resposta imune, já sendo consagrada sua utilidade clínica como imunossuppressores^(16,17). Também foi demonstrado o efeito supressor dos glicocorticóides sobre a atividade "Natural Killer" (NK)³, o que é confirmado tanto por estudos *in vitro*^(18,19) como *in vivo*^(18,19). Entretanto, como descrevemos a seguir, estudos mais recentes têm questionado estas propriedades dos glicocorticóides e apontado os possíveis mecanismos realmente responsáveis.

Ratos que receberam estímulos estressores agudos (choques e estímulos auditivos) podem não apresentar redução da atividade NK, mesmo com a ativação do eixo HPA. Quando expostos cronicamente a estes mesmos estímulos, ocorre redução da atividade NK mesmo em animais adrenalectomizados e/ou hipofisectomizados, sendo que apenas a linfopenia induzida pelo estresse é HPA dependente^(20,21,22). Estudos clínicos têm demonstrado dissociação entre imunidade e atividade adrenocortical. Por exemplo, alguns dos estudos com pacientes deprimidos encontraram redução da resposta à estimulação da proliferação linfocitária aos mitógenos⁴, sendo que está associada a níveis altos de excreção de cortisol livre na urina e nem aos resultados do teste de supressão da dexametasona (TSD)^(23,24). Também foi demonstrado que pacientes enlutados, nos quais a atividade NK estava reduzida, os níveis plasmáticos de cortisol apresentavam-se normais⁽²⁵⁾. Realmente, seria uma contradição biológica muito grande que um hormônio essencial para o organismo, principalmente durante o estresse, provocasse uma queda da imunidade. Não adiantaria toda uma mobilização metabólica em diversos sistemas corporais se o organismo ficasse mais suscetível a infecções. Permanece então o questionamento: como explicar a lacuna dos glicocorticóides em suprimir a imunidade, já que seus efeitos imunossuppressores são consagrados? E outro questionamento: não sendo os glicocorticóides, qual seria então o mecanismo responsável? A resposta à primeira pergunta é que, em situações fisiológicas, mesmo quando os glicocorticóides são produzidos em grande quantidade, como no estresse e na depressão, o eixo HPA funciona como um todo e outras substâncias, CRH, ACTH e β -endorfina, liberadas nas etapas de avaliação do eixo compensam os efeitos imunossuppressores dos

glicocorticóides. Existem receptores específicos para o CRH nos monócitos que quando estimulados *in vitro* promovem a produção de interferon e este estimula as células B que também podem sintetizar β -endorfina⁽²⁶⁾. O ACTH em doses fisiológicas potencializa, *in vitro*, os efeitos imunoestimuladores do interferon e da interleucina 2 sobre a atividade NK, além de minimizar os efeitos imunossuppressivos do cortisol, papel também desempenhado pela β -endorfina que, ao mesmo tempo, pode estimular diretamente os linfócitos através de receptores específicos^(27,28,29,30,31,32). Alguns estudos referem que a β -endorfina apresenta uma atividade imunossupressora em doses muito elevadas^(33,34), tendo sido demonstrado que a atividade deste peptídeo é na realidade dose-dependente^(27,35).

Os glicocorticóides teriam então, em relação ao sistema imunológico, um papel fisiológico de regulador, principalmente em períodos de estresse nos quais uma estimulação excessiva da imunidade causaria danos ao organismo. A produção de substâncias estimuladoras da síntese de glicocorticóides pelos imunócitos reforça esta hipótese. Isto pode ser entendido quando numa situação em que há excesso de atividade do sistema, ele próprio se auto-regula negativamente pela indução da produção de glicocorticóides. Vários estudos reforçam esta teoria. Foi demonstrado que a injeção de antígenos em ratos e macacos provocam um pico na secreção de corticosterona próximo ao pico da resposta imunológica, pelo sexto dia após a aplicação^(36,37). Na encefalomielite aguda induzida pela injeção de proteína mielínica em ratos, a corticosterona desempenha papel fundamental na cura espontânea, ao limitar o processo de agressão auto-imune. A cura espontânea não ocorre em animais adrenalectomizados⁽³⁸⁾. Sintomas de tireoidite auto-imune ocorrem em alguns casos após a adrenalectomia em mulheres com Síndrome de Cushing por adenoma adrenal. Ratos com defeito na produção de CRH (ratos Lewis) e com consequente hipoatividade do eixo HPA, apresentam maior suscetibilidade à artrite induzida por antígeno estreptocócicos⁽¹⁵⁾.

Uma outra possibilidade para explicar a dissociação entre aumento na atividade do eixo HPA e prejuízo da atividade imune em pacientes deprimidos se refere à hipótese da resistência aos glicocorticóides. Nos deprimidos com hipercortisolemia parece haver uma diminui-

3 As células "Natural Killer" são um grupo de linfócitos de origem desconhecida (não T e não B), pertencentes ao sistema imune inato, funcionando como a primeira linha de defesa contra células tumorais e alguns tipos de vírus, e a mensuração da sua atividade é um dos parâmetros que tem sido amplamente utilizado para avaliar a função do sistema imunológico.

4 Outro parâmetro amplamente utilizado para avaliar o funcionamento do sistema imunológico é a resposta proliferativa dos linfócitos ao estímulo com agentes indutores da mitose como a concanavalina e a fitohemaglutinina.

ção do número e da sensibilidade dos receptores de glicocorticóides, com conseqüente prejuízo na retroalimentação ("feed-back") negativa e ausência de efeitos sistêmicos característicos de situações onde há hipercortisolemia, como na síndrome de Cushing. Dentre estes efeitos sistêmicos estaria a sua falta de ação sobre o sistema imunológico^(3,39).

Sistema Nervoso Autônomo e Atividade do Sistema Imune

Não sendo o eixo HPA, qual seria o sistema responsável pela diminuição da atividade imunológica durante o estresse e a depressão? Uma série de estudos sugere a participação do SNA nas alterações imunológicas, através da cadeia simpática. Esta, similarmente ao eixo HPA, revela-se essencial ao organismo principalmente em momentos ou períodos nos quais são exigidas reações intensas e imediatas, isto é, quando está em jogo sobrevivência. O sistema nervoso simpático prepara o organismo para a luta, fuga ou outras situações emergenciais, ao aumentar o inotropismo e cronotropismo cardíacos, direcionar o aporte sanguíneo ao SNC, coração e musculatura esquelética e aumentar a disponibilidade de suprimento energético às células.

Estudos anatômicos revelam a presença externa de fibras nervosas autonômicas simpáticas nos órgãos linfóides de primeiro e segundo grau^(40,41). Técnicas imunohistoquímicas demonstram que estas fibras chegam aos órgãos linfóides, como o baço, junto com a rede vascular, penetrando no parênquima, na área onde se localizam os linfócitos⁽⁴¹⁾. Através de microscopia eletrônica, demonstrou-se que as terminações nervosas noradrenérgicas entram em contato sináptico com células T⁽⁴²⁾. A estimulação do nervo esplênico provoca a liberação de noradrenalina⁽⁴³⁾. No baço de ratos, a concentração de noradrenalina é cem vezes superior à concentração na corrente sanguínea⁽⁴⁴⁾. Os linfócitos possuem receptores de membrana para adrenalina, noradrenalina e dopamina^(45,46,47,48). A incubação de linfócitos com adrenalina e noradrenalina reduz a atividade NK, efeito que pode ser evitado através da pré-incubação com beta-bloqueadores^(49,50). Foi proposto também que as catecolaminas inibem diretamente a atuação dos monócitos e macrófagos diminuindo sua função fagocitária e de apresentação antigênica aos linfócitos⁽⁵¹⁾.

A liberação CRH em locais extra-hipotalâmicos, em resposta ao estresse, aumenta a reciclagem ("turn-over") de noradrenalina no locus coeruleus (LC)^(52,53).

Este é um dos principais centros noradrenérgicos cerebrais e possui reatividade aos CRH, projetando terminações nervosas para todo o SNC e cadeia simpática periférica⁽⁵⁴⁾. A aplicação intracisternal de CRH aumenta o disparo de neurônios do LC, nos corpos celulares noradrenérgicos A6, com conseqüente liberação plasmática de catecolaminas e liberação esplênica de noradrenalina^(55,56). Estes dados em conjunto demonstram a existência de uma ligação anatômica e funcional entre o SNA e o sistema imune.

Temos ainda alguns estudos *in vivo* utilizando a clorisondamina (bloqueador ganglionar periférico) que comprovam a hipótese desta estreita relação entre o SNA e o sistema imune. Normalmente a simulação de estresse, através da administração intra-cérebro-ventricular (ICV) de CRH em ratos, produz um aumento dos níveis plasmáticos de adrenalina e noradrenalina, bem como liberação esplênica de noradrenalina, via LC e fibras simpáticas, causando redução da atividade NK⁽⁵⁷⁾. O pré-tratamento com a clorisondamina inibe a liberação esplênica de noradrenalina, protegendo o animal de redução na atividade NK. É importante ressaltar que este bloqueador ganglionar não possui uma ação direta que diminua significativamente a atividade NK⁽²⁵⁾. Como a administração ICV de CRH também provoca ativação do eixo HPA, outro estudo foi efetuado para isolar as influências do SNA e eixo HPA sobre a citotoxicidade esplênica. Ratos receberam administração IVC de CRH, com ou sem pré-tratamento de clorisondamina. Esta droga não interfere na produção e ação do ACTH e glicocorticóides. Verificou-se que ocorreu uma redução da atividade NK somente no grupo não tratado, apesar de ambos os grupos mostrarem aumento significativo dos níveis plasmáticos de corticosterona. O mesmo autor demonstrou também que o pré-tratamento com antagonistas da produção de glicocorticóides (metirapona e aminoglutemide) não protege o animal da imunossupressão causada pela administração ICV de CRH⁽²⁵⁾. Estes dados sugerem novamente uma dissociação entre alterações na imunidade celular e atividade do eixo HPA, pois somente o bloqueio da liberação de noradrenalina protege o animal das alterações imunológicas. Já o bloqueio do eixo HPA não protege. Vem ao encontro destes dados o fato de que em cobaias a desnervação cirúrgica do baço e simpatectomia determinam o incremento na imunocompetência⁽⁵⁸⁾.

Assim como no eixo HPA existe um mecanismo compensatório do efeito imunossupressivo dos glicocorticóides, o mesmo talvez possa ocorrer em relação ao

SNA. Sabe-se que durante o estresse a medula adrenal libera não somente catecolaminas, mas também encefalinas⁽³⁾. É sabido que estas substâncias apresentam atividade imunomoduladora positiva^(25,59,60,61). Foi sugerido que a liberação adrenal de encefalinas ocorre principalmente em estresse de grande intensidade ou de longa duração⁽⁶²⁾.

O CRH como Modulador Comportamental

Como foi descrito anteriormente, o CRH é o principal ativador do eixo HPA e um importante ativador do SNA. Porém, o papel do CRH extrapola a ativação de sistemas periféricos pois em concordância com sua ampla distribuição no SNC, sua ação parece ser de mediador das respostas comportamentais ao estresse, da ativação autonômica central, com importante papel na atividade elétrica cerebral^(63,64,65,66). O CRH não é produzido somente no hipotálamo, mas também em núcleos centrais autonômicos, no LC e diversas áreas límbicas e corticais, além de possuir sítios receptores também em diversas regiões^(67,68). O CRH preenche critérios para ser considerado neurotransmissor no SNC. Por exemplo, sua liberação é induzida por potássio e dependente de cálcio⁽⁶⁹⁾. A administração ICV de CRH produz aumento da excitabilidade no hipocampo, córtex, aumento do fluxo simpático e aumento da descarga de neurônios em vários locais^(55,56). Neurônios terminais contendo CRH estão associados ao LC e núcleos da rafe, as maiores regiões de corpos celulares contendo noradrenalina e serotonina, respectivamente.

Diversos estudos *in vivo* e *pós-mortem* demonstram um aumento nas concentrações de CRH no SNC de pacientes deprimidos. Estes pacientes apresentam níveis liquóricos mais altos de CRH, comparados a controles normais, esquizofrênicos e pacientes com demência senil. Pacientes suicidas apresentam também um decréscimo na ligação do CRH ao córtex frontal, provavelmente refletindo um menor número de receptores devido a presença de estímulos excessivos, isto é, uma regulação para menos ("down regulation")⁽⁷⁰⁾. Em outro estudo foi encontrado o dobro da concentração liquórica de CRH em depressivos, comparado a controles normais, porém sem relação com o nível de cortisol basal e após TSD⁽⁷¹⁾. Também foram encontrados níveis mais altos de CRH liquórico em pacientes não supressores comparados aos supressores, com relação direta aos níveis de cortisol após TSD⁽⁷²⁾. Os sítios extra-hipotalâmicos são os maio-

res responsáveis pela concentração liquórica de CRH, portanto a mesma não reflete necessariamente a ativação do eixo HPA⁽⁶⁸⁾.

Pesquisas feitas em ratos revelam que a exposição ao estresse agudo e crônico provoca aumento dos níveis de CRH em várias regiões cerebrais, exceto na eminência mediana, onde ocorreu um decréscimo de 50%, provavelmente pela liberação de CRH no sistema porta hipotalâmico-pituitário. Já no LC ocorre um aumento de 100%. O estresse provocado por choque aumenta a concentração de CRH no LC e a injeção do neuropeptídeo diretamente neste local aumenta a reciclagem ("turn-over") de noradrenalina. A desregulação noradrenérgica e serotonérgica central tem sido relacionada a transtornos depressivos e de ansiedade^(68,73,74). A administração ICV de CRH produz diversas alterações comportamentais, como diminuição do consumo de alimentos, do comportamento sexual e da locomoção, sintomas estes relacionados a transtornos depressivos e de ansiedade no DSM-III-R^(65,75,76). Ratos que receberam CRH administrado ICV, comparados aos que receberam solução salina, apresentam maiores níveis de congelamento induzido por choque⁽⁷⁷⁾. O congelamento é a inibição máxima da atividade motora e representa a resposta a uma situação de perigo iminente. Ratos que receberam CRH com estrutura de α -hélice (antagonista do CRH) apresentam, ao contrário, redução dos níveis de congelamento induzido por choque⁽⁷⁸⁾. Outros estudos demonstram que o CRH não atua mediando o limiar da dor, através do sistema opióide e vias nociceptivas, e sim mediando a interpretação da magnitude do estímulo e as respostas fisiológicas e comportamentais do mesmo⁽⁷⁹⁾.

Outros estudos realizados com ratos, simulando um ambiente natural, fornecem importante sustentação à hipótese do CRH como modulador do comportamento. Vários animais foram colocados num aparato contendo uma câmara escura e protegida, que abre-se numa arena grande e iluminada. Um grupo de ratos recebeu solução salina ICV e outro CRH com estrutura de α -hélice. Todos os animais, no primeiro dia, escondem-se na câmara e, após certificarem-se da ausência de perigo, começam a explorar o ambiente em busca de alimento. O grupo que recebeu antagonista do CRH apresentou menor tempo de latência e menor tempo total na câmara e obtiveram maior número de passagens à arena. Em outra experiência os mesmos autores compararam a administração de solução salina com CRH, e o grupo tratado com este peptídeo demonstrou um comportamento oposto, isto é, maior tempo total e de latência na câmara e menos

passagens à arena⁽⁸⁰⁾. Outro estudo foi feito com ratos ratados com antagonista do CRH ou solução salina. No segundo dia de experiência, foram colocadas nos cantos da arena fezes e urina de ratos estressados. O odor de fezes e urina de animais estressados da mesma espécie, em pequenos mamíferos, é um importante sinal social de alerta ao perigo, e provoca respostas de sobreaviso e de medo. Todos os animais, ao sentirem o odor, entraram imediatamente na câmara. A maior parte do grupo que recebeu placebo passou o resto do tempo neste local, ao passo que o outro grupo saiu para explorar a arena logo em seguida⁽⁸¹⁾. Estes dois estudos sugerem que tanto a hipoatividade como a hiperatividade do sistema CRH podem ser prejudiciais. No primeiro caso há uma inibição comportamental com redução da exploração ambiental e atividade motora. No segundo caso o animal pode negligenciar a possível presença de um predador ou algum outro perigo fatal. O aumento da função do CRH poderia estar relacionado a transtornos associados à timidez, medo e comportamento evitativo, como, por exemplo, ansiedade, transtornos do pânico, fobias e depressão. Em contrapartida a diminuição da função do CRH estaria relacionada a transtornos associados a desinibição exagerada, como o déficit de atenção, hiperatividade, personalidade anti-social e mania⁽⁷⁹⁾. Macacos Rhesus adultos parcialmente restritos, que receberam altas doses de CRH ICV, quando comparados a placebo, apresentam grandes elevações do cortisol e ACTH plasmáticos, pequeno aumento da tensão arterial e excitação do comportamento. Quando recebem a mesma dose, livres dentro da jaula, apresentam encolhimento e deprimem-se, muito semelhante a macacos bebês após longo tempo de separação materna, o que pode ser interpretado como sendo depressão. Estes efeitos não ocorreram devido à sedação, pois quando estimulados respondiam normalmente⁽⁸²⁾.

O CRH, em sua função de mediador comportamental, está intimamente relacionado ao sistema dos benzodiazepínicos (BDZ). O alprazolam e o adinazolam, ambos com efeito ansiolítico e antidepressivo, bem como os antidepressivos tricíclicos, baixam as concentrações de CRH no LC. A administração crônica destas drogas suprime a secreção de CRH neste local^(83,84). Em macacos bebês separados da mãe a dose de 10 microgramas de CRH administrado ICV reduz o nível de atividade dos animais quando comparado ao grupo controle. O diazepam produz efeitos contrários e o β -CCE (antagonista dos BDZ) reproduz os efeitos do CRH^(78,85).

Os efeitos comportamentais do CRH são mediados por sítios no SNC e não periféricamente e nem através do eixo HPA. Este neuropeptídeo quando administrado via intravenosa não produz nenhuma alteração comportamental, apenas um pequeno aumento do ACTH plasmático^(78,79). Um estudo que revela a dissociação entre o eixo HPA e os sítios extra-hipotalâmicos de CRH demonstra que o pico de CRH líquido em macacos Rhesus antecede em 14 horas o pico de cortisol líquido e de cortisol e ACTH plasmáticos⁽⁶⁸⁾.

Em relação à atividade imunológica, a influência do CRH é indireta, pois além de atravessar muito pouco a barreira hematoencefálica, sua administração periférica não influencia a atividade NK. Linfócitos incubados com CRH não apresentam diminuição da atividade NK^(25,57). O CRH somente age de forma direta nos monócitos através de receptores específicos. A modulação imunológica do CRH é feita indiretamente, via eixo HPA e LC, através da inervação simpática.

Para finalizar, a diminuição na função do sistema CRH foi encontrada em pacientes com doenças neurodegenerativas. A concentração de CRH está diminuída no córtex cerebral e líquido de pacientes com doença de Alzheimer em comparação a controles, em proporção ao grau de deterioração. Alterações semelhantes foram encontradas nos gânglios basais de pacientes com coreia de Huntington, em pacientes com doença de Parkinson e portadores de paralisia supra-nuclear progressiva⁽⁶⁸⁾.

Conclusão

Existe uma grande integração entre os sistemas psíquico, neuroendócrino e imunológico, como é demonstrado na Figura 2, e que só recentemente começa a ser desvendada. Uma ampla rede de comunicação através de terminações nervosas, hormônios, neuropeptídeos e citocinas mantém os sistemas em equilíbrio exercendo suas funções, promovendo a integridade do organismo. Os sistemas compartilham a propriedade de produzirem grande parte destas substâncias e também, por elas, serem modulados. Mesmo em condições ambientais desfavoráveis, como por exemplo, um ambiente estressor, o organismo possui recursos fisiológicos de adaptação. Este é o caso da ativação do eixo HPA conseqüente liberação de glicocorticóides, bem como da ativação do SNA e liberação de catecolaminas, ambos induzindo modificações metabólicas essenciais ao organismo nestas situações. Inclusive, um sistema pode potencializar

os efeitos do outro: os glicocorticóides possuem efeito facilitador na síntese e ação da adrenalina, e as catecolaminas podem estimular a secreção de CRH hipotalâmico, além de facilitarem a liberação de ACTH. Para manter o equilíbrio fisiológico, existem substâncias, tanto no eixo HPA como no SNA, que são liberadas simultaneamente, e que contrabalançam os efeitos imunossupressores dos glicocorticóides e catecolaminas. No primeiro, temos principalmente a β -endorfina e talvez o ACTH e CRH e, no segundo, as encefalinas. Possivelmente, os efeitos imunossupressores dos glicocorticóides e catecolaminas tenham o papel fisiológico de frear a hiperatividade imunológica que ocorre em determinadas ocasiões, como situações estressantes.

Em muitos indivíduos, a despeito da intensa mobilização metabólica, o equilíbrio é rompido. Isto se reflete na queda da atividade imunológica encontrada em grande parte dos casos de estresse e depressão, nas alterações do eixo HPA e dos sistemas serotoninérgico e colinérgico também encontradas na depressão, em outras alterações encontradas em diversas doenças psiquiátricas e no próprio estado crônico-depressivo ou de ansiedade, que denotam disfunção no sistema psíquico. Em relação à redução da imunidade, o SNA tem sido apontado como tendo maior responsabilidade que o eixo HPA, de acordo com estudos recentes. Também não estão bem definidos os fatores determinantes do desequilíbrio fisiológico encontrado em diversas doenças psiquiátricas, isto é, por-

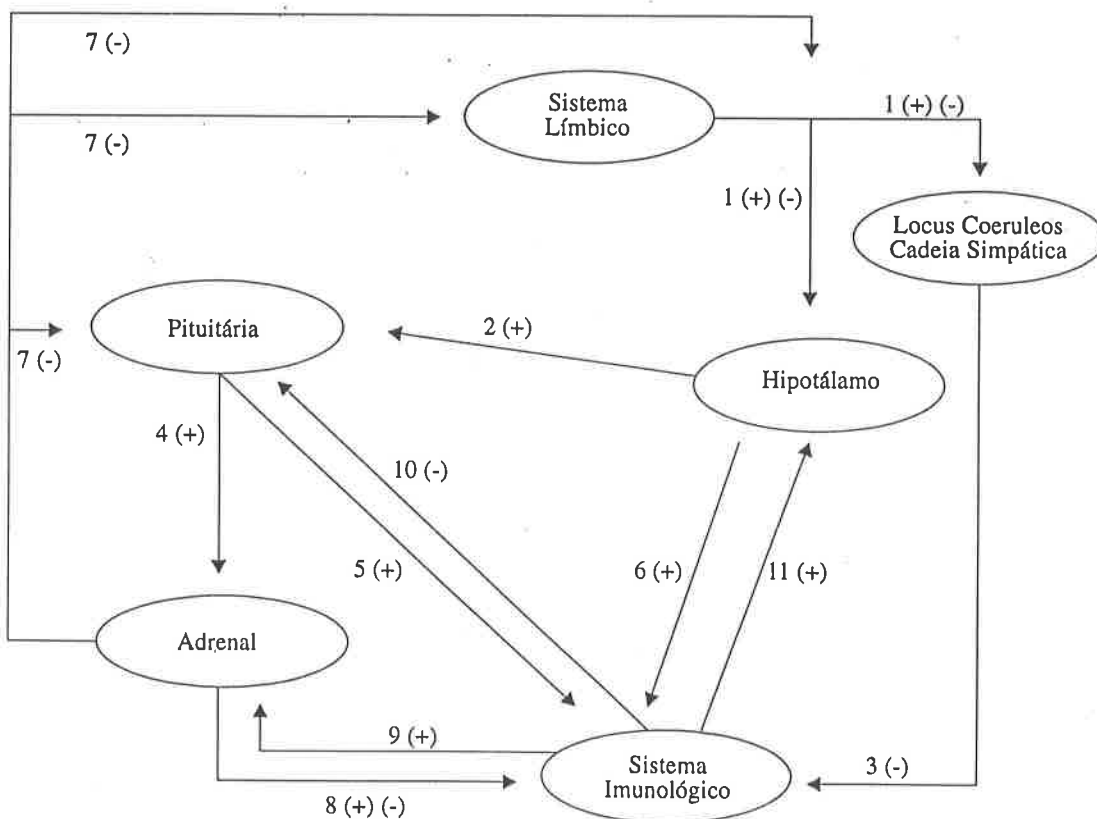


Figura 2

As citocinas e β -endorfinas sintetizadas pelas células do sistema imune atuam em diferentes locais e com múltiplas funções no SNC. 1 - Via neuronal. 2 - CRH, ocitocinas e angiotensina. 3 - Noradrenalina. 4 - ACTH. 5 - ACTH, β -endorfina e citocinas. 6 - CRH. 7 - Córtex adrenal: glicocorticóides. 8 - Medula adrenal: encefalinas (+) e catecolaminas (-), córtex adrenal: glicocorticóides (-). 9 - ACTH e IL-1. 10 - Fator de liberação de glicocorticóides, timosina fração-5, IL-1. 11 - Fator de liberação de glicocorticóides, timosina fração 5 e IL-1.

Obs.: O sinal (-) se refere a supressão e (+) à estimulação.

que alguns indivíduos são suscetíveis e outros não. Sabe-se que estão envolvidos tanto fatores genéticos quanto ambientais. Estes últimos dependentes, dentre outros aspectos, da magnitude, qualidade e cronicidade dos estímulos.

O CRH vem despontando como um importante mediador das respostas fisiológicas e comportamentais ao estresse. A nível periférico, promove modificações metabólicas essenciais através dos glicocorticóides, via eixo HPA e das catecolaminas, via LC e cadeia nervosa simpática. A nível central, promove modificações no comportamento, através de sítios extra-hipotalâmicos, situados em diversas regiões do SNC.

As descobertas recentes sobre a fisiologia dos transtornos psiquiátricos propiciaram novas perspectivas terapêuticas. Alguns estudos preliminares demonstram que a metirapona (inibidor da síntese de glicocorticóides) e RU486 (antagonista dos glicocorticóides) são eficazes em melhorar as mudanças afetivas associadas à síndrome de Cushing. Seria interessante testar estas drogas em pacientes deprimidos com hiperatividade do eixo HPA⁽³⁹⁾. Também é promissor o desenvolvimento de uma nova farmacologia que utilize agonistas e antagonistas do CRH. Os agonistas poderiam ser utilizados em transtornos associados à desinibição exagerada e em doenças neurodegenerativas, ambos, provavelmente, com diminuição da função do sistema CRH. Os antagonistas poderiam ser utilizados em transtornos associados à timidez e tendência ao isolamento, como depressão, ansiedade e anorexia nervosa, os quais apresentam, possivelmente, hiperfunção do sistema CRH^(68,79).

Summary

Researches that investigate reciprocal influences among psychic, neuroendocrine and immunologic systems have increased during the 1980 decade. The depression and stress induce synthesis and releasing of neuropeptides and hormones that must decrease deleterious effects of some environment factors. The CRH appears here as an important mediator of physiological and behavioural answers to stress stimuli. This neuropeptide, made in several places of central nervous system, has both central as peripheral effect, through the activation of various body systems. Among the most important there are HPA axis, with the resulting production of β -endorphin and cortisol, and noradrenergic brain ways, through direct stimulus in *locus coeruleus*. Then, the endogenous opioids, glicocorticoids, and catecholamines act directly on lymphocytes binding specific receptors. The authors review mechanisms and interactions among systems described above.

Key Words

Psychoneuroimmunology. Neuropeptides. Immune response. Central nervous system and Behaviour.

Referências Bibliográficas

1. KHANSARI, D.; MURGO, A. e FAITH, R.: Effects of Stress on the Immune System. *Rev. Immun. Today*, v.11, n.5, p.170-174, 1990.
2. RISCH, S.: Central Nervous System Peptide Mechanism in Stress and Depression. Washington, American Psychiatric Press, 1991. 128p.
3. SYVÄLAHTI, E.: Endocrine and Immune Adaptation in Stress. *Annals of Clin. Research*, v.19, p.70-77, 1987.
4. PLATA-SALAMAN, C.: Immunoregulators in the nervous system. *Neurosc. Biobehav. Rev.*, v.15, p.185, 1991.
5. BAUER, M.; GAUER, G. e NARDI, N.: Depressão Maior e atividade do sistema imunológico. *Rev. ABP-APAL*, v.15, p.87-94, 1993.
6. BOHUS, B. e KOOLHAAS, J.: Psychoneuroimmunology of Social Factors in Rodents and Other Subprimate Vertebrates. IN: ADER, R.; FELTEN, D. e COHEN, N.: *Psychoneuroimmunology*. San Diego, Academic Press, 2ªed, p.807-830, 1991.
7. RABIN, B.; LYTE, M.; EPSTEIN, L. e CAGGIULA, A.: Alterations of Immune competency by and number of mice housed per cage. *Ann. New York Acad. Science*, v.496, p.492-500, 1987.
8. RAAB, A.; DANTZER, R.; MICHAUD, B., MORMEDE, P.; TAGH-ZOUTI, K. et al.: Behavioral, physiological and immunological consequences of social status and aggression in chronically coexisting resident-intruder dyads of male rats. *Physiol. and Behav.*, v.36, p.223-228, 1986.
9. SHAVIT, Y.: Stress-Induced Immune Modulation in Animals: Opiates and Endogenous Opioid Peptides. IN: ADER, R.; FELTEN, D. e COHEN, N.: *Psychoneuroimmunology*. San Diego, Academic Press, 2ªed, p.789-806, 1991.
10. MONJAN, A.: Stress and Immunologic competence: Studies in animals. IN: ADER, R.: *Psychoneuroimmunology*. San Diego, Academic Press, p.185-228, 1981.
11. SOLOMON, G. e AMKRAUT, A.: Psychoneuroendocrinological effects of the immune response. *Annual Review of Microbiology*, v.35, p.155-184, 1981.
12. LAUDENSLANGER, M.; RYAN, S.; DRUGAN, R. et al.: Coping and Immunosuppression: Inescapable but not escapable shock suppresses lymphocyte proliferation. *Science*, v.221, p.568-570, 1983.
13. MILLAR, D.; THOMAS, J.; PACHECO, N. e ROLLWAGEN, F.: Natural Killer Cell Cytotoxicity and T-Cell Proliferation Is Enhanced by Avoidance Behavior. *Brain, Behav. Immunity*, v.7, p.144-153, 1993.
14. MORMEDE, P.; DANTZER, R.; MICHAUD, B. et al.: Influence of stressor predictability and behavioral control on lymphocyte reactivity, antibody responses and neuroendocrine activation in rats. *Physiol. Behav.*, v.43, p.577-583, 1988.
15. HOMO-DELARCHE, F. e DARDENNE, M.: The neuroendocrine-immune axis. *Spring. Sem. Immunop.*, v.14, p.221-238, 1993.
16. PESCOVITZ, O.; LORIAUX, L. e CUTLER, G.: Synthesis and Secretion of Corticosteroids. IN: BECKER, K. et al. *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*. Philadelphia, J.B. Lippincott, Parte V, p.579-591, 1990.
17. GUYTON, A.: Os Hormônios Córtico-Supra-Renais. *Tratado de Fisiologia Médica*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 8ª ed., capítulo 77, p. 741-752, 1992.
18. PARRILLO, J. e FAUCI, A.: Comparison of the effector cells in human spontaneous cellular cytotoxicity and antibody-dependent cellular cytotoxicity: Differential sensitivity of effector cells to *in vivo* and *in vitro* corticosteroids. *Scand. J. Immunol.*, v.8, p.99-107, 1978.
19. HOLBROOK, N.; COX, W. e HORNER, H.: Direct suppression of natural killer activity in human peripheral blood leukocyte cultures by glucocorticoids and its modulation by Interferon. *Canc. Res.*, v.43, p.4019-4025, 1983.

20. IRWIN, M. e HAUGER, R.: Adaptation to chronic stress: temporal pattern of immune and neuroendocrine correlates. *Neuropsychopharmacol.*, v.1, p.239-243, 1988.
21. KELLER, S.; WEISS, J.; SCHLEIFER, S. et al.: Stress suppression of immunity in adrenalectomized rats. *Science*, v.221, p.1301-1304, 1983.
22. KELLER, S.; WEISS, J.; SCHLEIFER, S. et al.: Suppression of immunity by stress: effects of a graded series of stressors on lymphocyte stimulation in the rat. *Science*, v.213, p.1397-1400, 1981.
23. KRONFOL, Z.; HOVER, J.; SILVA, J. et al.: Depression, urinary free cortisol excretion, and lymphocyte function. *Br. J. Psychiatry*, v.148, p.70-73, 1986.
24. KRONFOL, Z. e HOUSE, J.: Depression, hypothalamic-pituitary-adrenal cortical activity and lymphocyte function. *Psychopharmacol. Bull.*, v.21, p.476-478, 1985.
25. IRWIN, M.: Cellular Immune Changes in Stress and Depression: Role of Corticotropin-Releasing Factor and Endogenous Opioid Peptides. IN: RISCH, S. Central Nervous System Peptide Mechanisms in Stress and Depression. Washington, American Psychiatric Press, p.105-128, 1991.
26. KAVELAARS, A.; BALLIEUX, R. e HEIJNEN, C.: The role of interleukin-1 in the CRF and AVP-induced secretion of β -endorphin by human peripheral blood mononuclear cells. *J. Immunology*, v.142, p.2338-2342, 1989.
27. GATTI, G.; MASERA, R.; PALLAVICINI, L. et al.: Interplay *in vitro* between ACTH, β -Endorphin, and Glucocorticoids in the Modulation of Spontaneous and Lymphokine-Inducible Human Natural Killer Cell Activity. *Brain Behav. Immunity*, v.7, p.16-28, 1993.
28. GILMORE, W. e WEINER, R.: β -endorphin enhances interleukin-2 production in murine lymphocytes. *J. Neuroimmunol.*, v.18, p.125-138, 1988.
29. GILMORE, W. e WEINER, R.: The opioid specificity of β -endorphin enhancement of murine lymphocyte proliferation. *Immunopharmacology*, v.17, p.19-30, 1989.
30. BOCCHINI, G.; BONANNO, G. e CANIVARI, A.: Influences of morphine and naloxone on human peripheral blood T-lymphocytes. *Drug Alcohol Depend.*, v.11, p.233-237, 1983.
31. FARRAR, W.: Endorphin modulation of lymphokine activity. *Dev. Neurosci.*, v.18, p.159-165, 1984.
32. BROWN, S. e VAN EPPS, D.: Opioid peptides modulate production of interferon- γ by human mononuclear cells. *Cell. Immunol.*, v.103, p.19-26, 1986.
33. PRETE, P., LEVIN, E. e PEDRAM, A.: The *in vitro* effects of endogenous opiates on natural killer cells, antigen-specific cytolytic T cells, and T-cell subsets. *Experimental Neurol.*, v.92, p.349-359, 1986.
34. MCCAIN, H.; LAMSTER, I. e BILOTTA, J.: Modulation of human T-cell suppressor activity by β -endorphin and glycyl-L-glutamine. *Int. J. Immunopharmacol.*, v.8, p.443-446, 1986.
35. KAY, N.; ALLEN, J. e MORLEY, J.: Endorphins stimulate normal human peripheral blood lymphocyte natural killer activity. *Life Sci.*, v.35, p.53-59, 1984.
36. BESEDOVSKY, H.; SORKIN, E.; KELLER, M. e MULLER, J.: Changes in blood hormone levels during the immune response. *Proc. Soc. Experim. Biol. Med.*, v.150, p.466-470, 1975.
37. BESEDOVSKY, H. e SORKIN, E.: Network of immune-neuroendocrine interactions. *Clin. Experim. Immunol.*, v.27, p.1-12, 1977.
38. MASON, D.; MACPHEE, I. e ANTONI, F.: The role of the neuroendocrine system in determining genetic susceptibility to experimental allergic encephalomyelitis in the rat. *Immunology*, v.70, p.1, 1990.
39. LOWY, M.; GORMLEY, G.; REDER, A. e MELTZER, H.: Immune Function, Glucocorticoid Receptor Regulation, and Depression. IN: MILLER, A. Depressive Disorders and Immunity. Washington, American Psychiatric Press, p.105-133, 1989.
40. BULLOCH, K. e POMERANTZ, W.: Autonomic nervous system innervation of thymic-related lymphoid tissue in wild-type and nude mice. *J. Comp. Neurol.*, v.228, p.57-68, 1984.
41. FELTEN, D.; FELTEN, S.; CARLSON, S. et al.: Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid tissue. *J. Immunol.*, v.135, p.765-775, 1985.
42. FELTEN, S. e OLSCHOWKA, J.: Noradrenergic sympathetic innervation of the spleen, II: tyrosine hydroxylase (TH)-positive nerve terminals form synaptic-like contacts of lymphocytes in the splenic pulp. *J. Neurosci. Res.*, v.18, p.37-48, 1987.
43. VON EULER, U.: The presence of substance with sympathetic E properties in spleen extracts. *Acta Physiol. Scand.*, v.11, p.168-170, 1946.
44. FELTEN, S.; HOUSEL, J. e FELTEN, D.: Use of *in vivo* dialysis for evaluation of splenic norepinephrine and serotonin. *Soc. Neurosci. Abstr.*, v.12, p.1065, 1986.
45. AARONE, R. e MOLINOFF, P.: Changes in the density of β -adrenergic receptors in rat lymphocytes, heart and lung after chronic treatment with treatment with propranolol. *J. Pharm. Exp. Ther.*, v.221, p.439-443, 1982.
46. MILES, K.; QUINTANS, E. e CHELMICKA-SCHORR, E.: The sympathetic nervous system modulates antibody responses to thymus-independent antigens. *J. Neuroimmunol.*, v.1, p.101-105, 1981.
47. MOTULSKI, H. e INSEL, P.: Medical progress, adrenergic receptor in man: direct identification, physiologic regulation in clinical alterations. *New Eng. J. Med.*, v.307, p.18-29, 1982.
48. WILLIAMS, L.; SNYDERMAN, R. e LEFKOWITZ, R.: Identification of beta-adrenergic receptors in human lymphocytes by (-)-3H-alprenolol binding. *J. Clin. Invest.*, v.57, p.149-155, 1976.
49. HELLSTRAND, K.; HERMODSSON, S. e STRANNEGARD, O.: Evidence for beta adrenoceptor mediated regulation of human natural killer cells. *J. Immunol.*, v.134, p.4095-4099, 1985.
50. HADDEN, J.; HADDEN, E. e MIDDLETON, E.: Lymphocyte host transformation. I. demonstration of adrenergic receptors in human peripheral lymphocytes. *J. Cell. Immunol.*, v.1, p.583-595, 1970.
51. HEILIG, M.; IRWIN, M.; GREWAL, I. e SERCARZ, E.: Sympathetic Regulation of T-Helper Cell Function. *Brain Behav. Immunity*, v.7, p.154-163, 1993.
52. REDMOND, D. e HUANG, Y.: Current concept II: New evidence for locus coeruleus-norepinephrine connection with anxiety. *Life Sci.*, v.25, p.2149-2162, 1979.
53. SVENSSON, T.: Peripheral autonomic regulation of locus coeruleus noradrenergic neurons in brain: putative implications for psychiatry and psychopharmacology. *Psychopharmacol.*, v.92, p.1-7, 1987.
54. FOOTE, S.; BLOOM, F. e ASTON-JONES, G.: Nucleus locus coeruleus: new evidences of anatomical and physiological specificity. *Physiol. Rev.*, v.63, p.844-914, 1983.
55. VALENTINO, R. e FOOTE, S.: Corticotropin-releasing factor disrupts sensory responses of brain noradrenergic neurons. *Neuroendocrinology*, v.45, p.28-36, 1987.
56. VALENTINO, R.; FOOTE, S. e ASTON-JONES, G.: Corticotropin-releasing factor activates noradrenergic neurons of the locus coeruleus. *Brain. Res.*, v.270, p.363-367, 1983.
57. IRWIN, M.; BRITTON, K. e VALE, W.: Central corticotropin-releasing factor suppresses natural killer cell activity. *Brain Behav. Immun.*, v.1, p.81-87, 1987.
58. BESEDOVSKY, H.; DEL REL, A.; SORKIN, K.; DA PRADA, M. e KELLER, H.: Immunoregulation mediated by sympathetic nervous system. *Cell. Immunol.*, v.48, p.346-355, 1979.
59. OLESON, D. e JOHNSON, D.: Regulation of human natural cytotoxicity by enkephalins and selective opiates agonists. *B. Behav. Immun.*, v.2, p.171-186, 1988.
60. OLESON, D.; GRIERSON, H.; GOLDSMITH, J.: Augmentation of natural cytotoxicity by leucine enkephalin in cultured peripheral blood mononuclear cells from patients infected with HIV. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, v.51, p.386-395, 1989.
61. ZUNICH, K. e KIRKPATRICK, C.: Methionin-enkephaline as immunomodulator therapy in HIV infections: clinical and immunological effects. *J. Clin. Immunol.*, v.8, p.95-102, 1988.

2. TERENIUS, L. Endorfine och stress. *Läkartidningen*, v.82, p.1167-1170, 1985.
3. BROWN, M. CRF: Central nervous system sites of action. *Brain Res.*, v.399, p.10-14, 1986.
4. BERRIDGE, C. e DUNN, A.: Corticotropin e relasing factor elicits naloxone sensitive stress-like alterations in exploratory behavior in maes. *Regul. Peptides*, v.16, p.83-93, 1986.
5. BROWN, M.; GRAY, T. e FISHER, L.: Corticotropin-releasing factor receptor antagonist: effects on the autonomic nervous system and cardiovascular function. *Regul. Peptides*, v.16, p.321-329, 1986.
6. BROWN, M. e FISHER, L.: Central nervous system defects of corticotropin releasing hormone in the dog. *Brain Res.*, v.280, p.75-80, 1983.
7. MOGA, M. e GRAY, T.: Evidence of corticotropin-releasing factor, neurotensin and somatostatin in the neural pathway from the central nucleus of amygdala to the parabrachial nucleus. *J. Comp. Neurol.*, v.241, p.275-284, 1985.
8. VARGAS, M.; OWENS, M.; NEMEROFF, C.: Corticotropin-Releasing Factor: Brain and Cerebrospinal Fluid Studies: IN: RISCH, S. Central Nervous System Peptide Mechanisms in Stress and Depression. Washington, American Psychiatry Press, p.73-92, 1991.
9. OWENS, M.; MAYNOR, B. e NEMEROFF, C.: Release of corticotropin-releasing factor from rat prefrontal cortex *in vitro*. *Soc. Neurosci. Abstr.*, v.13, p.1110, 1987.
0. NEMEROFF, C.; WIDERLOV, E.; BISSETTE, G. et al.: Elevated concentration of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science*, v. 226, p.1342-1344, 1984.
1. BANKI, C.; BISSETTE, G.; ARATO, M. et al.: CSF corticotropin-releasing factor like immunoreactivity in depression and schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*, v.144, p.873-877, 1987.
2. ROY, A.; PICKAR, D.; PAUL, S. et al.: CSF corticotropin-releasing hormone in depressed patients and normal control subjects. *Am. J. Psychiatry*, v.144, p.641-645, 1987.
3. GOLD, P.; GOODWIN, F. e CHROUSOS, G.: Clinical and biochemical manifestation of depression. *N. Engl. J. Med.*, v.319, p.413-420, 1988.
4. REDMOND, D.: Studies of the nucleus locus coeruleus in mankeys and hypotheses for neuropsychopharmacology. IN: MELTZER, H. *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*. New York, Raven, p.967-973, 1987.
5. SIRINATHSINGHJI, D.: Modulation of lordosis behavior in the female rat by corticotropin-releasing factor, β -endorphin and gonadotropin-releasing hormone in the mesencephalic central gray. *Brain Res.*, v.336, p.45-55, 1985.
6. SIRINATHSINGHJI, D.: Inhibitory influences of corticotropin-releasing factor on components of sexual behavior in the male rat. *Brain Res.*, v.407, p.185-190, 1987.
7. SHERMAN, J. e KALIN, N.: ICV-CRH alters stress-induced freezing behavior without affecting pain sensitivity. *Pharm. Biochem. Behav.*, v.30, p.801-807, 1988.
8. KALIN, N.; SHELTON, S. e BARKSDALE, C.: Behavioral and physiological effects of CRH administered to infant primates undergoing maternal separation. *Neuropsychopharmacology*, v.2, p.97-104, 1989.
9. KALIN, N. e TAKAHASHI, L.: Animal Studies Implicating a Role of Corticotropin-Releasing Hormone in Mediating Behavioral Associated With Psychopathology. IN: RISCH, S. *Central Nervous System Peptide Mechanisms in Stress and Depression*. Washington. American Psychiatric Press. 1991. p.53-72.
0. TAKAHASHI, L.; KALIN, N.; VANDER BURGT, J. et al.: Corticotropin-releasing factor modulates defensive-withdrawal and exploratory behavior in rats. *Behav. Neurosci.* v.103, p.648-654, 1989.
1. TAKAHASHI, L.; KALIN, N. e BAKER, E.: Corticotropin-releasing factor antagonists attenuates defensive-withdrawal behavior elicited by odors of stressed conspecifics. *Behav. Neurosci.*, v.104, p.386-389, 1990.
2. HARLOW, H. e SUOMI, S.: Induced depression in monkeys. *Behav. Biol.*, v.12, p.273-296, 1974.
3. OWENS, M.; BISSETTE, G. e NEMEROFF, C.: Acute effects of alprazolam and adiazepam on the concentration of corticotropin-releasing factor in rat brain. *Synapse*, v.4, p.196-202, 1989.
4. GRIGORIADIS, D.; PERSALL, D. e DE SOUZA, E.: Effects of chronic anti depressant and benzodiazepine treatment on corticotropin-releasing factor receptors in rat brain and pituitary. *Neuropsychopharmacology*, v.2, p.53-60, 1988.
5. KALIN, N.; SHELTON, S. e BARKSDALE, C.: Separation distress in infant rhesus monkeys: effects of diazepam and Ro 15-1788. *Brain Res.*, v.408, p.192-198, 1987.

ENDEREÇO

Rua Comendador Rheingantz, nº 35
sala 202 - Monte Serrat, Porto Alegre RS
CEP: 90450-020 - Fone: (051) 221-2874/330-9090

VI



EVALUATION OF IMMUNE PARAMETERS IN DEPRESSED PATIENTS

Moisés E. Bauer*, Gabriel J. Gauer**, Clarice Luz[#], Ricardo O. Silveira**,
Nance B. Nardi*, and Carlos A. von Mühlen^{##}

*Laboratory of Immunogenetics, Department of Genetics, UFRGS; **Departments of Psychiatry and
^{##}Rheumatology, and the [#]Laboratory of Nuclear Medicine, PUCRS, Porto Alegre, Brazil.

(Received in final form May 18, 1995)

Summary

The association between depression and altered immunological activities has repeatedly been suggested, but experimental data show contradictory results. In this work, cellular and humoral immunological activities were evaluated in patients presenting major depression, unipolar subtype. Natural killer cell activity (NKCA) was significantly reduced in patients as compared to healthy controls ($p < 0.001$). However, lymphocyte mitogenic responses and immunoglobulin titers (IgG, IgM, and IgA) were similar for all samples. Hematological, hormonal, and nutritional variables presented normal values in patients and in controls. A familial history of depression was related to lower NKCA and higher phytohemagglutinin responses ($p < 0.01$). These data suggest possible differential inhibition of cellular immune responses in depressed patients.

Key Words: Major depression, psychoneuroimmunology, NK cells, immunoglobulins, mitogens

Major depression (MD) poses a major public health problem (1-4). The prevalence in the male adult population varies from 5 to 12%, reaching values 2-3 times higher in females (5). Approximately 20-35% of the cases develop into a chronic course, with considerable symptomatic and social impairment (6). Various authors associate MD with impairment of immunocompetence, resulting in immune-mediated diseases including cancer, allergies, and infectious or autoimmune diseases (7-12).

Evaluation of specific immune parameters in patients with MD revealed in some studies significant alterations that could lead to physical illnesses. These phenomena include blunted lymphocyte mitogenic responses, increased IgM, C3 and C4 production, leukocytosis, neutrophilia,

Presented at the Immunoneuroendocrine Interactions in Autoimmune and Infectious Diseases International Meeting, Rio de Janeiro, Brazil, April 24-28, 1994.

Correspondence, Moisés Evandro Bauer

Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS 91501-970, Caixa Postal 15053, FAX 55 51 336-2011, Brazil.

monocytosis (13,14), increased T helper/T suppressor ratio (15), increased soluble IL-2 receptor (sIL-2R) levels in serum (16), and finally decreased natural killer cell activity (NKCA) (15,17). On the other hand, little or no immunological changes in MD patients have been reported by others (18,19). In a recent comprehensive meta-analytic review of the literature, Herbert and Cohen (1) found that depression is associated with major alterations in cellular immunity. The same authors addressed the importance of careful analyses of day to day variance of the tests as well as of parameters such as physical activity, age, sex, hospitalization and clinical states of patients, to reliably investigate immune system in depression. Adequate pairing of control and patient groups was also stressed. Particularly, alterations in nutritional and exercise states have been implicated to influence the immune responses (3,20,21) and it is necessary to control these variables in immunological test procedures.

In the present study, we analyzed quantitative (differential analysis, antibody titers) and qualitative (lymphocyte proliferation, NKCA) indexes of immune function in ambulatory depressed patients as compared to healthy controls. We measured physiological aspects (cortisol, prolactin and nutritional levels) and physical activity of the subjects. A rigorous pairing was employed to exclude possible variables that could be influencing the immune responses. A blunted NKCA was observed in patients as compared to healthy controls. However, no alterations were found in lymphocyte mitogenic responses, immunoglobulin titers (IgG, IgM, and IgA) and hematological, hormonal, and nutritional variables. A familial history of depression was related to lower NKCA and higher PHA responses. Lymphocyte proliferative response to concanavalin A and phytohemagglutinin were negative related to age. These data suggest possible differential inhibition of cellular immune responses in depressed patients.

Subjects and Methods

Subjects

Twenty-seven consecutive ambulatory depressed patients were recruited from São Lucas Hospital (PUCRS, Porto Alegre) and grouped as MD, unipolar subtype. Humoral responses, NKCA, hematological variables, nutritional and hormonal levels were investigated in the 27 patients, whereas lymphocyte proliferative responses were analyzed in 20 of them. All psychiatric diagnoses were made using the Structured Clinical Interview DSM III-R Checklist (SCID, portuguese version) (5). In order to ensure the scale reliability, the evaluator group obtained kappas of at least 0.66 (22). To determine MD severity, the Montgomery-Asberg Depression Rating Scale (MADRS) was employed (23,24). All patients were free of medical disorders clearly associated with alterations in immunity such as ongoing infections, cancer, immunodeficiencies, hyper- or hypothyroidism and autoimmune diseases (data collected by history, physical examination and, when necessary, laboratory tests). Patients were excluded if they had been treated with antidepressants, lithium carbonate, or neuroleptic drugs during the preceding two months. Bipolar depressed patients were omitted. Only the use of benzodiazepines (BDZ), shown to cause no effects on immunological activities (16), was allowed during the study period, except for the last 48 h before assays. Controls consisted of healthy volunteers without history of psychiatric disorders, who were free of medical illnesses, and not taking drugs known to affect immunity. Patients and controls were paired according to gender, age (with a range limit of 5 years), race, physical activity, socio-economical levels, tobacco and contraceptive use.

Cells

Peripheral blood was collected in the morning (between 8:00 a.m. and 9:00 a.m.) after 12 h fasting. Depressed patients and matched control samples were run on the same day to control effects of circadian rhythm on neuroendocrine and immune systems. Mononuclear cells were isolated by centrifugation over a Ficoll-Hypaque gradient (Sigma, St. Louis, MO USA), with or without previous buffy coat collection (400 x g/5 min). Hematological (differential) analysis was performed on each sample using standard procedures.

Lymphocyte mitogenic stimulation

Mononuclear cells were cultured in a final concentration of 3×10^6 cells/ml in RPMI-1640 medium (Sigma), supplemented with penicilline 1%, streptomycine 1% and fetal calf serum 10% (FCS, Cultilab, São Paulo, Brazil) (complete medium), for 96 h at 37°C in 5% CO₂ atmosphere. Stimulation by phytohemagglutinin (PHA), concanavalin A (ConA), and pokeweed mitogen (PWM), all from Sigma, was performed in triplicate (200 µl/well) using concentrations that yielded the maximal response for each mitogen as follows: PHA, 4 µg/ml; Con A, 10 µg/ml; and PWM, 10 µg/ml. After 76 h of culture, the mitogenic activity was measured by adding 0.5 µCi/well of ³H-thymidine (Amersham International, Amersham, UK) and harvesting the cells 20 h later. The ³H-thymidine uptake was determined by β-counting. Results were expressed as delta counts per minute (delta CPM, CPM-stimulated culture minus CPM-unstimulated culture) of the mean value of the triplicate cultures.

Natural killer cell activity

The NKCA was assayed in a standard 4-hour ⁵¹Cr release assay, using as target the K562 human erythroleukemia derived cell line (24). Mononuclear effector cells were adjusted to 5×10^6 cells/ml. K562 target cells, labeled with 150 µCi of Na⁵¹CrO₄ (IPEN-CNEN, São Paulo, Brazil) for 2 h at 37°C, were washed and adjusted to 5×10^4 cells/ml in complete medium. Cells were plated (using V-bottom microplates) in triplicate with several effector-target ratios (100:1, 50:1, 25:1, and 12:1) and incubated at 37°C in 5% CO₂ for 4 h. Aliquots (100 µl of supernatant) were analyzed in a γ-counter and percent specific lysis was determined according to the formula:

$\% \text{ of LYSIS} = 100 \times \frac{\text{Experimental CPM} - \text{Spontaneous Release CPM}}{\text{Total CPM} - \text{Spontaneous Release CPM}}$

The mean specific release for the three optimum effector-target cell ratios was utilized as the unit of measurement of NKCA (24).

Immunoglobulin titers

Plasma immunoglobulin titers (IgG, IgM and IgA) were measured by automatic nephelometry (in collaboration with Hoechst do Brasil and Weinmann Laboratory, Porto Alegre, Brazil).

Nutritional and hormonal analyses

Nutritional state of the patients was evaluated by history, physical examination, and laboratory tests. The physical examination included weight, height, and median arm circumference

(MAC). From those variables the body mass index (BMI, weight (Kg)/height² (m)) was calculated, and compared with normal data from the literature (25). Criteria for obesity and malnutrition were as follows (25,26):

BMI below 20:	low weight;
BMI between 20 and 25:	normal weight;
BMI between 25 and 30:	excessive weight;
BMI between 30 and 40:	obesity;
BMI higher 40:	morbid obesity.
MAC between 25 and 29:	normal;
MAC between 17 and 25:	moderate malnutrition;
MAC below 17:	severe malnutrition.

Ferritin, folic acid, vitamin B12, prolactin and cortisol levels were measured by radioimmunoassay in duplicate (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA). The Dexamethasone Suppression Test (DST) was administered since nonsuppressors are usually associated with hypercortisolemia (27,28). On the evening of the assay day, depressed patients received 1.0 mg of dexamethasone orally. Blood for plasma cortisol determination was drawn the following day between 8:00 and 9:00 a.m. Transferrin was analyzed by automatic turbidimetric assay (Sullab, Porto Alegre, Brazil). Albumin was measured by a standard colorimetric method, 'green of brominecrezol'.

Physical Activity

Physical activity was expressed by the number of hours spent per week by the patients in physical effort intense enough to make them sweat (data collected by history).

Cytopathological analysis

Since blunted NKCA has been related to malignant cervical neoplasia (29), cytopathological tests were conducted. All female patients had gynecological examination and cytopathological test of the uterine colon by the standard Papanicolaou method within one year before the study.

Statistical analysis

The results concerning NKCA were sq^r transformed to stabilize the variance and analyzed by ANOVA for repeated measures. Mitogen responses and plasma antibody titers were analyzed by nonparametric Kruskal-Wallis test. To analyze the relationships of cortisol, age, and MADRS scores with NKCA, the Spearman's rank correlation test was employed. The Student's *t* test was employed to analyse the relationships among drug use (tobacco, contraceptive, BDZ), MD familial history, menstruation status and immune measures. All levels of significance were two-tailed. A difference was considered statistically significant when $p < 0.05$. All data analyses were performed utilizing the computer-based package NCSS/PC 5.1 (Dr. Jerry L. Hintze, Kaysville, Utah).

Results

Characteristics of the patients and controls are summarized in Table 1. The patient-control pairs were all Caucasian and 86% were female. Ages ranged from 20 to 63 (mean 39.00) years for

patients and from 20 to 59 (mean 38.67) years for controls. The MADRS scores of the patients ranged from 20 to 47 (mean 30.85). Sixty-nine percent of the patients showed MD familial history. The duration of the present depressive episode ranged from 1 to 24 months (mean 9.55), and patients had presented an average of 1 previous episode (range from 0 to 5 episodes). Fifty-nine percent of the patients showed predominantly psychological symptoms and 31% of the patients showed vegetative symptoms. Cytopathological analyses presented negative results for uterine colon dysplasia and carcinoma for all samples.

Table 1

CHARACTERISTICS OF THE STUDY SAMPLE

VARIABLES	PATIENTS	CONTROLS
Age (years)	39.00 ± 11.80	38.67 ± 11.55
Gender	86% female	86% female
Race	all Caucasians	all Caucasians
Height (m)	1.61 ± 0.10	---
Weight (kg)	58.99 ± 9.92	---
MADRS	30.85 ± 8.14	---
BDZ users	50%	---
Tobacco users	46%	---

BDZ = benzodiazepine, MADRS = Montgomery-Asberg Depression Rating Scale.

Lymphocyte proliferative responses (Fig. 1) of depressed patients were similar to those of controls for all mitogens studied: PHA ($H = 0.09, p = 0.77$), Con A ($H = 0.01, p = 0.97$), and PWM ($H = 0.12, p = 0.72$). The NKCA among depressed patients was significantly lower than that of controls (Fig. 2) ($F = 20.02, p < 0.001$). Results concerning the plasma immunoglobulin concentrations have shown no statistically significant alterations in MD patients, as observed for all immunoglobulin titers (data not shown), IgG ($H = 0.41, p = 0.52$), IgA ($H = 2.42, p = 0.12$), and IgM ($H = 0.31, p = 0.58$). Results for the hematological variables in depressed patients (data not shown) were similar to those reported for normal individuals. However, it was observed that smoker patients have significantly higher numbers of segmented ($7574 / \text{mm}^3$) than non-smokers ($5029.8 / \text{mm}^3$) ($t = 2.88, p = 0.008$, not shown). Smokers and non-smokers showed the same NKCA.

Hormonal and nutritional variables presented normal values in MD patients when compared to the literature (data not shown). All patients evaluated according the DST presented normal suppression of cortisol. No apparent changes were observed in BMI and MAC indexes. Fifty-six percent of the patients showed normal weight, 17% low weight, 26% excessive weight, 63% normal nutrition, and 37% moderate malnutrition, and no patient showed obesity, morbid obesity, or severe malnutrition. No correlation was detected between BMI and MAC indexes and immune parameters. Positive correlations were observed between cortisol and Con A ($\rho = 0.62, p < 0.05$) and cortisol and PWM ($\rho = 0.54, p < 0.05$) responses (Table 2). A significant positive correlation was also found between ferritin and IgG levels ($\rho = 0.51, p < 0.05$) (Table 2). The physical activity level ranged from 0 to 25 hours/week (mean 2.74) and it was not related to immune measures.

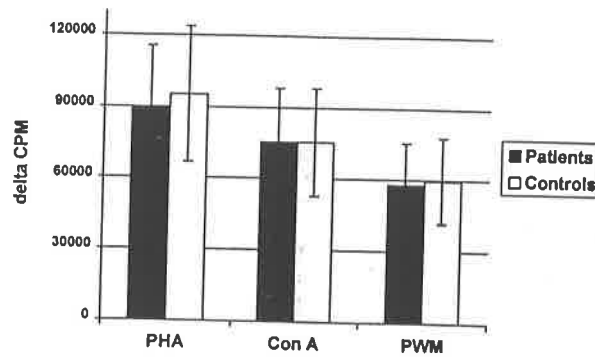


Fig. 1

Proliferative responses of peripheral blood lymphocytes.

Each bar represents the delta CPM of the mean value of the cultures. PHA (4.0 $\mu\text{g/ml}$, $p > 0.53$), Con A (10.0 $\mu\text{g/ml}$, $p > 0.98$), PWM (10 $\mu\text{g/ml}$, $p = 0.82$).

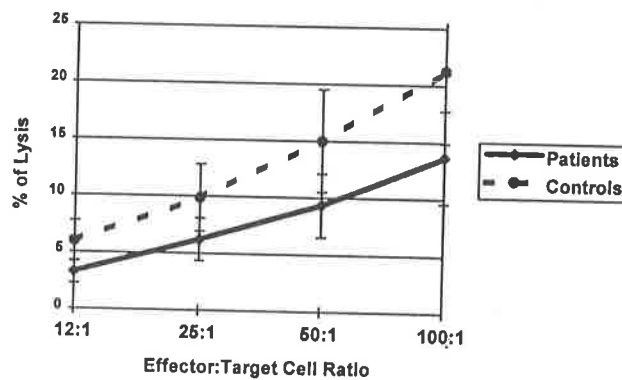


Fig. 2

Natural killer (NK) cell activity.

Each point represents the mean \pm SD of percent of lysis for each group ($p < 0.001$).

We next investigated the relationships between age, MADRS scores and the immune variables (Table 2). For depressed subjects, the analysis revealed a significant negative correlation between age and Con A ($\rho = -0.54$, $p < 0.05$) and age and PHA ($\rho = -0.53$, $p < 0.05$) responses. MADRS scores were negatively correlated to Con A stimulation ($\rho = -0.56$, $p < 0.05$). The data

analyses for the control subjects revealed a significant negative correlation between age and Con A ($\rho = -0.69, p < 0.01$) and age and PWM ($\rho = -0.52, p < 0.05$) responses.

Table 2

SIGNIFICANT CORRELATION AMONG IMMUNE AND NON-IMMUNE VARIABLES

VARIABLES	IgG	PHA	ConA	PWM	NKCA
Age		(-) *	(-) *		
MADRS levels			(-) *		
Cortisol			(+) *	(+) *	
Ferritin	(+) *				
Contraceptive use		(+) **		(+) *	
MDFH		(+) **			(-) **

MADRS = Montgomery-Asberg Depression Rating Scale, MDFH = MD family history, PA = physical activity, (+) positive correlation, (-) negative correlation, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$

The relationships among menstruation status (presence or absence of the menstruation), drug use (tobacco, BDZ and oral contraceptive) and immune measures were assessed (Table 2). Depressed women that had been taking contraceptive drugs showed a significantly higher PHA and PWM responses than those that did not use it ($t = 3.59, p < 0.01$ and $t = 2.52, p < 0.05$, respectively). Menstruation status, tobacco and BDZ use were not statistically correlated to the immune variables.

The data concerning MD family history (MDFH), number of previous MD episodes, duration of the present episode (months) and predominant symptoms were compared to immune indexes (Table 2). NKCA was significantly lower in MD patients with MDFH ($t = -4.02, p < 0.01$). However, those subjects showed significantly higher PHA response as compared to those without MDFH ($t = 3.89, p < 0.01$). The number of previous MD episodes, duration of the present depressive episode and predominant symptoms were not correlated to the immune measures.

Discussion

This study was undertaken to evaluate possible abnormalities in immune functions of MD patients as compared to normal controls. A significant decrease in NKCA was observed, while no significant differences were found in mitogen-induced lymphocyte proliferation or plasma immunoglobulin titers in patients as compared to controls. These results are in accordance with other recent studies (15,16,30) which suggested that the immune system may be sensitive to variations in the psychological status. It has been reported that the lymphocyte responses to mitogens in depressed patients are quite distinct from those in the healthy state: an initial enhancement of the blast transformation in minor depression (22,30) is gradually blunted in parallel to severity of illness (13,31,32). The overall normal mitogen-induced proliferation levels observed in the patients analyzed in this work may be a reflection of the symptomatic status of the patients. The relationships between severity of the illness or age of the patients and cellular activities, as reported in

previous studies (18, 30), were partially associated in this work. Con A and PHA responses showed strong negative association to age and illness severity level (as shown by MADRS scores) in subjects. Those findings suggest that altered immunity is not a specific biologic correlate of MD but may occur in subgroups of depressed patients and in specific cellular subtypes. The elderly and severely depressed patients appear to suffer from major immunological impairments. Due to the limited number of males studied, we could not make gender comparisons. Differential analysis did not show any alterations in patients as compared to normal values. Nevertheless, smokers showed a higher number of segmented cells. Lymphocyte subset quantification can be very helpful in a study like this, since recent reports have shown changes in CD4 and NK cellular counts with increasing age and MD clinical course (30,31).

A partial relationship between endogenous hypercortisolemia and immune measures was observed in this study: only Con A and PWM responses were positively related to cortisol levels. Our results are in accordance with those of others (16,33), who were unable to establish any significant relationship between reduced NKCA and increased HPA-axis function in depressive patients. It is possible that depressed patients have developed glucocorticoid resistance secondarily to the established elevations in cortisol (16). However, we did not find alterations on cortisol levels or DST in patients, as compared to normal values. Considering that the majority of patients in this study were not severely depressed, we can speculate that increased HPA-axis function could be a hallmark of severe MD or DST nonsuppressors. Other factors could be suppressing NK cell function: increased catecholaminergic activity, a decreased number of NK cells in peripheral blood (30), abnormal post-receptor signalling, disturbances in target cell recognition or target killing, and cytokine modulation. Recently, Maes et al. (15) reported that severe depression is characterized by increased serum sIL-2R levels that bind to IL-2, form an IL-2/sIL-2R complex, and by doing so limit the amount of IL-2 available to stimulate NK cells.

The processes linking depression to modifications on lymphocyte activities are complex and require further investigation. Changes in nutrition, physical activity, sleep, age, sex, circadian rhythms, drug use, and medical illness, could influence lymphocyte function (20,34). Immunological changes caused by malnutrition or single-nutrient deficiencies are very similar to those of depressive illness. Chandra (20) observed in protein-calorie malnutrition that lymphocyte proliferation, antibody production, and NKCA were reduced. He also reported decreased ratios of CD4+:CD8+ cells, and lower production of several cytokines (i.e. IL-1, IL-2, and gamma-interferon). Recently, a study with prisoners of war (Camp in Manjaca, Bosnia) corroborated these findings (35). Alterations in the main parameters of the immune system may have resulted from the psychological stress, physical deprivation, and malnutrition experienced by those war camp prisoners. Sommer (36) reported that certain amino acids (Trp, Cis, Gln) can modulate the lymphocyte proliferation *in vitro*. However, the subjects analyzed in this work did not report changes in diet, alcohol, tobacco, or use of other drugs. Meanwhile, contraceptive use was associated to elevations in PHA and PWM responses. In fact, sex hormones can modulate immune functions (3). No significant changes in weight were noted. Exercise may influence natural immunity, T- and B-cell functions, and cytokine responses, through circulatory changes and endocrine hormones (adrenaline, growth hormone, β -endorphin). However, no relationships were found among physical activity and immune variables in this study. In stress conditions, opioid secretion is elicited and those peptides have the properties of opiate analgesics (37). Interestingly, habitual exercise has been associated with reduction in depression and improved adaptation to stress (3).

A variety of somatic disturbances and drugs (e.g. alcohol, reserpine) are associated with depressive and manic states (27,38), including cancer, Cushing's disease, systemic lupus erythematosus, influenza and AIDS. Nutritional diseases, including pellagra, anemia and vitamin deficiencies (B12, C, folate) are linked to depression. Several neurological diseases are often associated with depression: multiple sclerosis, dementia and Parkinson's disease are examples. Depression, *in a secondary disease context*, probably contributes to immunological changes that possibly impair the disease process itself. Particularly, it was observed that chronic depression precedes a decline in CD4+ cells in HIV positive men over a five year period (4).

A family history of depression was related to lower NKCA and higher PHA responses. Genetic factors have long been implicated in the etiology of depression (6,38,39). Epidemiologic and family studies have long pointed out to a X-linked dominant inheritance. It was shown that the loci Xq27-28 are probably involved in segregated depression (39). Do these genes interact to suppress NKCA? Are the same ones responsible for the increase of PHA response? Future isolation and cloning of the genes involved will have probably major implications for prevention and treatment.

Early research on the relationship between depression and immunity appeared to show contradictory results (17,18,32). More recent findings suggest that such conflicting observations may be accounted for by methodological limitations of previous studies (30) or by the limited number of samples investigated (1). It should be kept in mind, however, that our difficulty in demonstrating the physiological significance of neuroimmunological interactions may be a reflection of our limited ability to analyze the complex biology of *in vivo* immune system. The association of affective disorders with altered immunity points out to a relationship, as yet unclear, between the immune system and depression (7-12). However, the complex mechanisms in operation still constitute a blackbox. In spite of the limited number of samples studied, our results aid in the understanding of the neuromodulation of immune functions in depressive illness. In this study, we suggest that immunological activities may be differentially influenced by psychic distress with suppression on NKCA and maintenance of proliferative responses, immunoglobulin titers, and white blood cell count in physiological levels. Longitudinal and cross-sectional studies with MD patients should further explore possible psychic implications on the immune state.

Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge Myrian dos Reis (Weinmann's Laboratory, Porto Alegre, Brazil) for her support. We also thank Renato Z. Flores and Sidia C. Jacques for helpful statistical support. This work was supported by CNPq, FAPERGS, and FINEP.

References

1. T. HERBERT and S. COHEN, *Psychol. Bull.* **113** 472-486 (1993).
2. C. WEISSE, *Psychol. Bull.* **111** 475-489 (1992).
3. R. ADER, D. FELTEN and N. COHEN (Eds), *Psychoneuroimmunology*, 2nd Ed., Academic Press, San Diego (1991).
4. M. BAUER, G. GAUER and N. NARDI, *Rev. Assoc. Bras. Psiquiat.* **15** 87-94 (1993).
5. American Psychiatric Association, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM III-R)*, 3rd Ed., APA, Washington D.C. (1987).

6. G. WINOKUR and P. CLAYTON (Eds), *The Medical Basis of Psychiatry*, W.B. Saunders, Philadelphia (1986).
7. J. BROWN and F. PARASKEVAS, *Brit. J. Psychiatry* **141** 227-232 (1982).
8. I. BELL, M. JASNOSKI, J. KAGAN and D. KING, *Psychother. Psychosom.* **55** 24-31 (1991).
9. R. SHECKELLE, W. RAVNOR, and A. OSTFELD, *Psychosom. Med.* **43** 117-125 (1981).
10. A. ZONDERNAN, P. COSTA, and R. MCCRAE, *JAMA* 1191-1195 (1989).
11. S. COHEN and G. WILLIAMSON, *Psychol. Bull.* **109** 5-24 (1991).
12. P. MARSHALL, *Psychol. Bull.* **113** 23-43 (1993).
13. Z. KRONFOL, R. TURNER, H. NASRALLAH and G. WINOKUR, *Psychiatry Research* **13** 13-18 (1984).
14. M. IRWIN, M. DANIELS, E. BLOOM, T. SMITH and H. WEINER, *Am. J. Psychiatry* **144** 437-441 (1987).
15. M. MAES, E. BOSMANS, E. SUY, C. VANDERVORST, C. DEJONCKHEERE and J. RAUS, *Acta Psychiatr. Scand.* **84** 379-386 (1991).
16. M. MAES, W. STEVENS, D. PEETERS, L. DECLERCK, S. SCHARPE, C. BRIDTS, C. SCHOTTE and P. COSYNS, *Life Sci.* **50** 505-513 (1992).
17. I. HICKIE, D. SILOVE, C. HICKIE, D. WAKEFIELD and A. LLOYD, *Psycholol. Med.* **20** 755-761 (1990).
18. S. SCHLEIFER, S. KELLER, R. BOND, J. COHEN and M. STEIN, *Arch. Gen. Psychiatry* **46** 81-87 (1989).
19. L. HOFFMAN-GOETZ and B. PEDERSEN, *Immunol. Today* **15** (8) 382-387 (1994).
20. R. CHANDRA, *Am. J. Clin. Nutr.* **53** 1087-1101 (1991).
21. P. ABREU, A. CAMOZZATO, P. SANCHES, M. LOBATO, S. SOARES, *J. Bras. Psiqu.* **43** 561-563 (1994).
22. L. DRATCU, L. RIBEIRO and H. CALIL, *Rev. Assoc. Bras. Psiquiat.* **7** 59-65 (1985).
23. L. DRATCU, L. RIBEIRO and H. CALIL, *Brit. J. Psychiatry* **150** 797-800 (1987).
24. G. TRINCHIERI, *Adv. Immunol.* **47** 187-329 (1989).
25. G. BRAY, *Med. Clin. North. Am.* **73** 161-184 (1989).
26. M. RIELLA, *Suporte Nutricional Parental e Enteral*, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro (1987).
27. P. WHYBROW, H. AKISKAL and W. MCKINNEY, *Mood Disorders*, Plenum Press, New York (1984).
28. Z. KRONFOL, H. NASRALLAH, S. CHAPMAN and J. HOUSE., *J. Affect. Disorders* **9** 169-173 (1985).
29. P. BALARAM, M. PILLAI, T. PADMANABHAN, T. ABRAHAM, N. HAREENDRAN and M. NAIR, *Gynecologic Oncology* **31** 409-423 (1988).
30. A. ANDREOLI, S. KELLER, M. RABAEUS, P. MARIN, J. BARTLETT and C. TABAN, *Brain, Behavior, and Immunity* **7** 279-292 (1993).
31. S. WILSON, *J. Clin. Psychiatry* **51** 2 (1990).
32. L. ALTSHULER, S. MARSHALL, S. RICHEIMER, M. DANIELS, and L. BAXTER, *Acta Psychiatr. Scand.* **80** 132-136 (1989).
33. D. NEROZZI, A. SANTONI, G. BERSANI, A. MAGNANI, A. BRESSAN, A. PASSINI, I. ANTONOZZI and G. FRAJESE, *Psychoneuroendocrinology* **14** 295-302 (1989).
34. D. NELSON and R. GATTI, *Prog. Allergy* **21** 261-341 (1976).
35. D. DEKARIS, A. SABIONCELLO, R. MAZURAN, S. RABATIC, I. SVOBODA-BEUSAN, N. RACUNICA and J. TOMASIC, *JAMA* **270** 595-599 (1993).
36. M. SOMMER, Master thesis. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brazil (1992).
37. E. TECOMA and L. HUEY, *Life Sciences* **36** 1799-1812.
38. H. KAPLAN and B. SADOCK, *Compêndio de Psiquiatria*, 2nd Ed., Artes Médicas, Porto Alegre (1990).
39. P. McHUGH and V. McKUSICK, *Genes, Brain, and Behavior*, Raven Press, New York (1991).

VII

Atividade *natural killer*: implicações na saúde e na doença humanas

GABRIEL C. GAUER*
 MOISÉS E. BAUER**
 CLARICE LUZ***
 NANCE B. NARDI****
 CARLOS A. MÜHLEN*****

SINOPSE

A atividade celular *natural killer* (NK) é essencial na vigilância imune contra tumores e agentes infecciosos virais. Além disso, ela está envolvida em processos regulatórios hematopoiéticos e psiconeuroimunológicos. Evidências recentes indicam que esta função pode estar envolvida na patogênese de algumas doenças humanas e que a mensuração da atividade NK pode servir como um marcador útil no prognóstico e um importante parâmetro no monitoramento dos efeitos da imunoterapia. Nesse sentido, os autores revisam os principais conceitos sobre a fisiopatologia da atividade NK, explorando aspectos de sua modulação *in vitro* e *in vivo*.

UNITERMOS: Atividade NK, Células NK, Câncer.

ABSTRACT

The natural killer (NK) activity is essential for the immune surveillance against tumors and viral infections. Moreover, it seems to be involved in the regulation of hematopoietic and psychoneuroimmunologic processes. Recent evidences indicate that NK activity may be implicated in the pathogenesis of some human diseases, and measurement of the NK cell activity could be a useful prognostic marker and important parameter in monitoring immunotherapeutic procedures. We review some of the main points on the physiopathology of the NK cell activity, exploring aspects of its in vitro and in vivo modulation.

KEYWORDS: *Natural Killer Activity, NK Cells, Cancer.*

Trabalho realizado no Departamento de Psiquiatria e Medicina Nuclear da PUCRS e no Departamento de Genética da UFRGS.

* Professor auxiliar do Dep. de Psiquiatria e Med. Legal, PUCRS.

** Bacharelado em Genética, UFRGS.

*** Bióloga Especialista em Radioimunoensaio, HSL-PUCRS.

**** Professora Adjunta da UFRGS, Doutora em Imunologia pela Universidade de Londres.

***** Professor Adjunto de Medicina Interna e Reumatologia da PUCRS, Doutor em Medicina pela Universidade Técnica do Norte do Reno - Westfália (Alemanha).

Endereço para correspondência

Moisés E. Bauer

- Dep. Genética, UFRGS, Porto Alegre, RS 91501-970, Caixa Postal 15053, Brasil.

INTRODUÇÃO

Células *natural killer* (NK) são um pequeno grupo de linfócitos grandes de citoplasma granular (LGG) do sangue periférico (5-15% dos linfócitos circulantes) que medeiam funções importantes na saúde e doença humanas. As células maduras expressam o fenótipo CD3⁺CD56⁺CD16⁺CD2^{dim} (1) e constituem a maioria dos linfócitos da terceira população, que não apresentam marcadores para as células T ou B (2). Embora as células NK tenham sido descritas inicialmente em camundongos e humanos, células efectoras semelhantes foram isoladas de diversos vertebrados. Além disso, células semelhantes à NK têm sido descritas em animais inferiores como as estrelas-do-mar e anelídeos, que não possuem linfócitos T ou B. Muito provavelmente, o desenvolvimento da atividade NK precedeu a evolução do sistema imune adaptativo (3).

A atividade *natural killer* vem sendo considerada como essencial na vigilância imune contra tumores e agentes infecciosos. Esta atividade não é restrita na sua função pelo Complexo de Histocompatibilidade Principal e envolve a destruição de uma ampla variedade de tumores humanos sólidos, células leucêmicas e células-alvo infectadas por vírus. Além disso, as células NK participam de inúmeras funções biológicas importantes, como a imunorregulação, hematopoiese reprodução, e interações psiconeuroimunológicas (1,3,4).

Uma atividade NK ausente ou comprometida tem sido encontrada em associação com o desenvolvimento e progressão do câncer, com infecções virais agudas e crônicas como a AIDS, síndrome da fadiga crônica, depressão maior, várias síndromes de imunodeficiência e certas doenças auto-imunes (5-7). Nesta revisão, discutiremos as características funcionais e patológicas da atividade NK humana e avaliaremos os potenciais terapêuticos baseados na regulação positiva desta atividade em pacientes com depressão ou em outras doenças.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE NK

Existem diferentes formas de avaliar a função das células NK. Primeiro, através de uma análise enumerativa,

pela marcação de células mononucleares do sangue periférico com anticorpos monoclonais para antígenos de superfície CD56 e CD16, característicos das células NK, e posterior mensuração destas em citometria de fluxo. Segundo, através de ensaios que empregam medidas colorimétricas ou de fluorescência (8). Entretanto, até o presente momento, o ensaio de citotoxicidade NK que emprega a liberação de ^{51}Cr pelas células-alvo lisadas permanece o mais amplamente utilizado e aceito (9,10).

Diversos fatores podem afetar *in vitro* ou *in vivo* a atividade NK. Esta tende a diminuir com o envelhecimento e, de um modo geral, estar mais elevada nos homens do que nas mulheres (4). O abuso de álcool, tabaco, várias drogas, estresse físico e mental, o haplótipo HLA do indivíduo (5), além de inúmeras doenças (e.g., infecções, neoplasias) podem alterar a atividade NK *in vivo*. Desta forma, torna-se importante a utilização de controles criteriosos nos ensaios realizados.

MECANISMOS DE AÇÃO DAS CÉLULAS NK

Por muito tempo ficou desconhecido o modo pelo qual as células NK destroem as células-alvo e, ao mesmo tempo, poupam as células saudáveis. Após ligação à célula-alvo, as células NK criam orifícios na superfície das mesmas. Mais especificamente, elas liberam moléculas de uma proteína letal na membrana das células-alvo, formando canais semelhantes a poros. Devido à entrada de água a célula-alvo edemacia e morre.

Alguns trabalhos demonstraram que as proteínas formadoras de poros, comumente denominadas perforinas, fazem parte do armamento de dois tipos celulares, as células T citotóxicas e as células NK. Young e Cohn (1988) encontraram uma proteína similar no eosinófilo e outra proteína também similar na ameba e responsável por uma disenteria severa (11). Além disto, as proteínas formadoras de poros apresentam semelhança molecular com as frações do complemento C6, C7, C8 e C9. Uma vez que células-alvo sejam expostas às perforinas, na presença de íons cálcio, serão lisadas em poucos minutos. Entretanto, se os íons de cálcio são adicionados às perforinas antes do contato com a célula, sua atividade destrutiva é abolida. Este efeito aparentemente paradoxal nos remete à questão de como as perforinas atuam para destruir a célula. O aumento prolongado de cálcio intracelular parece estar relacionado à degradação do DNA no núcleo da célula-alvo (12). Então a formação de poros pode ser responsável tanto pelo dano à membrana como pelo dano ao núcleo. Em adição, as perforinas podem facilitar a entrada de outras moléculas citotóxicas como linfotóxicas, fator de necrose tumoral (TNF) e outros componentes granulares, aumentando a citotoxicidade daqueles agentes.

Para que as perforinas possam danificar as células-alvo, a polimerização mediada pelo cálcio deve ocorrer

completamente dentro da membrana celular. A razão é que somente na forma de monômero as perforinas podem se inserir na membrana. Se a polimerização ocorrer em solução, o polímero resultante não pode entrar na membrana. Desta forma pode-se compreender um efeito protetor, pelo qual qualquer perforina que entre no espaço extracelular ou corrente sanguínea, onde o cálcio é abundante, imediatamente se polimeriza e se torna inativa, eliminando-se, desta forma, a possibilidade de dano às células na área de lesão.

Além das perforinas, outros mecanismos têm sido sugeridos como parte do arsenal dos linfócitos no processo de destruição celular. Um destes modelos é o da apoptose (i.e., morte celular programada). Ele é baseado na observação de que precocemente no curso dos danos à membrana das células-alvo ocorre a ruptura do núcleo com a fragmentação do DNA. A hipótese de que exista mais de um mecanismo envolvido no processo de destruição é provável, já que os linfócitos continuam exercendo sua atividade de destruir células-alvo mesmo quando não secretam perforinas (11).

DEFICIÊNCIA NA ATIVIDADE NK

Níveis cronicamente baixos de atividade NK ocorrem em associação com uma variedade de doenças, incluindo câncer, imunodeficiências congênitas ou adquiridas, infecções virais graves, doenças auto-imunes e distúrbios do comportamento.

ATIVIDADE NK E CÂNCER

A atividade NK representa a primeira linha de defesa contra a disseminação metastática das células tumorais presentes no sangue, constituindo-se em importante aspecto da vigilância imune contra tumores. Está bem estabelecido, em modelos animais, que a destruição seletiva da população de células NK determina um considerável aumento na sobrevivência de células tumorais injetadas intravenosamente. A reconstituição da atividade NK restaura a resistência a tais metástases (13-15). Muitos estudos em pacientes oncológicos têm documentado uma relação inversa entre atividade NK e doença metastática (16-20), com trabalhos descrevendo uma correlação inversa entre imunidade natural e estágios progressivos de câncer (16-20). Investigadores têm demonstrado que pacientes com carcinomas avançados, incluindo carcinoma de mama e melanomas, possuem função NK menor do que pacientes cuja doença permanece confinada ao local de origem (18).

Para demonstrar a relação entre atividade NK e o desenvolvimento de metástases à distância, Schantz e Goepfert (1987) classificaram 182 pacientes com tumores de cabeça e pescoço, sem tratamento prévio, possuindo

do níveis normais ou baixos de atividade NK (21). O acompanhamento longitudinal demonstrou que aqueles indivíduos com atividade NK mais baixa tinham maior probabilidade de desenvolver metástases à distância. Vários outros trabalhos demonstraram que pacientes com uma variedade de neoplasias tinham a atividade NK diminuída, que uma baixa atividade NK em pacientes cancerosos estava significativamente associada ao desenvolvimento de metástases à distância, e que pacientes tratados de doença metastática apresentavam tempo de sobrevida sem metástases em estreita correlação com a atividade NK (21,22).

ATIVIDADE NK E RISCO DE DESENVOLVIMENTO DE NEOPLASIA

Um questionamento que surge com frequência é se um decréscimo da atividade imune resulta num risco maior de desenvolvimento de neoplasias no homem. Ainda que a atividade NK esteja reduzida numa ampla variedade de neoplasias, não está claro se isto é apenas resultado da doença e se realmente ela está relacionada com o seu desenvolvimento. Existem algumas evidências neste sentido. Pacientes com síndrome de Chediak-Higashi, que apresentam um déficit seletivo e pronunciado da atividade NK, apresentam uma alta incidência de doenças linfoproliferativas (23). Os pacientes com imunodeficiência congênita ou adquirida, cuja atividade NK se encontra deprimida ou ausente, também apresentam uma alta incidência de doenças neoplásicas (24,25). Tais evidências dão suporte à possibilidade de que uma deficiência na atividade de NK contribui para o desenvolvimento de neoplasias e sugerem um papel importante desta atividade na imunovigilância contra células neoplásicas.

Soma-se às observações citadas anteriormente que a baixa atividade NK em indivíduos aparentemente normais está associada a alta incidência de câncer na família (26,27), sugerindo que defeitos na atividade NK, geneticamente determinados, podem contribuir para o desenvolvimento de tumores humanos. Com isto, pode ser possível usar a atividade NK para identificar indivíduos com maior risco de desenvolver câncer - especialmente entre os familiares de pacientes oncológicos.

ATIVIDADE NK COMO FATOR DE RISCO E DE PROGNÓSTICO EM PACIENTES PORTADORES DE NEOPLASIAS

Além da noção de que a imunidade natural comprometida pode estar associada a um aumento na frequência de neoplasias humanas, também existem evidências de que a baixa atividade NK é importante no prognóstico da resposta ao tratamento, recaídas e, especialmente, tempo de sobrevida sem metástases. Por exemplo, em pacientes com

câncer de cabeça e pescoço, foi encontrada uma baixa atividade NK muito tempo antes das metástases serem clinicamente detectadas, sugerindo que a baixa atividade NK pode ser um fator de risco para doenças metastáticas. Além disto, em pacientes com tumores de cabeça e pescoço, o risco de desenvolverem metástases regionais, metástases à distância e morrerem por câncer progressivo era inversamente relacionado à atividade NK anterior ao tratamento (21). Um fator importante no prognóstico de pacientes com câncer de mama, no momento do diagnóstico, é o número de linfonodos axilares positivos encontrados no procedimento cirúrgico. Pacientes com quatro ou mais nódulos contendo células neoplásicas demonstraram ter um prognóstico pior. Foi também verificado um menor número de nódulos positivos em pacientes ambulatoriais que possuíam níveis elevados da atividade NK (28,29). Estes exemplos indicam que as medidas *in vitro* da atividade NK no momento ou no início do tratamento possuem um valor prognóstico para o paciente. Tais resultados necessitam ser adequadamente explorados em estudos prospectivos.

ATIVIDADE NK E DOENÇAS VIRAIS

A atividade NK é considerada como a primeira linha de defesa contra alguns vírus, previamente ao desenvolvimento de anticorpos específicos e células T citotóxicas (30-33). Diversos estudos enfatizam a correlação entre baixa atividade NK e doenças virais graves (7,20,30). Esta correlação é particularmente evidente em pacientes imunodeprimidos, como, por exemplo, naqueles com infecções associadas a imunossupressão após transplantes. Biron et al. (1989) descreveram o caso de uma mulher jovem com completa ausência de atividade NK, porém com resposta normal de células T e B, que sofria de graves infecções ocasionadas pelos vírus da varicela e citomegalovírus (30). Rossi et al. (1993), num estudo com 30 crianças diagnosticadas com infecção respiratória recorrente, encontraram atividade NK significativamente menor que no grupo controle de crianças saudáveis (34). Em geral, pacientes com baixa atividade de NK parecem ter um alto risco de infecções, ou apresentam quadros clínicos mais prolongados ou mais séveros do que aqueles que permanecem com sua atividade NK normal.

ATIVIDADE NK E DOENÇAS AUTO-IMUNES

Pacientes com doenças sistêmicas do tecido conjuntivo, tais como o lúpus eritematoso sistêmico (LES) e Síndrome de Sjögren, com frequência apresentam um prejuízo na atividade NK (35,36). Os pacientes com LES avançado apresentam baixos níveis de atividade NK após

estimulação com interleucina-2 (37). Em algumas patologias, como em doenças auto-imunes da glândula tireóide, a atividade NK parece estar aumentada (38) e em outras, como na esclerose múltipla, diminuída (39). Relativamente pouco sabemos a respeito da atividade NK na patogênese das doenças auto-imunes. Todavia, como tais doenças são freqüentemente associadas a infecções virais repetidas e graves e com neoplasias, um comprometimento na atividade NK pode ser um fator de risco importante.

ATIVIDADE NK E DESORDENS AFETIVAS

Durante a última década, diversos pesquisadores esforçaram-se em determinar quais fatores psicossociais, incluindo o estresse e a depressão, estão associados com o surgimento, curso e resultado de doenças físicas. Particularmente, associação entre depressão maior (DM) e imunidade foi recentemente revisada por alguns autores (40-42). Evidências sugerem que um prejuízo na imunocompetência poderia levar ao risco pela morbidade física e mortalidade (43). Estas relações incluem doenças associadas com o sistema imune, incluindo câncer, alergias, infecções ou doenças auto-imunes.

A avaliação de parâmetros imunes específicos em pacientes com DM revelou na maioria dos casos relações negativas. Neste contexto incluíam-se redução na proliferação linfocitária, leucocitose, monocitose, neutrofilia (42) e atividade NK diminuída (44). Numa recente revisão meta analítica da literatura, Herbert e Cohen (42) encontraram que a depressão está associada com expressivas alterações na imunidade celular. Outros autores verificaram que alteração na atividade NK está inversamente correlacionada com a severidade da depressão e idade do paciente. Ou seja, parece que os pacientes mais idosos e severamente deprimidos são os mais afetados imunologicamente.

Particularmente em nosso laboratório, observamos uma diminuição significativa ($p < 0,001$) da atividade NK em pacientes com depressão maior - subtipo unipolar (dados não publicados). Entretanto, não foi relatada qualquer alteração na proliferação linfocitária ou na produção de imunoglobulinas (IgG, IgM e IgA). Interessantemente, verificamos que pacientes que possuíam uma história familiar de doença psiquiátrica detinham uma atividade NK menor do que os indivíduos sem história familiar. Estes resultados implicam a existência de alterações genéticas envolvendo o quadro depressão-imunidade celular.

ATIVIDADE NK NOS TECIDOS

Ainda que a atividade NK seja preferencialmente medida no sangue periférico, ela aparece em todos os

tecidos do organismo. A atividade NK normalmente é maior no fígado que no sangue. Atividade NK diminuída foi observada em linfócitos de um infiltrado tumoral, obtidos de carcinoma hepatocelular. Por outro lado, um significativo acréscimo da atividade NK foi detectado em hepatites do tipo não A não B (45). A atividade NK num tecido inflamado, onde se desenvolvem doenças auto-imunes e neoplasias, é provavelmente mais importante que ao nível periférico, pois deve estar estritamente regulada com o contexto de infecção. Mais pesquisas são necessárias neste sentido.

MODULAÇÃO DA ATIVIDADE NK

À medida que o papel da atividade NK na vigilância imunológica fica cada vez mais esclarecido, cresce o interesse na possibilidade de regulação desta atividade visando a possíveis aplicações terapêuticas. Os autores analisam alguns destes moduladores da resposta biológica, capazes de interagir com a atividade NK.

MODULAÇÃO DA ATIVIDADE NK POR CITOCINAS

As citocinas são grupos heterogêneos de substâncias capazes de mediar as interações celulares necessárias para responder a um dado estímulo antigênico (9). Entre elas encontram-se o interferon- γ e a interleucina-2 (IL-2). A propriedade biológica mais característica da IL-2 é a capacidade de manter a proliferação em cultura de células T previamente ativadas por mitógenos ou aloantígenos (2). Suas atividades, no entanto, não se restringem à ação estimuladora da proliferação, podendo amplificar a atividade citotóxica de células T *in vitro* independentemente da divisão celular (2,4). Entre os linfócitos, as células NK são as primeiras a responder à ativação pela IL-2 devido ao fato de expressarem constitucionalmente a cadeia β do receptor para IL-2 (1). Como conseqüência, a incubação de linfócitos do sangue periférico com IL-2 induz a ativação seletiva de células com atividade NK e, posteriormente, o desenvolvimento de proliferação e atividade de células LAK¹ (4,46).

O efeito da IL-2 pode levar longos períodos para se manifestar, como é o caso da atividade LAK, que é visto apenas após 48 horas (47-50). No entanto, a IL-2 é capaz de atuar de maneira extremamente rápida *in vitro*, na estimulação direta de diversos tipos de citotoxicidades, entre os quais se encontra a atividade NK. Nesta são necessários apenas minutos para que o efeito ocorra (51-54). Também pode ser verificado um efeito *in vivo* da IL-2 na atividade NK, visto que a injeção desta citocina foi capaz de aumentar essa atividade em animais experimentais (55,56). No homem, a infusão de IL-2 é dose-limitada, devido à sua toxicidade,

¹ LAK: Células NK ativadas por Linfocinas.

associada à retenção de fluidos e febre (57). Em resposta à IL-2, uma pequena porcentagem de células com atividade NK (10 a 30%) adquire, em minutos, a habilidade de aderir *in vitro* ao plástico ou outras superfícies sólidas. Todas as células NK se tornam ativadas na presença de IL-2 ou outras citocinas, porém aquelas que aderem à superfície plástica proliferam melhor e apresentam um nível de atividade antitumoral *in vitro* significativamente maior do que as que não aderem (1). Dentre as alterações que ocorrem temos que as células ativadas, especialmente aquelas do subtipo aderente, se tornam altamente móveis e desenvolvem estruturas de membrana denominadas podossomas – aumentando a capacidade de adesão no endotélio, a migração transendotelial, bem como a capacidade citotóxica (58,59).

Além da IL-2, as células NK sofrem ativação e expansão na presença de outras citocinas como a IL-4, IL-6, IL-12 ou TNF- α (1). Foi demonstrado também que os interferons (IFN- α , β ou γ) são potentes ativadores da atividade NK, sendo que ao mesmo tempo estas substâncias conferem resistência às células-alvo (4). Particularmente, IFN- α ou - β aumentam a resistência das células à infecção viral.

MODULAÇÃO DA ATIVIDADE NK POR PEPTÍDIOS OPIÓIDES

Substâncias opiáceas (com propriedades de analgesia) como a β -endorfina e as encefalinas, são liberadas em condições de estresse severo e são capazes de aumentar a atividade NK *in vitro* (60,61). Tal regulação parece envolver receptores clássicos, já que pode ser inibida pelo antagonista naloxone (60).

Observações confirmam que o estresse pode aumentar ou reduzir o crescimento tumoral, embora com mecanismo ainda desconhecido (62). É possível que a liberação endógena de opióides esteja envolvida nestas interações. Estudos estão sendo conduzidos sobre o efeito dos opióides na modulação *in vitro* das células NK ativadas por IL-2 em pacientes com depressão maior e controles saudáveis.

ATIVIDADE NK E TRATAMENTO

A despeito do desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos, o tratamento de infecções bacterianas, virais e por fungos permanece um problema, em especial nos pacientes imunodeprimidos. O tratamento de pacientes oncológicos também possui dificuldades, em especial nos estágios avançados. Uma abordagem alternativa que tem sido pesquisada seria restaurar ou aumentar a resistência do hospedeiro, já que mesmo a utilização dos mais potentes fármacos é ineficaz na ausência de uma resposta das defesas do indivíduo. Tendo em vista os aspectos anteriormente revisados, pode-se prever que níveis cronicamente

baixos de atividade NK em pacientes oncológicos ou outras doenças podem estar associados a uma sintomatologia mais severa e/ou risco aumentado de progressão da doença. Sabe-se, por exemplo, que as células com atividade NK estão entre os linfócitos produtores de interferon- γ que influenciam positivamente o curso de doenças infecciosas causadas por patógenos intracelulares como o *Toxoplasma gondii* (63), o *Trypanosoma cruzi* (64) e outros. Pode, então, ser vantajoso para pacientes cancerosos, ou com doenças que causam imunodeficiência, receber tratamento com o objetivo de aumentar a atividade NK. Esta terapia é realizada hoje em dia em alguns centros especializados, constando de: (i) tentativas de aumentar a atividade NK *in vivo* pela administração de compostos que reconhecidamente potencializam esta atividade; (ii) transferência de linfócitos autólogos ativados sistemicamente ou (iii) no sítio da enfermidade.

POTENCIALIZAÇÃO DA ATIVIDADE NK *IN VIVO*

Uma variedade de agentes, geralmente denominados moduladores das respostas biológicas, é conhecida por aumentar a ativação, a proliferação e a citotoxicidade de células com atividade NK. Outros, ainda, promovem um aumento de linfócitos com atividade NK nos tecidos, a exemplo do pulmão e fígado, resultando numa alta atividade citotóxica local. Uma lista parcial dos modificadores da resposta biológica mais comumente utilizados é apresentada na Tabela 1. Entre eles temos citocinas como os interferons, IL-2 e IL-12, produtos bacterianos, lectinas derivadas de plantas e anticorpos monoclonais. Muitos destes modificadores da resposta biológica, especialmente interferon- α e a IL-2, estão sendo utilizados no tratamento do câncer e doenças infecciosas, para aumentar a atividade e o número de células NK (65).

TABELA 1 – MODIFICADORES DA RESPOSTA BIOLÓGICA CAPAZES DE MODULAR A ATIVIDADE NK *IN VITRO* (1)

Citocinas: IL-2, IL-12, interferon- α .

Indutores do Interferon: polirribonucleotídeos.

Picibanil (OK432) e outros produtos de origem bacteriana ou de fungos.

Anticorpos monoclonais que se ligam a estruturas de "gatilho" das células NK (e.g. anti-CD16).

Produtos originários de plantas: lentinan.

TRANSFERÊNCIA DE CÉLULAS NK *IN VIVO*

Com base no efeito antimetastático já documentado das células NK, imunoterapia (i.e. terapia adotiva) através da transferência de células NK ativadas com citocinas

tem sido preferencialmente utilizada em pacientes com neoplasias avançadas (66,67). Linfócitos estimulados com IL-2 (i.e. células LAK) são usados no tratamento de pacientes com melanoma metastático e carcinoma de células renais. O resultado destas primeiras tentativas tem sido somente medianamente encorajador, já que a taxa de resposta clínica objetiva alcançada foi de aproximadamente 20-30% (68).

Ensaio clínico utilizando células com atividade NK, obtidas do sangue periférico do paciente, selecionadas e expandidas *in vitro*, têm sido utilizados em estudos mais recentes. A transferência de um subtipo selecionado de células efetoras antitumorais pode ser terapêuticamente mais eficaz e possivelmente requer doses mais baixas de citocinas para estimular a atividade NK *in vivo*. Além disso, a infusão de células com atividade NK ativadas, junto com IL-2, diretamente no sítio da metástase, pode ser a abordagem terapêutica mais promissora (1).

PERSPECTIVAS

Um número crescente de trabalhos relata as implicações da atividade NK sobre a saúde e doença humanas. Estudos demonstram sua importância para o acompanhamento e tratamento em diversas situações clínicas, sobretudo em pacientes com neoplasias. Diversos grupos buscam alternativas para intensificar a estimulação da atividade NK em pacientes cancerosos em estágio avançado como forma de tratamento adjuvante. Nesse sentido, o estudo com as células A-NK possivelmente trará resultados mais promissores. Sabemos, entretanto, muito pouco sobre a regulação e manutenção desta atividade *in vivo*. Fatores psicológicos (e.g. depressão, estresse), hormonais e nutricionais estão envolvidos na manutenção diária da atividade NK. Um melhor entendimento dos mecanismos que regulam a atividade NK resultará numa compreensão adequada dos fatores envolvidos na manutenção de sua fisiologia normal ou alterada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHITESIDE T, HERBERMAN R. The Role of Natural Killer Cells in Human Disease. *Clin Immunol Immunopathol*, 1989; 53: 1-23.
2. ABBAS A, LICHTMAN A, POBER J. *Cellular and Molecular Immunology*. 2ª ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994.
3. ROBERTSON M, RITZ J. Biology and clinical relevance of human natural killer cells. *Blood*, 1990; 76: 2421-2438.
4. TRINCHIERI G. Biology of natural killer cells. *Adv Immunol*, 1989; 47: 187-376.
5. BAUER M, GAUER G, NARDI N. Depressão maior e atividade do sistema imunológico. *Revista ABP-APAL*, 1993; 15: 87-94.
6. PLAEGER-MARSHALL S, SPINA C, GIORGI J et al. Alterations in cytotoxic and phenotype subsets of natural killer cells in AIDS. *J Clin Immunol*, 1987; 7: 16-23.

7. PURTILO D, STROBACH R, OKANO M et al. Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders. *Lab Invest*, 1992; 67: 5-19.
8. MAES M, STEVENS W, PEETERS D et al. A study on the blunted natural killer cell activity in severely depressed patients. *Life Sci*, 1992; 50: 505-513.
9. RODRIGUEZ L. Estudos da modulação da atividade natural killer. Universidade Estadual do Rio de Janeiro, RJ, Tese de Mestrado, 1987.
10. WHITESIDE T, BRYANT J, HERBERMAN R. Natural killer cytotoxicity in the diagnosis of immune dysfunction: criteria for a reproducible assay. *J Clin Lab Anal*, 1990; 4: 102-114.
11. YOUNG J, COHN Z. How killer cells kill. *Sci Am*, 1988; 6: 38-44.
12. LEWIS C, MCGEE J. *The Natural Killer Cell*. Oxford, Oxford University Press, 1992.
13. BARLOZZARI T, REYNOLDS C, HERBERMAN R. *In vivo* role of natural killer cells: Involvement of large granular lymphocytes in the clearance of tumor cells in anti-sialoside GM1-treated rats. *J Immunol*, 1983; 131: 1024.
14. HANNA N. Role of natural killer cell in control of cancer metastasis. *Cancer Metastasis Rev*, 1982; 1: 45.
15. POLLACK S, HOLLENBECK L. *in vivo* reduction of NK activity with anti-NKI serum: Direct evaluation of NK cells in tumor clearance. *Int J Cancer*, 1982; 29: 203-207.
16. INTRONA M, MANTOVANI A. Natural killer cells in human solid tumors. *Cancer Metastasis Rev*, 1983; 2: 337.
17. PROSS H, BAINES M. Spontaneous human lymphocyte-mediated cytotoxicity against tumor target cells. The effect of malignant disease. *Int J Cancer*, 1976; 18: 593-604.
18. STEINHAUER E, DOYLE A, Reed J et al. Effective natural cytotoxicity in patients with cancer: Normal number of effector cells but decreased recycling capacity in patients with advanced disease. *J Immunol*, 1982, 129: 2255-2259.
19. TAKASUGI M, RAMSEYER A, TAKASUGI J. Decline of natural nonselective cell-mediated cytotoxicity in patients with tumor progression. *Cancer Res*, 1977; 37: 413-418.
20. TRINCHIERI G, PERUSSIA B. Human natural killer cells: Biologic and pathologic aspects. *Lab Invest*, 1984; 50: 489-513.
21. SCHANTZ S, GOEPFERT H. Multi modality therapy and distant metastasis: The impact of natural killer cell activity. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1987; 113: 1207-1213.
22. HERMAN J, KEW M, RABSON A. Defective interleukin-1 production by natural killer cells of patients with cancer. *Cancer Immunol Immunother*, 1985; 19: 148-153.
23. RODER J, HALIOTIS T, KLEIN et al. A new immunodeficiency disorders in humans involving NK cells. *Nature*, 1980; 284: 553-555.
24. STIEHM E. New and old immunodeficiencies. *Pediatr Res*, 1993; 33(Suppl):S2.
25. RITZ, J. The role of natural killer cells in immune surveillance. *N Engl J Med*, 1989; 320: 1789.
26. STRAYER D, CARTER W, MAYBERRY S et al. Low natural cytotoxicity of peripheral blood mononuclear cells in individuals with high familial incidences of cancer. *Cancer Res*, 1984; 44: 370-374.
27. HERSEY P, EDWARDS A, HONEYMAN M et al. Low natural killer-cell activity in familial melanoma patients and their relatives. *Brit J Cancer*, 1979; 40: 113-122.
28. HENDERSON C, CANELLOS G. Cancer of the breast: The past decade. *N Engl J Med*, 1980; 30: 302-317.
29. LEVY S, HERBERMAN R, LIPPMAN M et al. Prognostic risk assessment in primary breast cancer by behavioral and immunological parameters. *Health Psychol*, 1985; 4: 99-113.
30. BIRON C, BYRON K, SULLIVAN J. Severe herpesvirus infections in an adolescent without natural killer cells. *N Engl J Med*, 1989; 320: 1731.

31. SANTOLI D, TRINCHIERI G, LEIF F. Cell-mediated cytotoxicity against virus-infected target cells in humans. Characterization of the effector lymphocytes. *J Immunol*, 1978; 121: 526-531.
32. WELSH R. Regulation of virus infections by natural killer cells. *Nat Immun Cell Growth Regul*, 1986; 5: 169-199.
33. LOPEZ C, FITZGERALD P, SIEGAL F. Severe acquired immune deficiency syndrome in male homosexuals: Diminished capacity to make interferon alpha *in vitro* associated with severe opportunistic infections. *J Infect Dis*, 1983; 148: 962-966.
34. ROSSI M. Effect of a polyvalent bacterial preparation on natural killer cell activity in children with recurrent respiratory infections. *International J Immunol*, 1993; 9: 225-233.
35. HOFFMAN T. Natural killer function in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatoids*, 1980; 23: 30-35.
36. STRUYF N, SNOECK H, BRIDTS C et al. Natural killer cell activity in Sjögren's syndrome and systemic lupus erythematosus: stimulation with interferons and interleukin-2 and correlation with immune complexes. *Ann Rheumatic Dis*, 1990; 49: 690-693.
37. EGAN M, MENDELSON S, ABO T et al. Natural killer cells in systemic lupus erythematosus: Abnormal numbers and functional immaturity of HNK1⁺ cells. *Arthritis Rheumatoids*, 1983; 26: 623-629.
38. HIDAKA Y, AMINO Y, IWATANI Y et al. Increase in peripheral natural killer cell activity in patients with autoimmune thyroid disease. *Autoimmunity*, 1992, 11:239-246.
39. BENCZUR M, PETRANYI F, VARGA M et al. Dysfunction of natural killer cells in multiple sclerosis: A possible pathogenetic factor. *Clin Exp Immunol*, 1980; 39: 657-662.
40. ADER R, FELTEN D, COHEN N. *Psychoneuroimmunology*. 2ª ed San Diego: Academic Press, 1991.
41. BAUER M, GAUER G, NARDI N. Depressão maior e atividade do sistema imune. *Revista ABP-APAL*, 1993; 15: 87-94.
42. HERBERT T, COHEN S. Depression and immunity: a meta-analytic review. *Psychol Bull*, 1993; 113: 472-486.
43. ZONDERNAN A, COSTA P, McCRAE R. Depression as a risk for cancer morbid mortality in a nationally representative sample. *JAMA*, 1989; 1191-1195.
44. MAES M, STEVENS W, PEETERS D et al. A study on the blunted natural killer cell activity in severely depressed patients. *Life Sci*, 1992, 50: 505-513.
45. HATA K, VAN THIEL D, HERBERMAN R et al. Natural killer activity of human liver-derived lymphocytes in various hepatic diseases. *Hepatology*, 1991; 14: 495- 503.
46. HERCEND D, SCHMIDT R. Characteristics and uses of natural killer cells. *Immunol Today*, 1988; 9: 291-293.
47. BALLAS Z. Lymphokine-activated killer (LAK) cells: Differential recovery of LAK, natural killer cells, and cytotoxic T lymphocytes after a sublethal dose of cyclophosphamide. *J Immunol*, 1986; 137: 2380-2384.
48. VITOLO D, VUJANOVIC N, RABINOWICH H et al. Rapid interleukin-2 induced adherence of human natural killer (NK) cells: expression of mRNA for cytokines and IL2 receptors in adherent NK cells. *J Immunol*, 1993; 151: 1926-37.
49. RAYNER A, GRIMME, LOTZE M et al. Lymphokine-activated killer (LAK) cells: analysis of factors relevant to the immunotherapy of human cancer. *Cancer*, 1985; 55: 1327-1333.
50. GRIMM E. Human lymphokine-activated killer cells (LAK cells) as a potential immuno-therapeutic modality. *Biochemistry and Biophysics Acta*, 1986; 865: 267-279.
51. FAGRAEUS A, EHRNST A, KLEIN E et al. Characterization of blood mononuclear cells reacting with K562 cells after yellow fever vaccination. *Cell Immunol*, 1982; 67:37-48.
52. ROBINSON B, MORSTYN G. Natural killer (NK) resistant human lung cancer cells are lysed by recombinant interleukin-2 activated NK cells. *Cell Immunol*, 1987; 106: 215-222.
53. SHAW A, BLEACKLEY R, MERRYWEATHER J et al. Modulation of human natural killer cell activity by recombinant human interleukin 2. *Cell Immunol*, 1985, 90: 547- 554.
54. SVEDERSKY L, SHEPARD H, SPENCER S et al. Augmentation of human natural cell-mediated cytotoxicity by recombinant human interleukin 2. *J Immunol*, 1984; 133: 714-718.
55. HEFENEIDER S, CONLON P, HENNEY C et al. *In vivo* interleukin 2 administration augments the generation of alloreactive cytolytic T lymphocytes and resident natural killer cells. *J Immunol*, 1983; 130: 222-227.
56. SAXENA R, SAXENA Q, COLLINS G et al. Augmentation of spleen natural killer activity in mice treated with interleukin 2 preparation. *Indian. J Exp Biol*, 1983; 21: 54-60.
57. BINDON C, CZERNIECKI M, RUELL P et al. Clearance rates and systemic effects of intravenously administered interleukin 2 (IL 2) containing preparations in human subjects. *Brit J Cancer*, 1983; 47: 123-133.
58. MELDER R, WALKER E, HERBERMAN R et al. Adhesion characteristics of human interleukin 2-activated natural killer cells. *Cell Immunol*, 1991; 132: 177-192.
59. WHITESIDE T, HERBERMAN R. Extravasation of antitumor effector cells. *Invasion Metastasis*, 1992; 12: 128-46.
60. BLALOCK J. A molecular basis for bidirectional communication between the immune and neuroendocrine systems. *Physiol Rev*, 1989; 69: 1-32.
61. TECOMA E, HUEY L. Psychic distress and the immune response. *Life Sci*, 1985; 36: 1799-1812.
62. MATHEWS P, FROELICH C, SIBBITT W, BANKHURST A. Enhancement of natural cytotoxicity and their relation to pharmacological actions. *J Immunol*, 1983; 130: 1658-1662.
63. SUZUKI Y, CONLEY F, REMINGTON J. Treatment of toxoplasmic encephalitis in mice with recombinant gamma-interferon. *Infect Immun*, 1990; 58: 3050-3055.
64. REED S. *In vivo* administration of INF- γ induces macrophage activation, and prevents acute disease, immune suppression, and death in experimental trypanosoma cruzi infections. *J Immunol*, 1988; 140: 4342-4347.
65. CALIGIURI M, MURRAY C, ROBERTSON M et al. Selective modulation of human natural killer cells *in vivo* after prolonged infusion of low dose recombinant interleukin 2. *J Clin Invest*, 1993; 91: 123-132.
66. WHITESIDE T, HERBERMAN R. Characteristics of natural killer cells and lymphokine-activated killer cells: their role in the biology and treatment of human cancer. *Immunology Allergy Clinical North America*, 1990, 10: 663-704.
67. HERCEND T, FARACE F, BAUME D et al. Immunotherapy with lymphokine-activated natural killer cells and recombinant interleukin 2: a feasibility trial in metastatic renal cell carcinoma. *J Biol Resp Modul*, 1990; 9: 546-555.
68. ROSENBERG S, LOTZE M, YANG J et al. Prospective randomized trial of high-dose interleukin-2 alone or in conjunction with lymphokine-activated killer cells for the treatment of patients with advanced cancer. *J Nat Cancer Inst*, 1993, 85: 622- 632.

VIII

ASPECTOS BIOLÓGICOS NA ETIOLOGIA DA DEPRESSÃO MAIOR

Kleber P. Rodrigues Neto^{*}
Michelle I. Oliveira^{**}
Moisés E. Bauer^{***}
Rosane H. Gauer^{****}
Gabriel C. Gauer^{*****}

UNITERMOS

Depressão maior; Distúrbios do humor; Psiconeurobiologia; Neurotransmissores; Neuroendocrinologia

SUMÁRIO

A etiologia dos distúrbios do humor é ainda uma questão controversa. Várias teorias já foram formuladas, mas nenhuma esclarece totalmente as observações na clínica médica. Alterações neuroquímicas, anatômicas, endócrinas, do sono e do ritmo circadiano e psicodinâmicas já foram implicadas na etiologia da depressão maior (DM). Estudos genéticos suportam a idéia de um comprometimento biológico no paciente deprimido. O presente estudo revisa alguns dos principais pontos a propósito das teorias biológicas na etiologia da DM, relatando hipóteses atuais e fornecendo novas idéias para futuras intervenções no diagnóstico e na terapêutica desta enfermidade.

INTRODUÇÃO

O termo depressão pode possuir diversos significados que vão desde flutuações normais no estado do humor, situações de luto, rea-

* Doutorando da Faculdade de Medicina da PUCRS, monitor de pesquisa em psiquiatria.

** Acadêmica de Medicina da PUCRS, monitora de pesquisa em psiquiatria.

*** Acadêmico de biologia - ênfase em genética da UFRGS.

**** Médica especialista em psiquiatria pela UFRGS.

***** Professor auxiliar do Departamento de Psiquiatria e Medicina Legal da PUCRS.

ções transitórias a traumas e perdas, até a síndrome completa que caracteriza o episódio de Depressão Maior (DM), de acordo com os critérios da DSM-IV². Nesta classificação, o diagnóstico de Depressão Maior encontra-se incluído nos Transtornos do Humor.

Apesar da importância de fatores ambientais e vivências infantis para o desenvolvimento das depressões; recentemente, muitas descobertas têm sido feitas a propósito da contribuição dos fatores biológicos. Os quadros depressivos não costumam se apresentar com uma sintomatologia única. Ao contrário, esta pode ser tão variada quanto a insônia ou, seu oposto, a hipersonia. O curso clínico também é muito variável, com aproximadamente 40% dos pacientes apresentando uma recuperação total, 40% apresentando um curso episódico e 20% com curso crônico. Tal variabilidade na apresentação clínica pode estar relacionada com uma diversidade também em relação a etiologia¹⁴. O presente estudo revisa os principais pontos na etiologia da DM, relatando hipóteses atuais e fornecendo novas idéias para futuras intervenções no diagnóstico e na terapêutica desta enfermidade.

NEUROTRANSMISSORES

O papel de neurotransmissores específicos na etiologia e/ou manutenção dos distúrbios do humor é ainda pouco claro. Na década de 50 ocorreu uma verdadeira revolução na psiquiatria com a descoberta de diversos psicofármacos. No final daquela década, observou-se que os inibidores da monoaminoxidase (IMAO), usados no tratamento das depressões, aumentavam as concentrações de noradrenalina e serotonina citoplasmáticas. Igualmente verificou-se que os antidepressivos tricíclicos eram eficazes no tratamento das depressões graves e tinham a capacidade de bloquear a recaptção neuronal dos neurotransmissores noradrenalina e serotonina. Como este é o principal mecanismo de remoção desses neurotransmissores da fenda sináptica, este efeito poderia ser considerado como potencializador da neurotransmissão por essas substâncias. As anfetaminas, que possuem um efeito euforizante, aumentam a liberação e bloqueiam a recaptção das monoaminas. Por outro lado, fármacos como a reserpina que depletam as monoaminas podem induzir quadros de depressão. Baseado nestes dados é que surgiram as hipóteses monoaminérgicas da depressão.

NORADRENALINA

Em alguns pacientes deprimidos foi encontrado uma diminuição dos níveis urinários de 3-metoxi-4-hidróxi-fenilglicol (MHPG), que é um metabólito da noradrenalina. Baseado, principalmente, nestas evidências é que surgiu a primeira teoria da etiologia biológica da depressão. De acordo com a teoria monoaminérgica clássica a depressão seria decorrência de uma diminuição da atividade noradrenérgica pós-sináptica³. Além disso, baseado em evidências neurológicas e comportamentais, a depressão poderia ser entendida como uma deficiência da noradrenalina em circuitos cerebrais de recompensa que utilizam este neurotransmissor¹³.

A partir da década de 70 esta hipótese foi questionada. Um dos primeiros problemas é o fato de que o bloqueio na recaptação neuronal da noradrenalina é um efeito imediato dos antidepressivos tricíclicos e, para ocorrer uma resposta terapêutica evidente, com frequência é necessário um período de 4 a 6 semanas. A eficácia clínica de alguns antidepressivos tricíclicos não está relacionada à sua potência em bloquear a recaptação de neurotransmissores. Sendo, ainda, que alguns antidepressivos eficazes como a mianserina não bloqueiam a recaptação de monoaminas e não inativam a MAO.

Uma explicação possível surgiu através de estudos dos receptores para noradrenalina. Foi demonstrado que o uso por 2 a 3 semanas, em animais de laboratório, de antidepressivos tricíclicos, provoca alterações nestes receptores. Uma das mais consistentes teorias é a da diminuição do número de receptores beta-adrenérgicos. Estes achados levaram a hipótese de que na realidade existiria uma hiperatividade noradrenérgica. Entretanto, questões como o fato dos beta bloqueadores tipo o propranolol causarem depressão vão contra esta hipótese. Somou-se, ainda, evidências cada vez mais importantes da participação de outros neurotransmissores como a serotonina e a dopamina na depressão.

SEROTONINA

A serotonina tem sido descrita como um neurotransmissor inibitório no córtex cerebral, mas, dependendo de qual receptor é ativado, ela também pode iniciar uma excitação. Por estarem, os sistemas serotoninérgicos centrais, envolvidos no controle de várias funções somáticas que se encontram desreguladas durante a depressão (ex.

sono, apetite, atividade locomotora e agressão)¹, certas linhas de evidências sugerem que alguns pacientes com depressão podem ter um metabolismo e fisiologia alterados da serotonina (5-HT). Um grande número de estudos têm encontrado que pacientes deprimidos e suicidas apresentam baixas concentrações de 5-HT e 5-HIAA (ácido 5-hidroxi-indoleacético) cerebrais e líquóricas. ÅGREN et al. (1991), em um estudo com tomografia por emissão de pósitrons, relataram uma captação significativamente mais baixa de 5-Hidroxitriptofano, um precursor da serotonina, através da barreira hemato-encefálica em pacientes deprimidos. Além disso, os antidepressivos também potencializam a transmissão serotoninérgica, e os precursores da serotonina apresentam ação antidepressiva, especialmente quando combinados com inibidores da MAO¹.

Agentes farmacológicos que estimulam sistemas serotoninérgicos centrais causam a liberação de prolactina e/ou cortisol, sabidamente alterados em indivíduos com distúrbio depressivo maior. Alguns estudos encontraram uma resposta moderadamente aumentada no nível de cortisol sérico e um aumento significativo de prolactina à infusão de L-5 hidroxitriptofano, um precursor da serotonina, em pacientes com DM.^{22; 25; 33}

Atualmente alguns resultados entram em conflito com a hipótese serotoninérgica acima proposta. Existe uma descrição de um número cada vez maior de receptores com ações distintas. O uso crônico de antidepressivos diminui o número dos receptores 5-HT₂ e causa um aumento da responsividade eletrofisiológica dos 5-HT_{1A} pós-sinápticos.

Uma explicação alternativa para as teorias acima levantadas seria a existência de um balanço de aminas na fenda sináptica, que por sua vez determinaria a natureza do fenômeno depressivo observado. Esta idéia está baseada no fato de que drogas anti-serotoninérgicas pioram a mania; contrariamente, adicionando L-triptofano a baixas doses de fenotiazina, estas melhoram o quadro de mania³⁴. Estes resultados sugerem que aumentando a disponibilidade de serotonina na mania, diminui-se a sintomatologia, e que drogas estimuladoras de catecolaminas podem causar a mania. Existem ainda resultados indicando que a atividade dopaminérgica poderia estar reduzida na depressão e aumentada na mania¹⁹.

PRICE et al (1991) demonstraram que o tipo de sintomatologia predominante em pacientes deprimidos (melancólicos x não melancólicos) está associada a uma resposta alterada da prolactina e do hormônio do crescimento à infusão de L-Triptofano²⁸. Baseado nestes

achados podemos pensar que as alterações a nível de serotonina estejam vinculadas a quadros clínicos específicos. Recentemente as alterações no sistema serotoninérgico tem sido associadas aos quadros clínicos de depressão atípica, como a Disforia Histeróide, Síndrome Pré-Menstrual e a DM com padrão sazonal. Estes pacientes, muitas vezes, apresentam um acréscimo na ingesta de carboidratos e isto tem sido considerado como uma espécie de auto-medicação, já que eles aumentam os níveis séricos de triptofano¹⁹.

PSICONEUROENDOCRINOLOGIA

A psiconeuroendocrinologia é um ramo da medicina que tem por objetivo o estudo da interrelação entre os três sistemas de controle que tem o organismo humano: o psicológico, representados pelos sistemas límbico-paralímbico-pineal; o neurológico, representado pelo sistema nervoso central e periférico; e o endocrinológico, representado pelos eixos hipotálamo-hipófise-periféricos.⁶

Alterações endócrinas têm sido relacionadas com a depressão. Sabe-se, por exemplo, que a gravidez em mulheres é uma condição frequentemente associada a quadros de DM. Da mesma forma são relatadas alterações do humor relacionadas ao ciclo menstrual e uso de contraceptivos orais. Porém as alterações mais estudadas são aquelas relacionadas ao eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA).

O sistema límbico cada vez mais tem sido relacionado com o eixo HPA. Sabe-se, por exemplo, que ele pode não só estimular o eixo HPA, como é o principal mediador de sua inibição, além de influenciar na regulação do ritmo circadiano. O sistema límbico é o principal promotor da adaptação do organismo ao ambiente externo, na medida em que modula as respostas aos estímulos de acordo com experiências passadas e adequação à situação atual, avaliando seu significado emocional. Devido a função do sistema límbico na regulação da síntese da corticotropina, já foi proposta a denominação de eixo LHPA, isto é, límbico-hipotálamo-hipófise-adrenal³.

O EIXO HPA NA DEPRESSÃO

O eixo HPA tem sido extensivamente estudado nas doenças afetivas. O fator de liberação da corticotrofina (CRF), um peptídeo hipotalâmico, estimula a liberação de hormônio adrenocorticotrófico

(ACTH) da hipófise anterior. O ACTH faz com que o córtex adrenal secrete cortisol que, por sua vez, regula a liberação posterior de CRF do hipotálamo, conforme é demonstrado na Figura 1.¹⁷

Há alguns anos têm sido documentadas alterações no eixo HPA em pacientes com depressão. O teste de supressão pela dexametasona (TSD), desde os anos 60, começou a ser empregado, de uma forma adaptada, para diferenciar as depressões do tipo endógeno e não-endógeno. Normalmente a administração de corticóide exógeno deve inibir o nível de cortisol endógeno. Este teste se encontra alterado em 50% das depressões endógenas, aumentando sua freqüência quanto menor seja a idade de início e maior seja a causa psicótica da depressão⁶.

Existem muitas evidências que o eixo HPA se encontre superestimulado na depressão. Um dos primeiros estudos sobre este tema encontrou aumento dos níveis plasmáticos, aumento do tempo ativo e do número dos episódios secretórios de cortisol nos pacientes deprimidos, quando comparados a controles normais²⁹. Outros estudos demonstram diferenças nas respostas do ACTH, β -endorfina, prolactina, ou aldosterona à administração da dexametasona, quando comparados pacientes deprimidos com controles normais, ou supressores com não supressores^{15; 24}.

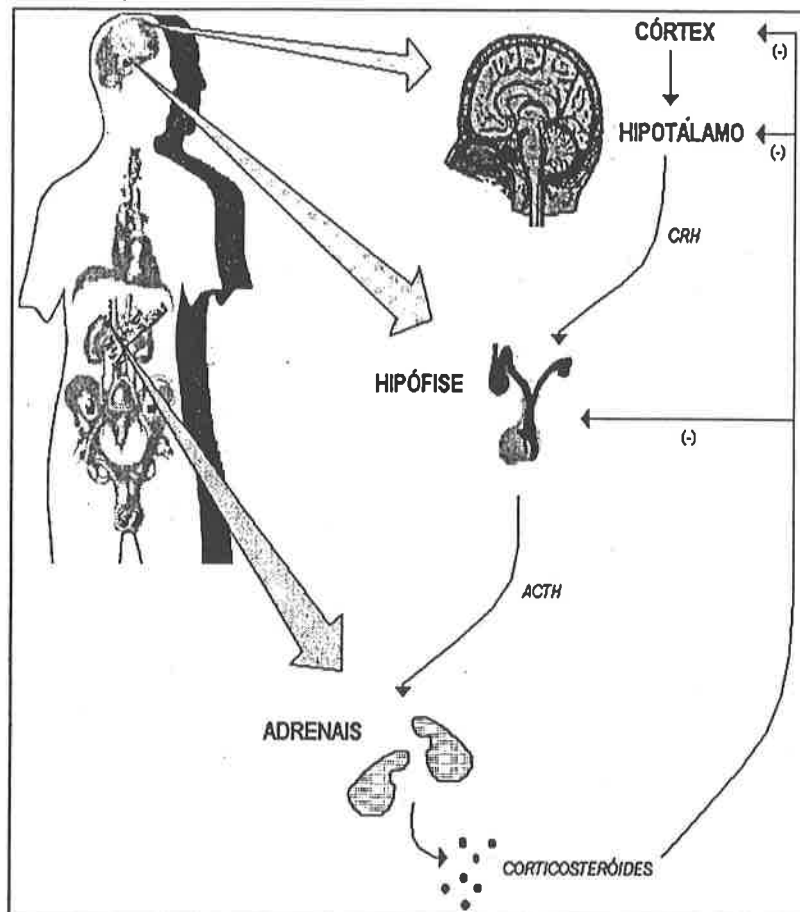
Foi encontrado aumento da secreção de β -endorfina em pacientes depressivos e esquizoafetivos, quando comparados a controles normais e/ou outros transtornos mentais, após a administração de fisostigmina, sugerindo hiperatividade colinérgica associada. Os pacientes deprimidos também apresentam níveis mais altos de CRH no líquor comparados a controles normais, esquizofrênicos e pacientes com demência senil²⁷. Também foi encontrado níveis elevados de CRH líquóricos em não-supressores comparados a supressores, em relação direta com os níveis de cortisol após o TSD³².

Tendo como base o que apresentamos até o momento, parece haver um excessivo estímulo límbico-hipotalâmico à glândula pituitária, o que pode ocorrer inclusive em períodos de taxa basal de secreção de cortisol (à tarde e à noite), abolindo o padrão circadiano.

A hipersecreção de CRH hipotalâmico tem sido implicada como responsável pela hiperatividade do eixo. A administração sistêmica de CRH em pessoas normais provoca grande aumento do ACTH e cortisol plasmáticos, mas em deprimidos a resposta do ACTH é menor, e do cortisol, normal ou aumentada^{10; 16}. A administração crônica de CRH em ratos produz hipertrofia pituitária e adrenal, aumento plasmático de corticosterona, mas não do ACTH⁹. A infusão contínua em

voluntários humanos de CRH durante 24 horas reproduz os degressos da hipercortisolemia da hipótese levantada anteriormente³¹.

FIGURA 1:



A figura ilustra o funcionamento do eixo HPA. O fator liberador da corticotrofina (CRH) atua na hipófise e induz a liberação sistêmica do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Este, por sua vez, estimula a porção cortical das supra-renais a produzirem corticosteróides. Os corticosteróides, através da circulação sistêmica, chegam ao hipotálamo e à hipófise e se ligam aos receptores inibitórios, realizando retro-alimentação ("feed back") negativa.

Em muitos casos é difícil separar estresse da depressão, sendo que o próprio estresse oculto em pacientes depressivos pode provo-

car aumento da secreção de CRH. Ratos submetidos a estresse crônico tornam-se não supressores, em relação ao ACTH, β -endorfina e corticosterona, quando comparados a controles normais. Inclusive a retroalimentação ("feed back") negativa pode tornar-se positiva, sugerindo que o estresse crônico pode provocar distúrbios na regulação do eixo HPA. Somente nas suas formas isoladas, o estresse crônico aumenta a responsividade do ACTH ao CRH, enquanto que a depressão diminui. Uma outra explicação para a hipersecreção de CRH, que vem tendo grande aceitação, seria que os pacientes deprimidos apresentam uma resistência aos efeitos dos glicocorticóides. Isto inclusive poderia ser uma das explicações para a dissociação entre atividade do eixo HPA e alterações imunes nos pacientes deprimidos^{11; 16; 20}.

Várias evidências clínicas e bioquímicas reforçam a teoria da resistência aos glicocorticóides. Os pacientes depressivos com hipercortisolemia não apresentam os efeitos sistêmicos de outras doenças que possuem níveis elevados de glicocorticóides, como na Síndrome de Cushing¹⁰. Apesar de níveis altos de glicocorticóides poderem diminuir o número de seus receptores no hipocampo e córtex frontal, foi encontrado um número diminuído de receptores em pacientes deprimidos com níveis séricos normais de cortisol, descartando, neste caso, a possibilidade de uma regulação para menos ("downregulation") como determinante^{7; 11; 30}. Além disso, pacientes com Síndrome de Cushing possuem um número normal de receptores. Demonstrou-se também uma redução em 66% do número de receptores periféricos em supressores após a administração da dexametasona, enquanto no grupo de não-supressores ocorreu um aumento de 117%²¹.

OS HORMÔNIOS TIREOIDEANOS NA DEPRESSÃO

Perturbações no eixo hipotálamo-hipofisário-tireoideo (HPT) têm sido relatadas na depressão. Isto inclui uma liberação diminuída do hormônio estimulante da tireoide (TSH) à administração de hormônio liberador da tireoide (TRH)¹⁹. A resposta diminuída ao TSH ocorre em 25% a 70% dos pacientes deprimidos¹⁸. Foi demonstrado também que a triiodotironina (T₃) aumenta o efeito dos antidepressivos tricíclicos. Sintomas de depressão têm sido há muito tempo relatados em pacientes com hipo- ou hipertireodismo e os sintomas psiquiátricos geralmente revertem com a normalização do eixo HPT. WHYBROW (1985) sugeriu que estas alterações da função da tireoide na depressão po-

dem estar implicadas no mecanismo de defesa fisiológica, compensando os desvios do metabolismo de aminas, especificamente as catecolaminas³⁴.

Os glicocorticóides causam uma alteração na resposta ao teste da estimulação pelo TRH. Por causa disso, alguns pesquisadores têm sugerido que o teste TRH está alterado nos pacientes deprimidos pelo próprio efeito do aumento do cortisol plasmático. Contudo, alguns estudos recentes têm separado estes dois fatores. As vezes, o embotamento do teste TRH e a alteração do TSD aparecem da mesma forma em pacientes deprimidos, mas alguns pacientes apresentam apenas uma destas anormalidades, enquanto outros podem apresentar nenhuma anormalidade¹⁸.

ALTERAÇÕES NO SONO E RITMOS CIRCADIANOS

As alterações do sono estão entre os marcadores biológicos mais fortes da depressão. As anormalidades principais são uma latência REM (fase do sono relacionada com os sonhos) diminuída, vista em 2/3 dos pacientes deprimidos, uma duração aumentada do primeiro período REM, e uma densidade aumentada de REM na primeira parte do sono¹⁹. Verifica-se também uma ausência do sono de ondas lentas ("slow-wave") - estágios 3 e 4, uma dificuldade aumentada de adormecer, e um número aumentado de despertares durante o sono³⁴.

Depressões sazonais têm sido descritas há muito tempo. Setenta e cinco por cento dos pacientes são mulheres. Os sintomas usualmente começam no outono e aumentam no inverno, sendo que os indivíduos relatam sentimentos de muita melhora no verão e durante os dias ensolarados. Há evidências da supressão da melatonina em pacientes maníaco-depressivos, sugerindo que o ritmo não está bem acoplado ao oscilador endógeno em relação a indivíduos normais. O processo de mudança do episódio depressivo ao maníaco com frequência ocorre pelas horas iniciais da manhã. Além disso, dados da literatura relatam um índice elevado de suicídios no outono e no inverno³⁴.

ALERGIA E DEPRESSÃO

Recentemente, alguns estudos controversos relataram uma relação da alergia com a depressão. Foi verificado uma elevada prevalência da alergia em pacientes deprimidos. Indivíduos atópicos possu-

em hiperresponsividade colinérgica e hiporresponsividade beta-adrenérgica no sistema nervoso autônomo. A ligação entre essas duas doenças baseia-se no fato das reações alérgicas poderem acentuar o desequilíbrio nas atividades colinérgicas-adrenérgicas no sistema nervoso central de um subgrupo de risco para depressão endógena; tais atividades poduziriam então a sintomatologia depressiva²³. Entretanto, mais estudos são necessários nesse campo já que um grande número de pacientes deprimidos não apresentam sintomatologia ou história de alergia.

ESTUDOS ANATÔMICOS

Estudos anatômicos, com tomografia computadorizada (TC), demonstram aumentos das glândulas adrenais *in vivo* em pacientes depressivos. Outros estudos com TC indicam que alguns pacientes com mania ou depressão psicótica têm ventrículos cerebrais alargados¹⁹. Além disso, foi verificado, pela tomografia por emissão de pósitrons, um metabolismo cerebral reduzido e um fluxo sanguíneo cerebral diminuído na depressão (especialmente para os gânglios basais).

BASES GENÉTICAS DA DEPRESSÃO

Foi demonstrado que o distúrbio bipolar e a DM do tipo unipolar possuem uma predominância familiar. Aproximadamente 50% dos pacientes bipolares têm pelo menos um dos pais com distúrbios do humor, muito freqüentemente DM¹⁹. Estudos com gêmeos têm mostrado uma taxa de concordância de 0,67 para depressão bipolar em gêmeos monozigóticos e de 0,20 em dizigóticos. A concordância é mais elevada do que aquela relatada para DM do tipo unipolar. De acordo com modelos genéticos clássicos, a transmissão familiar da depressão pode ser explicada através da segregação de um único gene com dois alelos, embora existam evidências para a participação de modelos poligênicos multifatoriais para a herança na depressão.

Atualmente, com o advento de técnicas modernas da genética molecular, surgiram novas perspectivas para os estudos de herança gênica na depressão. Particularmente, os polimorfismos de extensão de restrição do fragmento (RFLP) contribuíram largamente para os

estudos de ligação* de marcadores genéticos com a depressão. Recentes trabalhos, realizados em populações de Amish⁸ e Ashkenazi israelenses⁴, indicam a ligação da depressão com marcadores nos cromossomos 11 e X respectivamente. O provável gene localizado no braço curto do cromossomo 11 poderia codificar a enzima tirosina hidroxilase, que limita o ritmo da síntese de catecolaminas. Contudo, tentativas para replicar esta ligação falharam.

A hipótese da ligação do cromossomo X com a depressão já perdura por mais de meio século. Evidências epidemiológicas apoiam esta ligação, já que existe uma prevalência elevada entre as mulheres (por possuírem dois cromossomos X). Além disso, verifica-se nas mulheres elevados níveis sorológicos da enzima MAO³⁴. Estas circunstâncias são compatíveis com uma herança dominante ligada ao X. O estudo da população de Ashkenazi revelou uma forte ligação de marcadores localizados no braço longo do cromossomo X (região Xq28) com a depressão bipolar. Estudos posteriores confirmaram uma provável ligação de marcador no locus Xq27 com a depressão⁵. Desta forma, o plausível gene candidato deve localizar-se na região Xq27-28.

As populações referidas acima são úteis em estudos genéticos de ligação, já que são geneticamente homogêneas, possuem taxas baixas de imigração/emigração, estão numa concentração geográfica elevada e possuem baixo consumo de drogas (álcool e outras, que confundem o diagnóstico psiquiátrico). Por outro lado, a generalização dos achados genéticos deve ser questionada, pois uma mutação pode ser única para este 'pool' gênico específico. Mais estudos são necessários para confirmar esses resultados.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Atualmente existe uma tendência para se considerar as depressões formando um *continuum* de doenças, com as formas mais "psicológicas" em um dos pólos e as formas de maior substrato orgânico alterado no outro; entre esses extremos, localizamos uma variedade de nuances e de interações entre fatores psicológicos e somáticos. A depressão pode ser entendida como um conjunto de interações em *retroalimentação* ("feed back") a nível químico, experimental (psicológico) e comportamental - aonde o diencefalo serve como alvo

* Ligação refere-se a tendência de alelos em loci diferentes serem co-herdados.

de interação. Além disso, podemos considerar o distúrbio bipolar como uma expressão mais severa da depressão unipolar (DM). As formas mais "brandas" da depressão podem afetar quase todas as pessoas, embora as formas mais "severas" pareçam envolver a interação de eventos genéticos e interpessoais.

No momento, ainda que a sensibilidade e especificidade dos mesmos seja questionável, existem vários marcadores biológicos que podem auxiliar no diagnóstico, prognóstico e tratamento da depressão: o TSD, a resposta diminuída do TSH ao TRH, distúrbios do sono, marcadores genéticos, e até mesmo alterações imunológicas. Em particular a esta última, nosso grupo relatou uma atividade celular *natural killer* (NK) diminuída nos pacientes deprimidos - implicando uma vigilância imunológica comprometida ao combate de neoplasias e infecções virais (dados submetidos a publicação).

A partir dos estudos neuroquímicos e neuroanatômicos conduzidos até agora, podemos extrapolar um importante conceito: *que múltiplos mecanismos são empregados pelo cérebro na regulação de comportamentos específicos*. Este pressuposto pode ser importante para o tratamento do paciente deprimido, já que fornece múltiplas estratégias para futuras intervenções farmacológicas. Novos estudos longitudinais serão necessários para elucidar os mecanismos básicos envolvidos na patologia da depressão maior. Além destes, visto que várias doenças orgânicas estão associadas com quadros depressivos (Tabela 1), é necessário a realização de estudos incluindo a depressão como evento secundário.

Tabela 1. Fármacos e doenças orgânicas associados com a depressão.

<p>FÁRMACOS: reserpina, propranolol, l-dopa, contraceptivos, corticosteróides, α-metildopa, abstinência a anfetaminas, dependência química.</p> <p>DISTÚRBIOS NEUROLÓGICOS: esclerose múltipla, tumor de lobo frontal, encefalite, cerebrite, doença de Parkinson, doença de Huntington, acidente vascular cerebral e demências.</p> <p>DISTÚRBIOS IMUNOLÓGICOS: alergias, lúpus eritematoso sistêmico, AIDS.</p> <p>INFECCÕES: mononucleosé, tuberculose, hepatite, gripe.</p> <p>DEFICIÊNCIAS VITAMÍNICAS: vitamina B12, folato, pelagra.</p>
--

SUMMARY

The etiology of mood disorders is, as yet, unknown. Many theories were proposed, but none of them has been completely conclusive to the results observed in clinical medicine. Neurochemical, anatomical, endocrine, and sleep and circadian rhythm, and psychodynamics changes were implicated in the etiology of major depression (MD). Genetic basis support the idea of a biologic dysfunction in depressed patients. The present study review some of the main points, of biologic theories in the etiology of MD, reporting actual hypotheses and providing new clues to future diagnostic and therapeutic interventions of this illness.

BIBLIOGRAFIA:

1. AGREN, H. et al. Low brain uptake of L-[¹¹C]5-hydroxytryptophan in major depression: a positron emission tomography study on patients and healthy volunteers. *Acta Psychiatr Scand*, v.83, p.449-445, 1991.
2. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Task force on nomenclature and statistics. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders - DSM-IV*. Washington, 1994.
3. ARANA, G. e HYMAN, S. *Handbook of Psychiatric Drug Therapy*. 2nd ed. Boston: Little, Brown, 1991.
4. BARON, M. et al. Genetic linkage between X-chromosome markers and bipolar affective illness. *Nature*, v.326, p.289-292, 1987.
5. BARON, M. Genetics of maniac depressive illness: current status and evolving concepts. IN: McHUGH, P. e McKUSICK, V. *Genes, Brain, and Behavior*. New York: Raven Press, 1991. p.153-164.
6. BOULLOSA, O; MATO, AL. Neuroquímica de los Estados Depresivos Implicancias Fisiopatológicas y Terapéuticas. *Psiquiatría Biológica*, v. 2, n. 2, p.63-70, jul. 1994.
7. CHROUSOS GP. et al. Primary cortisol resistance: a familial syndrome and an animal model. *J Steroid Biochem*, v.19, p.567-575, 1983b.
8. EGELAND, J. et al. Bipolar affective disorders linked to DNA markers on chromosome 11. *Nature*, v.325, p.783-787, 1987.
9. GERTZ, BJ. et al. Chronic administration of corticotropin releasing factor: increases pituitary corticotroph number. *Endocrinology*, v.20, p.381-388, 1987.
10. GOLD, PW. et al. Responses to corticotrophin-releasing hormone in the hypercortisolism of depression and Cushing's disease. *TÍTULO DO PERIÓDICO*, v.10, p.401-420, 1986.

11. GORMLEY, G.J. et al. A controlled pore glass bead assay for the measurement of cytoplasmic and nuclear glucocorticoid receptors. *J Steroid Biochem*, v.22, p.693-698, 1985a.
12. GORMLEY, G.J. et al. Glucocorticoid receptors in depression: relationship to dexamethasone suppression test. *Am J Psychiatry*, v.142, p.1278-1284, 1985b.
13. GUIMARÃES, F.S. Distúrbios Afetivos. *IN*: GRAEFF, F.G., BRANDÃO, M.L. *Neurobiologia das Doenças Mentais*. 2nd ed. São Paulo: LEMOS, 1993. p.79-108.
14. HIRSCHFELD, R., GOODWIN, F. Transtornos do Humor. *IN*: TALBOTT, J.; HALES, R. e YUDOFKY, S. *Tratado de Psiquiatria*. Porto Alegre: Artes Médicas, 1992. p.301-328.
15. HOLSBOER, F.; DÖRR, HG; SIPPEL, WG. Blunted aldosterone response to dexamethasone in female patients with endogenous depression. *Psychoneuroendocrinology*, v.7, p.155-162, 1982.
16. HOLSBOER, F. et al. Blunted aldosterone and ACTH release after human CRH administration in depressed patients. *Am J Psychiatry*, v.144, p.229-231, 1987a.
17. HOLSBOER, F., VON BARDELEBEN, U., WIEDEMANN, K. Serial assessment of corticotropin releasing hormone response after dexamethasone in depression: implication for pathophysiology of DST non-suppression. *Biol Psychiatry*, v.22, p.228-234, 1987b.
18. KAPLAN, H., SADOCK, B. *Comprehensive textbook of psychiatry*. 5th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1989. v. 1, p.
19. KAPLAN, H., SADOCK, B. *Compêndio de Psiquiatria*. 2nd ed. Porto Alegre: Artes Médicas. 1990. v. p.
20. KONTULA, K. et al. Glucocorticoid receptors in adrenocortical disorders. *Clin Endocrinol Metab*, v.51, p.654-657, 1980.
21. LOWY, MT. et al. Glucocorticoid resistance in depression: the dexamethasone suppression test and lymphocyte sensitivity to dexamethasone. *Am J Psychiatry*, v.141, p.1365-1370, 1984.
22. MAES, M. et al. Sex Linked Differences in Cortisol, ACTH, and Prolactin responses to 5-hydroxytryptophan in Healthy Controls and minor and Major Depressed Patients. *Acta Psychiatr Scand*, v.80, p.584-590, 1989.
23. MARSHALL, P. Allergy and depression: a neurochemical threshold model of the relation between the illnesses. *Psychological Bulletin*, v.113, p.23-43, 1993.
24. MATTHEUS, J. et al. B-Endorphine/B-Lipotropin immunoreactivity in endogenous depression: effect of dexamethasone. *Arch Gen Psychiatry*, v.43, p.374-381, 1986.
25. MELTZER, HY. et al. Effect of 5-hydroxytryptophan on Serum Cortisol Levels on Major Affective Disorders, In: Enhanced response in depression and mania. *Arch Gen Psychiatry*, v.41, p.366-374, 1984.
26. MÖLLER, S.E. Serotonin, Carbohydrates, and Atypical Depression. *Pharmacol. & Toxicology Int. Journ.*, v.71, p.61-71, 1992.

27. NEMEROFF, CB. et al. Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science*, v.226, p.1342-1344, 1984.
28. PRICE, LH. et al. Serotonin Function and Depression: Neuroendocrine and Mood Responses to Intravenous L-Tryptophan in Depressed Patients and Healthy Comparison Subjects. *Am Journal Psychiatry*, v.148, p.1518-1525, 1991.
29. SACHAR, EJ. et al. Disrupted 24 hr patterns of cortisol secretion in psychotic depression. *Arch Gen Psychiatry*, v.28, p.19-24, 1973.
30. SAPOLSKY, RM. , KREY, LC. , McEWEN, BS. Stress downregulates corticosterone receptors in a site-specific manner in the brain. *Endocrinology*, v.114, p.287-292, 1984.
31. SCHULTE, HM. et al. Continuous administration of synthetic ovine corticotropin releasing factor in man. *J Clin Invest*, v.75, p.1781-1785, 1985.
32. ROY, A. et al. CSF corticotropin-releasing hormone in depressed patients and normal control subjects. *Am Journal Psychiatry*, v.144, p.641-645, 1987.
33. RYAN, ND. et al. Neuroendocrine Response to L-5-Hydroxytryptophan Challenge in Prepubertal Major Depression. *Arch Gen Psychiatry*, v.49, p.843-851, 1992.
34. WHYBROW, P. , AKISKAL, H. , McKINNEY, W. *Mood Disorders*. New York: Plenum Press, 1985.