

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS EM  
PACIENTES COM CÂNCER E DEPRESSÃO**

**HÉLIO ISRAEL CIRLINAS**

Dissertação apresentada à Fundação Antônio Prudente  
para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Oncologia

Orientador: Dr.

**LUIZ FERNANDO LIMA REIS**

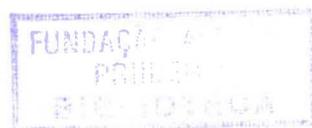
Co-Orientadoras:

**DR<sup>a</sup>. MARIA TERESA CRUZ LOURENÇO**

**DR<sup>a</sup>. KARINA DE CÁSSIA BRAGA RIBEIRO**

**São Paulo**

**2003**



## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do Centro de Tratamento e Pesquisa  
Hospital do Câncer A.C. Camargo

Cirlinas, Hélio Israel

**Avaliação de parâmetros imunológicos em pacientes com câncer e  
depressão** / Hélio Israel Cirlinas -- São Paulo, 2003.

76p.

Dissertação(mestrado)-Fundação Antônio Prudente.

Curso de Pós-Graduação em Ciências-Área de concentração: Oncologia.

Orientador: Luiz Fernando Lima Reis.

Descritores: 1. NEOPLASIAS. 2. ANTIDEPRESSIVOS/efeitos de drogas. 3.  
CITALOPRAM/efeitos adversos. 4. DEPRESSÃO. 5. FATORES  
IMUNOLÓGICOS.

## DEDICATÓRIA

Esta dissertação é dedicada a minha esposa **Maria Angélica**, minhas filhas **Tamara e Alexandra** e aos meus pais **Chonon e Sarah**, pois sem o apoio e estímulo destes, este trabalho não teria sido realizado.

◦

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao **Dr. Luiz Fernando Lima Reis**, pela sua pronta disposição para discutir e orientar a respeito de minhas eternas dúvidas. E também pelo seu rigor e objetividade, tão importantes na produção científica.

Agradeço à **Dr<sup>a</sup> Maria Teresa Cruz Lourenço**, por ter acreditado na idéia deste trabalho e ter proporcionado os meios necessários a realização deste.

Agradeço à **Dr<sup>a</sup> Regina Nomizo**, pela sua disposição, empenho e extremo detalhismo. Sem a sua preciosa colaboração este trabalho não teria sido possível.

Agradeço à **Dr<sup>a</sup> Karina de Cássia Braga Ribeiro** pelas orientações estatísticas e críticas que possibilitaram uma outra abordagem do nosso trabalho.

Agradeço à **Ana Maria** e a sua fiel escudeira **Marcia**, da secretaria da pós-graduação, pelo desempenho de ambas em auxiliar no andamento deste trabalho, apesar das cobranças de prazos e das repetidas respostas às minhas solicitações: "fale com o seu orientador".

Agradeço a **todo o pessoal da Biblioteca do Hospital de Câncer**, representados pela bibliotecária **Suely Francisco**, pela disposição em atender as minhas constantes solicitações de artigos.

Por fim agradeço a colaboração dos **pacientes** que possibilitaram este trabalho.

## RESUMO

Cirlinas HI. **Avaliação de parâmetros imunológicos em pacientes com câncer e depressão.** São Paulo; 2003. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

**Objetivo.** Avaliar os parâmetros imunológicos funcionais em doentes portadores de câncer, com e sem depressão. Relacionar as possíveis alterações imunológicas ao uso do antidepressivo citalopram. **Métodos.** A amostra do estudo foi constituída por 24 pacientes com câncer do sexo feminino, sendo 18 pacientes com depressão que preencheram os critérios de episódio depressivo maior (DSM-IV) e 8 pacientes sem depressão. As pacientes incluídas foram submetidas a 4 avaliações que eram compostas por: a) exame psiquiátrico com a utilização da escala de Hamilton D –21 itens para avaliação da gravidade da depressão b) exames laboratoriais nos quais foram quantificados o hemograma, cortisol, hormônios tireoideanos pelas técnicas convencionais; linfócitos T com seus subtipos, linfócitos B e células NK através de citometria de fluxo; e citocinas IL-2 e IFN- $\gamma$  através da técnica de ELISA. **Resultados:** As pacientes com câncer e depressão apresentaram diminuição de 33% dos *scores* da escala HAM-D ao final do estudo. Na avaliação inicial as pacientes com depressão apresentaram aumento estatisticamente significativo do cortisol plasmático em relação às pacientes sem depressão. Não foi observado diferença estatisticamente significativa dos valores do hemograma, T3, T4 livre, TSH, linfócitos T e seus subtipos, linfócitos B, células NK, IL-2 e IFN- $\gamma$  entre as pacientes com e sem depressão. Na comparação dos resultados da primeira e quarta avaliação, nas pacientes com depressão foi observado diminuição da concentração de IL-2 no limite da significância estatística na quarta avaliação e não alteração significativa da concentração de IFN- $\gamma$  entre as avaliações. **Conclusões:** A remissão parcial do quadro de depressão no grupo de pacientes com câncer e depressão foi acompanhada de diminuição da produção de IL-2 e não alteração da produção de IFN- $\gamma$ . No início do estudo as pacientes com câncer, com e sem depressão, não apresentaram alterações dos parâmetros imunológicos avaliados.

## SUMMARY

Cirlinas HI. **Avaliação de parâmetros imunológicos em pacientes com câncer e depressão.** [Valuacion of immune parameters in depressed cancer patients] São Paulo; 2003. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

**Objective.** This study evaluates functional immune parameters in cancer patients with depression and in cancer patients without depression and how the antidepressant citalopram affect the immune system. **Methods.** The total of 24 female cancer patients, 18 subjects with depression that met the criteria of major depressive episode (DSM-IV) and 8 subjects without depression. Patients who were enrolled in the study underwent 4 evaluations that included: a) psychiatric examination and the depression severity was assessed using the Hamilton Depression Rating Scale-21 itens version b) laboratory analysis: red and white blood cells, cortisol, T3, free T4 and TSH were assessed using standart techniques; T lymphocytes and subpopulations, B lymphocytes and NK cells were assessed using flow citometry; IL-2 and IFN- $\gamma$  were assessed with Elisa kits. **Results:** In depressed cancer patientes the Hamilton Depression Rating Scale scores decreased 33% in the end of the study. The depressed cancer patients and the cancer patients without depression did not differ in respect to age, red blood cells, T3, free T4, TSH, T lymphocytes and subpopulations, B lymphocytes, NK cells , IL-2 and IFN- $\gamma$  in the inicial evaluation. In the depressed cancer patients the plasma concentration of cortisol was increased in the first evaluation , the IL-2 secretion was decreased in the last evaluation and the IFN- $\gamma$  production was unaltered. **Conclusions:** The partial improving of depression in depressed cancer patientes was accompanied with decreasead IL-2 secretion and unaltered IFN- $\gamma$  production . At the beginning of the study the depressed cancer patients and the cancer patients without depression did not differ in relation to the funcional immune parameters.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Diminuição de parâmetros imunológicos na depressão	2
Tabela 2	Ausência de alterações de parâmetros imunológicos na depressão	3
Tabela 3	Aumento quantitativo de parâmetros imunológicos na depressão	3
Tabela 4	Diminuição de parâmetros imunológicos com a utilização de antidepressivos	5
Tabela 5	Aumento de parâmetros imunológicos com a utilização de antidepressivos	6
Tabela 6	Tumores e tratamentos no grupo de pacientes com câncer e depressão	33
Tabela 7	Tumores e tratamentos oncológicos realizados no grupo de pacientes com câncer e sem depressão	34
Tabela 8	Médias e respectivos desvios padrão de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, leucócitos, bastonetes, basófilos, segmentados, eosinófilos, linfócitos monócitos e plaquetas, segundo o estado depressivo na primeira avaliação	36
Tabela 9	Médias e respectivos desvios padrão dos valores de T3, T4livre, TSH e Cortisol, na primeira avaliação, segundo o estado depressivo	37
Tabela 10	Médias e respectivos desvios padrão dos subtipos de linfócitos, na primeira avaliação, segundo o estado depressivo	38
Tabela 11	Médias e respectivos desvios padrão, dos valores de IL-2 e IFN- $\gamma$ , na primeira avaliação, segundo o estado depressivo	39
Tabela 12	Scores da escala de Hamilton D 21 itens, nas 4 avaliações, no grupo de pacientes com depressão	41
Tabela 13	Médias e respectivos desvios padrão dos scores de escala de Hamilton D 21 itens, na primeira e quarta avaliação, das pacientes com Depressão	42
Tabela 14	Médias e respectivos desvios padrão, dos valores de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, leucócitos, bastonetes, segmentados,	

eosinófilos, linfócitos, monócitos e plaquetas na primeira e quarta avaliação, segundo o estado depressivo	43
<b>Tabela 15</b> Médias e respectivos desvios padrão de Cortisol, T3, T4 livre e TSH, na primeira e na quarta avaliação, segundo o estado depressivo	44
<b>Tabela 16</b> Médias e respectivos desvios padrão dos subtipos de linfócitos, na primeira e quarta avaliação, segundo o estado depressivo	45
<b>Tabela 17</b> Médias e respectivos desvios padrão dos valores de IL-2 e IFN- $\gamma$ , na primeira e quarta avaliação segundo o estado depressivo	46

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Representação esquemática das interações bidirecionais imune-  
neuroendócrina.

16

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- ACTH: Hormônio adrenocorticotrófico.
- cAMP: Monofosfato de adenosina cíclico.
- CD3: Marcador de superfície para linfócitos T totais.
- CD4: Marcador de superfície para linfócitos T *helper*.
- CD8: Marcador de superfície para linfócitos T citotóxicos.
- CD14: Marcador de superfície para monócitos.
- CD19: Marcador de superfície para linfócitos B.
- CD56: Marcador de superfície para linfócitos NK.
- CRF: Fator liberador corticotrofina.
- DSM-IV: Critérios diagnósticos, “Diagnóstico do Estado Mental”, da associação psiquiátrica americana de 1994.
- DST: Teste de supressão da dexametasona.
- HAM-D: Escala de avaliação para depressão de Hamilton, versão utilizada de 21 itens.
- H-H-A: Eixo hipotálamo- hipófise- adrenocórtex.
- 5HT: Serotonina.
- 5HT1a: Receptor para serotonina tipo1 com subtipo a.
- 5HT2: Receptor para serotonina tipo 2.
- IDO: Enzima indoleamina 2,3 dioxigenase.
- IFN: Interferon.
- IL-1: Interleucina 1.
- IL-2: Interleucina 2.
- sIL-2R: Receptor solúvel para interleucina 2.
- IL-3: Interleucina 3.

**IL-10:** Interleucina 10.  
**LPS:** Lipopolissacáride.  
**NA:** Noradrenalina.  
**NK:** Células *Natural killer* .  
**PBS:** Tampão fosfato.  
**PHA:** Fitohemaglutinina.  
**PMA:** Acetato miriástico.  
**rpm:** rotações por minuto.  
**T3:** Triiodotironina.  
**T4 livre:** Tiroxina livre.  
**TNF:** Interleucina “fator de necrose tumoral”  
**TSH:** Tireotrofina.

## UNIDADES DE REFERÊNCIA DO ÍTEM “RESULTADOS”

No ítem “resultados” os valores foram expressos nas seguintes unidades:

**Eritrócitos** valores em milhões / mm<sup>3</sup>.

**Hemoglobina** valores em g / dL.

**Hematócrito** valores em %.

**Leucócitos** valor absoluto em mil / mm<sup>3</sup>.

**Bastonetes, Basófilos, Segmentados, Eosinófilos e Monócitos:** valor absoluto / mm<sup>3</sup>

**Linfócitos** valor absoluto em mm<sup>3</sup>.

**Plaquetas** valor absoluto em mil/ mm<sup>3</sup>.

**Subtipos de Linfócitos:** valor absoluto em mm<sup>3</sup>.

**Cortisol** valor em µg / dL.

**T3 e T4 livre** valor ng / dL.

**TSH** valor em mUI / L.

**IL-2** valor em pg / ml / 10<sup>3</sup> cel.

**IFN-γ** valor em pg / ml / 10<sup>3</sup> cel.

# ÍNDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1.1	Depressão e o sistema imune	2
1.2	Antidepressivos e o sistema imune	4
1.3	Sistema imune em pacientes com câncer e depressão	7
1.4	Fisiopatologia da depressão	7
1.4.1	Alterações de catecolaminas	8
1.4.2	Neuropatologia da depressão	8
1.4.3	Alterações do eixo H-H-A na depressão	9
1.5	Alterações do eixo HPA em pacientes com câncer	11
1.6	Citocinas na fisiopatologia da depressão	12
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>20</b>
<b>3</b>	<b>MÉTODOS</b>	<b>21</b>
3.1	População do Estudo	21
3.2	Procedimentos metodológicos	22
3.3	Procedimentos laboratoriais	25
3.4	Análise estatística	31
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>32</b>
4.1	Amostra Estudada	32
4.2	Parâmetros hematológicos e imunológicos relacionados a depressão	34
4.2.1	Escala de Hamilton D	35
4.2.2	Eritrócitos, Hemoglobina e Hematócrito, Leucócitos, Bastonetes, Basófilos, Segmentados, Eosinófilos, Linfócitos, Monócitos e Plaquetas	35
4.2.3	Triiodotironina (T3), Tiroxina livre (T4 livre) Tireotrofina (TSH) e Cortisol	36
4.2.4	Subtipos de linfócitos	37

4.2.5	Interleucina 2 e Interferon- $\gamma$	38
4.3	Parâmetros hematológicos e imunológicos relacionados à melhora do quadro de depressão	39
4.3.1	Amostra da quarta avaliação	39
4.3.2	Escala de Hamilton D	40
4.3.3	Eritrócitos, Hemoglobina, Hematócrito, Leucócitos, Segmentados Bastonetes, Basófilos, Linfócitos, Monócitos, Eosinófilos e Plaquetas	42
4.3.4	Cortisol, Triiodotironina, Tiroxina livre e Tireotrofina	43
4.3.5	Subtipos de Linfócitos	44
4.3.6	Interleucina-2 e Interferon- $\gamma$	45
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>47</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>62</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>63</b>
	<b>ANEXOS</b>	
<b>Anexo 1</b>	<b>Consentimento Pós-informado.</b>	

## 1 INTRODUÇÃO

A psiconeuroimunologia, termo este utilizado a partir de 1981, tem como objetivo elucidar as relações recíprocas entre o sistema nervoso e o sistema imune e os seus efeitos sobre a saúde e doença. Dentre esses efeitos, inclui-se a investigação da influência de fatores psíquicos como depressão, ansiedade e estresse nas funções do sistema imune.

A experiência de ter uma patologia grave como o câncer está historicamente associado ao aparecimento de distúrbios emocionais. DEROGATIS et al. (1983) citam que a prevalência de sintomatologia depressiva em pacientes com câncer, é de 18%, com 6% dos pacientes apresentando episódio depressivo maior e 12% apresentando reação de ajustamento com sintomatologia depressiva. Para BUKBERG et al. (1984) a prevalência de depressão é de 42% em pacientes com câncer, sendo 24% a prevalência de episódio depressivo maior severo e 18% com episódio depressivo moderado. Para BREITBART et al. (1994) a prevalência de depressão em pacientes com câncer varia de 20 a 25%. Entre pacientes adultos com câncer e internados a prevalência de depressão maior e transtorno de ajustamento varia de 23 à 60% (NEWPORT e NEMEROFF 1998). No serviço de interconsultas psiquiátrica, do Centro de Tratamento e Pesquisa Hospital do Câncer A C. Camargo, a prevalência de transtorno depressivo é da ordem de 31% (CITERO 1999).

## 1.1 DEPRESSÃO E O SISTEMA IMUNE

Os resultados das publicações científicas não são coerentes quanto à ocorrência ou não de alterações de parâmetros imunológicos funcionais na depressão.

Os estudos iniciais da relação depressão e imunidade, realizados a partir de 1980, concluíram que a depressão estaria associada à diminuição quantitativa ou funcional de alguns parâmetros imunológicos (Tabela 1)

**Tabela 1-** Diminuição de parâmetros imunológicos na depressão.

PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS DIMINUÍDOS NA DEPRESSÃO	AUTOR
1- Número de linfócitos	SCHLEIFER et al. 1984
2- Linfócitos B e CD4 e CD8	HERBERT e COHEN 1993
3- Células NK	EVANS et al. 1992.
4- Proliferação de linfócitos por estímulo mitogênico	SCHLEIFER et al. 1984;
5- Atividade citotóxica das células NK	IRWIN et al. 1990; EVANS et al. 1992; BAUER et al. 1995.
6- IL-1 , IL-2 e IL-3	WEIZMANN et al. 1994

Outros estudos, como os de STEIN et al. (1991); BAUER et al. (1995); SCHLEIFER et al. (1999) e JUNG et al. (1999), demonstram que pacientes com depressão não apresentam alterações de parâmetros imunológicos (Tabela 2).

**Tabela 2 - Ausência de alterações de parâmetros imunológicos na depressão.**

<b>PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS INALTERADOS NA DEPRESSÃO</b>	<b>AUTOR</b>
1- Proliferação de linfócitos	BAUER et al. 1995.
2- Número de linfócitos	SCLHEIFER et al. 1999
3- CD4 e CD8	STEIN et al. 1991.
4- Atividade citotóxica das células NK	SCLHEIFER et al. 1999; MILLER et al. 1991; JUNG et al. 1999.
5- Número de monócitos	LANDMAN et al. 1997.
6- TNF e IFN- $\gamma$	LANDMAN et al. 1997.
7- IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF e IL-2R.	KAGAIA et al. 2001
8- IL-1 $\beta$ e IL-10.	SEIDEL et al. 1995.
9- sIL-2R	IRWIN et al. 1999.

Estudos publicados a partir de 1990, indicam que a depressão, ao menos em sua fase aguda, seria acompanhada de aumento quantitativo de alguns parâmetros imunológicos (Tabela 3)

**Tabela 3- Aumento quantitativo de parâmetros imunológicos na depressão.**

<b>PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS AUMENTADOS NA DEPRESSÃO</b>	<b>AUTOR</b>
1-Número de leucócitos, granulócitos, monócitos e plaquetas.	SEIDEL et al. 1996a.
2- CD3 e CD4 e razão CD4 / CD8	MÜLLER et al. 1993.
3- Número de células NK	RAVIDRAN et al. 1995. SEIDEL et al. 1996b.
4- IL-6, IL-2R e IL-6R	MAES et al. 1995. SLUZEWSKA et al. 1995.
5- IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6 e IFN- $\gamma$	SEIDEL et al. 1996b. SEIDEL et al. 1999.
6- IL-1 $\beta$ e IFN- $\gamma$ .	MAES et al. 1991 e 1994. CONNORS e LEONARD. 1998.
7- sIL-2R	ZORRILLA et al. 2001.

MAES et al. (1992), demonstram aumento maior de parâmetros imunológicos nos quadros graves de depressão: na depressão menor foi achados aumento no número de monócitos, leucócitos e linfócitos T e B; na depressão maior além dos aumentos citados anteriormente foram encontrados aumentos da razão CD4/CD8 e da concentração de IL-2R.

Nos pacientes com melancolia foi observado aumento do número de linfócitos totais e dos linfócitos citotóxicos, CD8<sup>+</sup> (MAES et al. 1992) e foi ainda observado aumento moderado de neopterina que é um marcador da imunidade celular, aumento *in vitro* da secreção de IFN- $\gamma$  e menor concentração plasmática de triptofano que seria um sinal indireto da estimulação da resposta inflamatória. (MAES et al. 1994). Nestes pacientes também foi observado aumento da concentração plasmática de proteínas de fase aguda como: alfa-1 glicoproteína, antitripsina 1, haptoglobulina, proteína C reativa e ceruloplasmina e diminuição das concentrações plasmáticas das proteínas de fase aguda como albumina e transferrina (SLUZEWSKA 1999; NUNES et al. 2002).

Portanto não existe consenso sobre as alterações do sistema imune relacionadas com a depressão. Os dados da literatura demonstram aumento, diminuição ou não alteração de parâmetros imunológicos na depressão.

## 1.2 ANTIDEPRESSIVOS E O SISTEMA IMUNE

As publicações científicas também são conflitantes sobre a ocorrência ou não de alterações de parâmetros imunológicos devido ao uso de antidepressivos.

Estudos iniciais como os de MILLER et al. (1986) e EISEN et al. (1989), demonstram diminuição de alguns parâmetros imunológicos, como a atividade citotóxica das células NK, com a utilização de antidepressivos (Tabela 4).

**Tabela 4** - Diminuição de parâmetros imunológicos com a utilização de antidepressivos.

<b>ANTIDEPRESSIVOS</b>	<b>PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS DIMINUÍDOS</b>	<b>AUTOR</b>
1- Desmetilimipramina	Atividade citotóxica das células NK	MILLER et al. 1986
2- Maproptilina	Atividade citotóxica das células NK	EISEN et al. 1989.
3- Imipramina e Amitriptilina	Atividade citotóxica das células NK	XIAO e EMEROTH 1995.
4- Amitriptilina	Proliferação de linfócitos. Atividade citotóxica das células NK	KUBERA et al. 1995.
5- Sertralina, Fluoxetina Fluvoxamine e Paroxetina	Número de células NK	RAVINDRAN et al. 1995.
Citalopram e Clomipramina Imipramina	Número de monócitos IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-6 e IL-10	XIA et al. 1996.

Outros estudos, como os de WEIZMAN et al. (1994); SUZUKI et al. (1996) e KAGAIA et al. (2001), demonstram aumento de alguns parâmetros imunológicos com o uso de antidepressivos (Tabela 5).

**Tabela 5** – Aumento quantitativo de parâmetros imunológicos com a utilização de antidepressivos.

ANTIDEPRESSIVOS	PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS AUMENTADOS	AUTOR
1- Clomipramina	IL-1 $\beta$ e IL3.	WEIZMAN et al. 1994.
2- Fluvoxamine	Atividade citotóxica das células NK	KOOK et al. 1995.
3- Citalopram e Fluoxetina	Proliferação de linfócitos Il-6 e IL-10.	KUBERA et al. 2000.
4- Imipramina, Fluoxetina e Fluvoxamine	mRNA de IL-1 $\beta$ e IL-1 $\beta$ R no hipotálamo, hipocampo e córtex frontal.	SUZUKI et al. 1996.
5- Clomipramina	TNF	KAGAIA et al. 2001.

O desacordo observado nos resultados das alterações imunológicas na depressão bem como da ação dos antidepressivos no sistema imune, deve-se provavelmente à diferença nas populações estudadas em relação à idade, sexo, gravidade da depressão, critérios para o diagnóstico da depressão e também à diferença dos parâmetros imunológicos utilizados e das técnicas para sua mensuração.

De forma geral, nos casos em que os pacientes deprimidos apresentavam aumento de parâmetros imunológicos, a utilização do antidepressivo ocasionava diminuição dos parâmetros imunológicos em questão; e nos casos em que os pacientes deprimidos apresentavam diminuição de parâmetros imunológicos, a utilização do antidepressivo ocasionava aumento dos parâmetros em questão.

### **1.3 SISTEMA IMUNE EM PACIENTES COM CÂNCER E DEPRESSÃO**

São escassos os trabalhos científicos publicados que relacionam o sistema imunológico ao transtorno depressivo em pacientes apresentando concomitantemente outras patologias como o câncer.

BALLIN et al. (1997) observaram que em 10 pacientes com câncer e depressão, após 4 semanas do uso do antidepressivo fluvoxamina, 5 pacientes apresentaram diminuição da pontuação da escala Hamilton-D e aumento da contagem de células NK. Porém os valores de leucócitos, linfócitos, CD4 e CD8 não sofreram alteração.

Em 34 pacientes com câncer de mama tratados cirurgicamente, que participaram de um programa de intervenção psicoterapêutica por 5 semanas, foi observada diminuição estatisticamente significativa dos sintomas da depressão, aferidos pela escala "Profile of Mood States", sendo que os valores de CD3, CD4, CD8 e atividade citotóxica das células NK não sofreram alteração ao final do programa (HOSAKA et al. 2000).

### **1.4 FISIOPATOLOGIA DA DEPRESSÃO**

O estudo da fisiopatologia da depressão pode nos auxiliar no entendimento da implicação da depressão no sistema imune.

### 1.4.1 Alterações de catecolaminas

SCHILDKRAULT em 1965, com a chamada “Hipótese Noradrenérgica”, sugeriu que a depressão seria causada pela diminuição da atividade noradrenérgica pós-sináptica.

Na década de 80 foi evidenciada a assim chamada “Hipótese Serotoninérgica” em que a depressão seria causada pela deficiência da neurotransmissão mediada pela serotonina. MANJI et al. (2001) citam vários fatos que comprovariam as alterações da neurotransmissão serotoninérgica em pacientes com depressão: redução do metabólito da serotonina: ácido indol acético no líquido, redução dos sítios de ligação da imipramina em plaquetas e em tecidos cerebrais pós-morte, diminuição dos receptores 5HT1a *in vivo* e em tecidos cerebrais pós-morte, aumento do número e da afinidade dos receptores pós sinápticos 5HT2 e diminuição da concentração dos receptores 5HT1a e 5HT2 após o uso de antidepressivos.

Na depressão ainda são citadas alterações na neurotransmissão noradrenérgica, dopaminérgica, glutamatérgica e GABAérgica (MANJI et al. 2001).

### 1.4.2 Neuropatologia da depressão

DAVIDSON et al. (2002) em artigo de revisão, citam as principais regiões do SNC que estariam alteradas na depressão. A interação disfuncional destas regiões poderia causar a depressão:

- córtex pré-frontal: diminuição da ativação das regiões dorsais e diminuição volumétrica principalmente devido à atrofia neural;
- córtex cingulato anterior: diminuição da sua atividade;

- hipocampo: redução de até 19% de seu volume, causando diminuição da atividade inibitória sobre o eixo H-H-A, com aumento de cortisol na depressão;
- amígdala: aumento do seu volume.

É de interesse citar que em modelo animal, foi demonstrada a presença de 3 circuitos neurais envolvidos na resposta imune, segundo MASEK et al. (2000):

- o primeiro grupo seria representado pela formação reticular, núcleo *parabraquialis* e núcleos centrais da amígdala. Estas estruturas estão conectadas principalmente com vias neurais descendentes. As lesões deste circuito diminuiriam a resposta imune;
- o segundo grupo está representado pela formação reticular da rafe com seu grupo de neurônios serotoninérgicos, hipotálamo e núcleo baso-lateral da amígdala. Estas estruturas estão principalmente associadas a vias neurais ascendentes. As lesões deste circuito aumentariam a resposta imune;
- o terceiro circuito é representado por estruturas límbicas telencefálicas como o córtex frontal médio, septo e núcleos da amígdala. As lesões neste circuito mutuamente interconectado , modulariam a resposta imune

#### **1.4.3 Alterações do eixo Hipotálamo – Hipófise – Adrenal na depressão.**

A alteração neuroendócrina mais bem definida na depressão é a hiperatividade do eixo H-H-A devida à hipersecreção do CRF pelos neurônios da região para-ventricular do hipotálamo. Este aumento do CRF causa a hipersecreção do ACTH produzido pela região anterior da hipófise, com conseqüente hipersecreção

de glicocorticóides pela região cortical das glândulas adrenais. O cortisol é o principal glicocorticóide no homem e a corticosterona, em outras espécies (DINAM 1994; ARBORELIUS et al. 1999).

A secreção de cortisol é controlada por *feedbacks* negativos, através de receptores de glicocorticóides no cérebro e na hipófise anterior, que são de 2 tipos: tipo 1, que são os mineralocorticóides e o tipo 2, que são os de glicocorticóides, tipo este que na depressão apresentaria diminuição em sua plasticidade e afinidade de ligação (DINAM 1994).

A hiperatividade do eixo H-H-A na depressão, segundo MUSSELMAN et al. (1998), é evidenciada pelo aumento do cortisol endógeno, não supressão do cortisol pela dexametasona, resposta truncada do ACTH pelo estímulo do CRF, aumento da concentração cerebrosinal do CRF e hipertrofia da adrenal e hipófise.

Na depressão, é utilizada a mensuração do cortisol e seus derivados no plasma e o teste da supressão do cortisol pela dexametasona, para demonstração da hiperatividade do eixo H-H-A. Aproximadamente 50% dos pacientes com depressão maior apresentam teste da dexametasona não supressivo. Porém o resultado deste teste não é específico, pois pacientes com dependência ao álcool e anorexia nervosa, sem sintomatologia depressiva, também apresentam este teste como não supressivo (DINAM 1994).

Na fisiopatologia da depressão, as alterações da neurotransmissão mediada pelas catecolaminas: serotonina e noradrenalina, e a hiperatividade do eixo H-H-A, estão plenamente demonstradas.

## 1.5 ALTERAÇÕES DO EIXO HIPOTÁLAMO–HIPÓFISE-ADRENAL EM PACIENTES COM CÂNCER.

Em pacientes com câncer é citada a hiperatividade do eixo H-H-A, mesmo na ausência de quadro depressivo.

Em 83 pacientes com câncer ginecológico, 19 (23%) pacientes apresentaram depressão. Dos 19 pacientes com depressão, 8 pacientes apresentaram teste não supressivo pela dexametasona. Esta prevalência de teste não supressivo pela dexametasona em pacientes com câncer e depressão é semelhante a prevalência deste teste em pacientes com depressão e sem câncer (EVANS et al. 1986).

JOFFE et al. (1986) demonstraram, em 6 pacientes com câncer de pâncreas, que todos apresentavam teste não supressivo pela dexametasona, embora apenas 1 paciente apresentasse depressão. Entre 6 pacientes com câncer de estômago, 5 apresentavam teste não supressivo pela dexametasona sem apresentar depressão.

Em um grupo de 14 pacientes com câncer e sem depressão, todos apresentaram aumento da adrenal diagnosticado por tomografia computadorizada, sendo que 9 pacientes apresentaram aumento de cortisol plasmático e teste não supressivo pela dexametasona (JENKINS et al. 1999).

No trabalho realizado por VINCENT et al. (1994), 47 pacientes com linfoma e 144 pacientes com outros tumores primários, foi demonstrado através de tomografia computadorizada, aumento da glândula adrenal em relação ao grupo controle, aumento este devido à hiperplasia da adrenal e não a lesões metastáticas.

Em 8 pacientes de um total de 13 com câncer de mama, e em 15 pacientes de um total de 20 com tumor de ovário, foram encontradas alterações do ritmo

circadiano de produção de cortisol que estaria relacionado ao status imunológico do paciente e não a doença depressiva (TOUITOU et al. 1996).

A alteração do ritmo circadiano de cortisol seria um índice de pior prognóstico em pacientes com câncer de mama, provavelmente devido à diminuição células NK (TOUITOU et al. 1995; SEPTON et al. 2000).

Portanto a alteração do ritmo circadiano do cortisol que ocorre na depressão, e em pacientes com câncer principalmente nas fases avançadas da doença, poderia ser explicada pela estimulação do eixo H-H-A causada pela ação das citocinas. (BESEDOVSKY e DEL REY 1996).

## 1.6 CITOCINAS NA FISIOPATOLOGIA DA DEPRESSÃO

As citocinas são proteínas regulatórias secretadas por leucócitos e vários outros tipos celulares, cujas ações pleiotrópicas incluem efeitos nas células imunes e na modulação da resposta inflamatória. O termo citocina inclui os antigos termos “monocinas”: mediadores derivados de macrófagos/monócitos, e “linfocinas”, mediadores derivados de linfócitos. Atualmente é aceito que as citocinas agem não apenas no sistema imune, mas também no sistema nervoso central e periférico e no sistema endócrino. (TURNBULL e RIVIER 1999).

As citocinas poderiam participar da fisiopatologia da depressão e, para o entendimento destas ações, é importante a discussão da comunicação bidirecional entre o sistema imune e o sistema neuro-endócrino.

A regulação do sistema imune pela glândula adrenal foi observada na metade do século 19, quando Thomas Addison documentou que um paciente com

insuficiência adrenal apresentava aumento de linfócitos circulantes, ocorrência esta posteriormente comprovada pela remoção da adrenal em ratos, causando hipertrofia do timo, que é responsável pela maturação dos linfócitos.

Com o isolamento da cortisona, que é o princípio ativo do córtex adrenal, em 1940 e a demonstração de sua atividade antiinflamatória, foi confirmada a atuação da adrenal no sistema imune (TURNBULL e RIVIER 1999).

BESEDOVSKY e DEL REY (1996) citam os vários aspectos da comunicação dos sistemas imune e neuro-endócrino:

**A** Células imunes, endócrinas e neurais expressam receptores para citocinas, hormônios, neurotransmissores e neuropeptídeos:

1- Linfócitos apresentam receptores para corticoesteróides, insulina, prolactina, estradiol, testosterona, acetilcolina, serotonina, noradrenalina, endorfina e encefalinas.

2- As células das glândulas endócrinas apresentam receptores para as citocinas:

- receptores de IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$  foram demonstrados na adenohipófise;
- receptores de IL-2 e IL-6 foram demonstrados na hipófise.

3- No sistema nervoso central, foi demonstrada a presença dos receptores para IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, TNF, IFN- $\gamma$ , M-CSF e SCF.

**B** Comunicação entre o sistema imune e neuro-endócrino:

1- O tecido linfóide está em contacto com fibras noradrenérgicas e os linfócitos T nos locais de inflamação estão em contacto com fibras nervosas sensoriais.

2- Glândulas endócrinas secretam citocinas:

- a hipófise anterior secreta IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF;

- a adrenal secreta IL-1 e IL-6;
- o ovário secreta IL-1, IL-6 e TNF.

3- No sistema nervoso central , constitutivamente ou após estímulo, são encontradas as citocinas IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, IL-8, IL-12 IFN- $\gamma$ .

**C** Hormônios e neurotransmissores afetam o sistema imune:

1- Os principais efeitos endócrinos no sistema imune são:

- glicocorticóides, andrógenos e ACTH inibem a resposta imune;
- prolactina, hormônio de crescimento, tiroxina e insulina estimulam a resposta imune.

2- O sistema nervoso autônomo e os neurotransmissores interferem de maneira contraditória , isto é estimulam ou inibem o sistema imune.

**D** As citocinas agem nas glândulas endócrinas e no sistema nervoso:

1- Efeitos das citocinas no sistema endócrino:

- as citocinas IL-1, IL-6, TNF e IFN- $\gamma$  estimulam o eixo H-H-A;
- as citocinas IL-1, IL-2 e IL-6 aumentam a secreção de glicocorticóides pela adrenal ;
- as cotocinas IL-1, TNF e IL-6 exercem efeito inibitório no eixo Hipotálamo-Hipófise-Tireóide;
- a citocina IL-1 inibe o eixo Hipotálamo-Hipófise-Gonadal .

2- Efeitos das citocinas no sistema nervoso central:

- a citocina IL-1 estimula a produção de CRF pelo hipotálamo;

- a citocina IL-1 diminui a concentração e aumenta o metabolismo de noradrenalina no hipotálamo , hipocampo e medula;
- a citocina IL-1 diminui a concentração e aumenta o metabolismo de serotonina no hipocampo;
- as citocinas IL-2, IL-3 e IFN- $\gamma$  aumentam o metabolismo de acetilcolina nos neurônios septais;
- as citocinas IL-2 e IFN- $\gamma$  estimulam a atividade neuronal, no córtex e no hipocampo;
- as citocinas IL-1 e IL-6 apresentam ação inibitória nos neurônios do hipocampo ;
- as citocinas IL-1, I-6, IFN- $\gamma$  e TNF estimulam a proliferação de astrócitos e de neurônios;
- as citocinas IL-1, IL-6, IL-8 e IFN- $\gamma$  induzem a febre;
- as citocinas IL-1, IL-6, IL-8 e TNF diminuem a ingestão de alimentos;
- as citocinas IL-1 $\beta$ , IL-2, IFN- $\gamma$  e TNF aumentam a quantidade de ondas lentas no sono.

Segundo SAVINO e DARDENNE (1995), a comunicação bi-direcional entre o sistema imune e o sistema neuro- endócrino poderia ser esquematicamente resumida da seguinte maneira: células que pertencem ao sistema imune ,por ex.: os linfócitos, podem ser afetados pela inervação do SNA ou pelo eixo Hipotálamo-Hipófise e suas glândulas endócrinas alvos como tireóide, gônadas e adrenal. Por sua vez o sistema imune, através das citocinas, podem influenciar as glândulas endócrinas e o sistema nervoso (hipófise, hipotálamo e SNC) (Figura 1)



Vários outros fatos demonstram claramente a complexidade das relações entre o sistema imune e neuro-endócrino e podendo assim incluir as citocinas na fisiopatologia da depressão:

- A administração central ou periférica das citocinas IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  e TNF, aumenta a concentração extracelular de serotonina no hipotálamo, hipocampo e córtex cerebral (CLEMENT et al. 1997).
- A administração de citocinas, principalmente IL-2 e IL-1 $\beta$ , para animais de laboratório, induz o aparecimento de uma série de comportamentos semelhantes aos sintomas depressivos, entre eles: lentificação psicomotora, redução da ingestão alimentar, diminuição de interesse nas atividades diárias, distúrbios do sono, alterações no aprendizado e na memória e anedônia. Estes efeitos são demonstrados com o uso agudo e com o uso crônico das citocinas *in vivo* (ANISMAN e MERALI 1999; DANTZER et al. 1999).
- A citocina IL-1 $\beta$  é um potente ativador do transportador de serotonina humano e, nos casos de aumento da produção de IL-1 $\beta$  como nas infecções, estaria aumentada a recaptação da serotonina sináptica, induzindo assim, o aparecimento de sintomas depressivos (RAMAMOORTHY et al. 1995).
- A imunoterapia com as citocinas IL-2 e IFN- $\alpha$ , utilizada para o tratamento de pacientes com câncer ou hepatite, é acompanhada pelo aparecimento de sintomas de depressão numa grande proporção de pacientes tratados (VALENTINE et al. 1998; RAVAUD et al. 1999; CAPURON et al. 2001). Os principais sintomas que ocorreriam nestes pacientes são: disforia, anedonia, perda de esperança, fadiga, apatia e lentificação psicomotora, que desapareceriam com a interrupção do uso da citocina.

- A incidência de até 50% de sintomas depressivos em patologias que apresentam importante aumento de produção de citocinas como doenças auto-imunes, alergias e convulsão (SCHWARTZ et al. 1993) envolveriam as citocinas na fisiopatologia da depressão.
- Outro mecanismo de indução de sintomatologia depressiva foi sugerido por TAKIKAWA et al. (1988) que caracterizaram a enzima 2,3 dioxygenase (IDO), presente nos monócitos, macrófagos e células da micróglia no parênquima cerebral, que atua na via da quinurenina. Através da enzima IDO, o aminoácido triptofano que é o precursor da serotonina, é metabolizado em quinurenina que por sua vez, é transformado em ácido nicotínico. Foi demonstrado que a citocina IFN- $\gamma$  estimula a enzima IDO (CARLIN et al. 1987). Portanto nas infecções, inflamações ou mesmo no câncer metastático, onde existe aumento da produção de IFN- $\gamma$ , ocorreria maior degradação do triptofano e, portanto, menor síntese de serotonina com conseqüente aparecimento da sintomatologia depressiva elevação dos níveis plasmáticos de cortisol também esta associada a maior degradação do aminoácido triptofano, pois o cortisol estimula a enzima triptofano oxigenase, que metaboliza o triptofano em ácido nicotínico (IWAGAKI et al. 1997).

DANTZER et al. (1999) citam vários pontos relevantes para esta introdução:

- citocinas administradas para pacientes e animais de laboratório, induzem o aparecimento de sintomas depressivos como: humor depressivo, diminuição de interesse em atividades diárias, anedônia, redução da ingesta de alimento

hiperatividade do eixo H-H-A e resistência dos receptores de glicocorticóides;

- exposições a estressores podem produzir a expressão de citocinas no SNC;
- pacientes deprimidos apresentariam ativação da resposta imune principalmente com aumento do número de monócitos e macrófagos;
- doenças clínicas com componente inflamatório importante, estão associadas à alta prevalência de depressão;
- os antidepressivos apresentariam atividade antiinflamatória, que atenuariam os efeitos comportamentais das alterações imunológicas.

Podemos concluir esta introdução conjecturando que a depressão pode piorar o prognóstico dos doentes com câncer não apenas por alterar a adesão destes pacientes ao tratamento oncológico, também pela possibilidade de alteração do sistema imune destes doentes. Não existe na literatura médica consenso sobre as alterações do sistema imune causadas pela depressão. Provavelmente a depressão em sua fase inicial seria acompanhada de aumento da produção de IL-2 e IL6, aumento do número de monócitos, diminuição da atividade citotóxica das células NK e diminuição ou não alteração do número de linfócitos e seus subtipos. Estas alterações seriam revertidas com o tratamento da depressão.

## 2 OBJETIVO

- Avaliar e comparar os parâmetros do sistema imune: linfócitos T e seus subtipos, linfócitos B, células NK e concentrações das citocinas IL-2 e IFN- $\gamma$ , nos doentes portadores de câncer e depressão , antes e após o tratamento da depressão.

### **3 MÉTODO**

#### **3.1 POPULAÇÃO DO ESTUDO**

- 1. Amostra estudada: 24 pacientes portadoras de câncer, matriculadas no Centro de Tratamento e Pesquisa Hospital do Câncer de São Paulo.**
  
- 2. Critérios de inclusão para ambos os grupos:**
  - Pacientes do sexo feminino na faixa etária compreendida entre 18 e 65 anos;
  - Pacientes portadores de câncer, sem doença metastática;
  - Pacientes em tratamento ambulatorial;
  - Pacientes que tenham assinado o consentimento pós-informado.
  
- 3. Critérios de inclusão para o grupo de pacientes com câncer e depressão:**
  - Pacientes com diagnóstico de depressão de acordo com os critérios do DSM-IV para diagnóstico de “Episódio Depressivo Maior”.
  
- 4. Critérios de inclusão para o grupo de pacientes com câncer e sem depressão:**
  - Pacientes que não preencheram os critérios do DSM-IV para o diagnóstico de “Episódio Depressivo Maior” na primeira avaliação.
  
- 5. Critérios de exclusão:**
  - Pacientes com antecedentes de doença afetiva;

- Pacientes em uso de antidepressivos, neurolépticos e benzodiazepínicos;
- Pacientes em vigência de surto psicótico ou quadro confusional;
- Pacientes com síndromes demenciais;
- Pacientes com dependência química;
- Pacientes com grave deterioração do estado físico ou com distúrbios de comunicação que o impossibilitem de se submeter à entrevista verbal.

### **3.2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS**

Os pacientes por ordem de chegada ao ambulatório de psiquiatria, a partir da data de início do estudo, foram avaliados inicialmente pelo pesquisador da seguinte maneira:

- A** Anamnese: onde foram colhidos dados demográficos, dados sobre os antecedentes psiquiátricos, uso atual de psicofármacos e dados sobre o câncer. Exame do prontuário médico do paciente para confirmação do diagnóstico do câncer e ausência de doença metastática.
- B** Exame psiquiátrico: entrevista com utilização dos critérios do DSM IV para o diagnóstico de “Episódio Depressivo Maior”.

Os doentes avaliados pelo pesquisador, que estavam em concordância com os critérios de inclusão, após o preenchimento do termo de consentimento, foram classificados e incluídos em um dos seguintes grupos:

- Grupo 1: com depressão.
- Grupo 2: sem depressão.

Após a inclusão dos pacientes, foi determinada a data de início dos procedimentos laboratoriais.

No dia 1 do estudo, após punção sanguínea realizada no laboratório clínico central às 7:00 horas, todos os pacientes foram examinados pelo pesquisador. Aos pacientes do grupo 1, com depressão, foi aplicada a escala de Hamilton D com 21 itens (HAMILTON 1960) e prescrito a medicação “citalopram” na dose de 20 mg em tomada única pela manhã. Os pacientes do grupo 2, sem depressão, foram reavaliados pelo pesquisador para a confirmação de ausência de quadro de depressão.

O citalopram é o antidepressivo mais seletivo *in vitro*, do grupo dos inibidores seletivos da recaptção da serotonina, e a sua primeira aprovação para uso comercial ocorreu na Dinamarca em 1989 (MULDOON 1996). A sua maior eficácia que o placebo no tratamento de pacientes com depressão é comprovado pelo estudo de meta-análise de MONTGOMERY et al. (1994). A sua eficácia no tratamento da depressão é comparável à eficácia dos antidepressivos tricíclicos imipramina, clomipramina e amitriptilina (MONTGOMERY e JONHSON 1995). A sua dose ótima varia entre 20 à 40 mg ao dia (MONTGOMERY et al. 1994). Os principais efeitos colaterais do citalopram seriam náuseas, tremores, diarreia e dificuldades de ereção, apresentando ainda baixo índice de interação com outras medicações (MULDOON 1996).

Para a avaliação da gravidade da depressão foi utilizada a escala de Hamilton para depressão com 21 itens (HAMILTON 1960). Esta escala é a mais utilizada mundialmente e constitui-se o “padrão-ouro” para a avaliação da gravidade da depressão.(CALIL e PIRES 1999). Esta escala leva em conta manifestações somáticas e cognitivas para o diagnóstico de depressão, embora as manifestações somáticas possam ser confundidas com sintomas do câncer,as manifestações

cognitivas são adequadamente abordadas. A escala de HAM-D possui três versões de 17, 21 e 24 itens. WALSH et al. (2002), em artigo de revisão, demonstra que no período de janeiro de 1981 à dezembro de 2000 foram publicados 74 artigos utilizando-se a escala HAM-D para a avaliação da gravidade da depressão, sendo que deste total, em 49% dos artigos foram utilizados a escala com 17 itens, em 48% foi utilizado a versão com 21 itens e em 2,9% a versão com 24 itens. A versão com 21 itens avalia melhor os sintomas de ansiedade presentes na depressão e este fato justifica a utilização desta versão.

Embora o autor da escala HAMILTON (1960), não tenha proposto um padrão de corte, geralmente é aceito que pontuações entre 8 e 13, indicam depressão leve; entre 14 e 18, depressão moderada; entre 19 e 22, depressão grave e de 23 ou acima, depressão muito grave (MORENO e MORENO 1998).

A maioria dos ensaios clínicos tem estabelecido como critério de remissão uma diminuição de 50% dos escores da HAM -D (CALIL e PIRES 1999).

Os procedimentos laboratoriais e clínicos foram repetidos para todos os pacientes dos dois grupos, nos dias 15, 30 e 45 do estudo.

Os pacientes do grupo com depressão, em que foi prescrita a medicação citalopram, permaneceram em uso da medicação durante todo o período do estudo.

### 3.3 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

#### 1 Punção sangüínea

Foi marcada para as 7:00 horas a chegada dos pacientes ao laboratório. Após repouso em sala silenciosa e com pouca luminosidade por 30 minutos, era retirado 20 ml de sangue periférico através de cateter previamente instalado.

#### 2 Exames Laboratoriais

Nos dias 1, 15, 30 e 45 do estudo, os seguintes exames foram realizados:

- a) Hemograma completo;
- b) Quantificação de linfócitos T (CD3<sup>+</sup>) e subtipos de linfócitos T (CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>), linfócitos B (CD19<sup>+</sup>), células NK (CD56<sup>+</sup>) e monócitos (CD14<sup>+</sup>);
- c) dosagem das citocinas IL-2 e IFN- $\gamma$ ;
- d) dosagem de cortisol;
- e) dosagem de T3, T4 livre e TSH.

#### 3 Técnicas Laboratoriais

##### Análise da população de linfócitos

A quantificação de linfócitos B (CD19<sup>+</sup>), linfócitos T (CD3<sup>+</sup>), subtipos de T (CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>), células NK e monócitos (CD14<sup>+</sup>) foi realizada através da técnica de citometria de fluxo. Esta técnica permite medir simultaneamente características físicas das células, tais como tamanho/forma e granulosidade/complexidade e características químicas, utilizando anticorpos fluorescentes medindo a intensidade da fluorescência. Nesta técnica, o anticorpo monoclonal conjugado com um

fluorocromo, reconhece o seu ligante na superfície da célula. A positividade é verificada através do deslocamento da intensidade de fluorescência de cada amostra em relação ao seu controle isotípico.

**Técnica:**

A uma alíquota de sangue total contendo de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^6$  leucócitos, em um volume final de  $100\mu\text{l}$ , foram adicionados  $20\mu\text{l}$  de anticorpo monoclonal específico (Becton Dickinson Immunocytometry Systems) ou do controle isotípico (Becton Dickinson Immunocytometry Systems), conjugados com fluorocromos do tipo isotocianato de fluorêscina (FITC) ou ficoeritrina (PE). Esta mistura foi incubada por 20 minutos à temperatura ambiente e sob o abrigo de luz. Após este período de incubação, 2 ml de solução de “FACS Lysing”(Becton Dickinson Immunocytometry Systems), diluída anteriormente na proporção de 1:10, foi adicionado em cada tubo, com o objetivo de “lisar” as hemácias e só manter na amostra os leucócitos. Novamente as amostras foram incubadas por 10 minutos a temperatura ambiente e sobre o abrigo de luz, e após este período, foram centrifugadas a 2000 rpm por 5 minutos.

O sobrenadante foi então descartado e o precipitado (os leucócitos) foi lavado por mais 3 vezes com PBS 1X PH 7,4. Ao final das lavagens, as células foram suspensas com  $500\mu\text{l}$  de PBS 1X, e as amostras foram analisadas no citômetro de fluxo, FACS<sub>can</sub> - “Fluorescent- Activated Cell Sorting” (Becton Dickinson), através do “software” especializado LYSIS II. (MARTI et al. 2001).

### **Dosagem das citocinas IL-2 e IFN- $\gamma$**

Inicialmente foram utilizadas para a dosagem de citocinas células mononucleares do sangue periférico, separadas pelo método de BOYUM (1968). Porém KIRCHNER et al. (1982) citam que a utilização de sangue total teria vantagens como: a menor necessidade de manipular o material, a utilização de baixa quantidade de sangue necessário, bem como custos menores.

#### **A** Cultura de células do sangue periférico.

A dosagem de citocinas foi realizada utilizando como amostra sangue periférico, colhido com heparina. As amostras de sangue foram diluídas na proporção de 1:10 com meio de cultura RPMI-1640 (Gibco- Brl) e cultivadas em placas de cultura de 24 poços contendo 1ml da mistura em cada placa, na presença ou não de estímulo com 5ng/ml de PMA (Sigma) e 1  $\mu$ g/ml de ionomicina (Sigma). As culturas foram mantidas em estufas de 37°C, em atmosfera úmida de 95% O<sub>2</sub> e 5% de CO<sub>2</sub>, durante 24 e 48 horas, sendo que cada condição foi realizada em duplicata.

Após este período, as células, juntamente com o meio de cultura, foram retiradas das placas e centrifugadas a 2000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi então recolhido e estocado à - 70°C.

#### **B** Ensaio de Elisa

A dosagem de citocinas do sobrenadante da cultura de células, foi realizada pelo método de Elisa (“enzyme-linked immunoasorbent assays”), utilizando o *kit* OptEIA™ (PharMingen).

Este método é um imunoenensaio quantitativo, baseado na capacidade de um anticorpo específico, reconhecer a citocina a ser dosada. Trata-se de um método bastante específico cuja especificidade é dependente da qualidade do anticorpo utilizado. Neste trabalho foram utilizados os anticorpos monoclonais humano anti-IFN- $\gamma$  e anti-IL-2. A desvantagem deste método é que, apesar de ser bastante sensível, tem como inconveniência detectar quantidades de citocinas biologicamente inativas.

O ensaio foi realizado como descrito por REMICK e WHITESIDE (2001) e sendo seguidas as instruções do *kit* utilizado.

#### **Dosagem de triiodotironina (T3)**

O hormônio T3 foi determinado através do *kit* Elecsys T3 (Roche). Este *kit* permite determinar a concentração do hormônio T3, através da técnica de imunoenensaio, que tem como princípio da reação, uma competição entre o T3 endógeno e o anticorpo policlonal anti-T3, de carneiro e marcado com rutênio.

Uma alíquota de 30 $\mu$ l de soro dos pacientes em estudo foi incubada com 70 $\mu$ l do anticorpo policlonal anti-T3, formando assim um complexo antígeno-anticorpo. A este complexo foram adicionados 70 $\mu$ l de biotina e 30 $\mu$ l de estreptavidina. Este produto foi analisado no equipamento Elecsys 1010, que determina a quantidade de T3, através da emissão luminosa formada pela reação de quimioluminêscencia, do complexo imunológico marcado com rutênio, que reagiu com a estreptavidina e biotina.

A sensibilidade mínima e máxima do *kit* utilizado é respectivamente de 0,195 ng/ml e 6,51ng/ml.

#### **Dosagem de Tiroxina livre (T4 livre)**

O hormônio T4 foi determinado através do *kit* Elecsys FT4 (Roche). Este *kit* permite determinar a concentração do hormônio T4, através da técnica de imunoensaio, e tem como princípio da reação, a competição entre o T4 endógeno e o anticorpo policlonal anti-T4 de carneiro e marcado com rutênio.

Foram incubados 15 $\mu$ l de soro dos pacientes em estudo, juntamente com 75 $\mu$ l do anticorpo policlonal anti-T4, formando assim um complexo antígeno-anticorpo. A este complexo foram adicionados 75 $\mu$ l de biotina e 35 $\mu$ l de estreptavidina. Este produto foi analisado no equipamento Elecsys 1010, que determinou quantidade de T4, através da emissão luminosa formada pela reação de quimioluminescência, do complexo imunológico marcado com rutênio, que reagiu com a estreptavidina e biotina.

A sensibilidade mínima e máxima do *kit* utilizado é respectivamente de 0,023 ng/ml e 7,77 ng/ml.

#### **Dosagem de Tirotrófina (TSH)**

O hormônio TSH foi determinado através do *kit* Elecsys TSH (Roche). Este *kit* permite determinar a concentração do hormônio TSH, através da técnica de imunoensaio, e tem como princípio da reação, a competição entre o TSH endógeno e o anticorpo policlonal anti-TSH, de rato marcado com rutênio.

Foram incubados 50 $\mu$ l de soro dos pacientes em estudo, juntamente com 60 $\mu$ l do anticorpo policlonal anti-TSH, formando assim um complexo antígeno-anticorpo. A este complexo foram adicionados 50 $\mu$ l de biotina e 40 $\mu$ l de estreptavidina. Este produto foi analisado no equipamento Elecsys 1010, que determinou quantidade de

TSH, através da emissão luminosa formada pela reação de quimioluminescência, do complexo imunológico marcado com rutênio, que reagiu com a estreptavidina e biotina.

A sensibilidade mínima e máxima do *kit* utilizado é respectivamente de 0,005  $\mu$ IU/ml e 100 $\mu$ IU/ml.

### **Dosagem de Cortisol**

A concentração de cortisol foi determinada através do *kit* de ensaio LKCO1 (laboratório DPC). Este *kit* permite determinar a concentração do cortisol, através da técnica de imunoensaio, e tem como princípio da reação, a competição entre o cortisol endógeno e o anticorpo policlonal anti-cortisol, de coelho marcado.

Uma alíquota de soro dos pacientes em estudo foi incubada com anticorpo policlonal anti-cortisol, de coelho marcado formando assim um complexo antígeno-anticorpo. Este complexo foi analisado no equipamento Immulite, que através de emissão luminosa determinou a quantidade de cortisol da amostra.

A sensibilidade mínima do *kit* utilizado é de 0,2  $\mu$ g/dL.

### 3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística incluiu medidas de tendência e dispersão.

Para a comparação das médias das variáveis quantitativas na primeira e quarta avaliação foi utilizado o teste de Wilcoxon.

Para a comparação das variáveis quantitativas na primeira avaliação, segundo o estado depressivo, foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

Para todos os testes foi estabelecido um erro  $\alpha = 5\%$ .

## **4 RESULTADOS**

### **4.1 AMOSTRA ESTUDADA**

#### **-Idade**

A população do estudo foi composta de 24 pacientes do sexo feminino, divididas em dois grupos: grupo 1 constituído por 16 pacientes com câncer e com quadro depressivo e o grupo 2 constituído por 8 pacientes com câncer e sem patologia psiquiátrica.

As pacientes do grupo 1 apresentavam idade variando de 37 a 65 anos, com média de 51,93 e desvio padrão de 9,35. As pacientes do grupo 2 apresentavam idade variando de 38 a 53 anos, com média de 46,40 e desvio padrão de 5,44.

Não foi demonstrada diferença estatisticamente significativa entre as médias de idade do grupo 1 e do grupo 2 ( $p = 0,109$ ).

#### **-Tipos tumorais**

O grupo de pacientes com depressão foi constituído por 12 (75%) pacientes com câncer de mama, 1 (6,25%) paciente com câncer de estômago, 1 (6,25%) paciente com câncer de esôfago, 1 (6,25%) paciente com câncer de útero e 1 (6,25%) paciente com lipossarcoma retroperitoneal.

O grupo de pacientes sem depressão foi constituído por 8 pacientes com câncer de mama.

**Tabela 6** - Tumores e tratamentos no grupo de pacientes com câncer e depressão.

PACIENTE	TUMOR/ESTADIAMENTO (TNM E CLÍNICO)	TERAPÊUTICA ONCOLÓGICA		
		Cirurgia	Quimioterapia	Radioterapia
1	Carcinoma papilífero em mama E/T <sub>1</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> /I	Mastectomia	(-)	(-)
2	Adenocarcinoma de estômago/T <sub>2</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub> /II	Gastrectomia total e esofagectomia dicstal	(-)	(-)
3	Cirurgia espinocelular de esôfago T <sub>4</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub> /III	(*)	(-)	(-)
4	Carcinoma ductal infiltrante mama D/T <sub>4c</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub> /IIIB	Mastectomia	(-)	(-)
5	Carcinoma ductal invasivo mama/T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> /IIA	Mastectomia	(-)	(-)
6	Carcinoma ductal invasivo mama D/T <sub>1c</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> /I	Mastectomia	(-)	(-)
7	Carcinoma ductal invasivo mama D/T <sub>2</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub> /IIB	Quadrantectomia	(-)	(-)
8	Carcinoma ductal invasivo mama D/T <sub>1c</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub> /IIA	Mastectomia	(-)	(-)
9	Lipossarcoma mixoide em fossa iliaca esquerda T <sub>2b</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> /IIA	Ressecção completa	(-)	(-)
10	Carcinoma ductal infiltrante mama E/T <sub>2</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub> /IIB	Mastectomia	(-)	(-)
11	Carcinoma ductal invasivo mama D/T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> /IIA	Mastectomia	(-)	(-)
12	Carcinoma ductal <i>in situ</i> mama E/T <sub>2</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub> /IIB	Quadrantectomia	(-)	(-)
13	Carcinoma ductal invasivo mama E/T <sub>2</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub> /IIB	Ressecção segmentar	(-)	(-)
14	Carcinoma ductal infiltrante mama E/T <sub>2</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub> /IIB	Mastectomia	(-)	(-)
15	Carcinoma ductal invasivo mama E/T <sub>x</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub>	Ressecção segmentar	(-)	(-)
16	Carcinoma espinocelular do colo de útero T <sub>2c</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> /IIA	(*)	(-)	(-)

**Legenda:** (\*) não foi realizada;

(-) não foi realizado de maneira concomitante às avaliações do estudo;

(+) foi realizado de maneira concomitante às avaliações do estudo.

Estadiamento: TNM / Clínico.

**Tabela 7** - Tumores e tratamentos oncológicos realizados no grupo de pacientes com câncer e sem depressão.

PACIENTE	TUMOR/ESTADIAMENTO (TNM E CLÍNICO)	TERAPÊUTICA ONCOLÓGICA		
		Cirurgia	Quimioterapia	Radioterapia
1	Carcinoma papilífero em mama E/T <sub>1</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> /I	Quadrantectomia	(+)	(+)
2	Carcinoma ductal invasivo mama D/T <sub>2</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub> /IIB	Mastectomia	(+)	(+)
3	Carcinoma ductal infiltrante mama E/T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> /IIA	Ressecção segmentar	(-)	(-)
4	Carcinoma ductal invasivo mama E/T <sub>1s</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> /0	Mastectomia	(-)	(-)
5	Carcinoma ductal invasivo mama E/T <sub>2</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub> /IIB	Quadrantectomia	(+)	(+)
6	Carcinoma lobular invasivo mama E/T <sub>3</sub> N <sub>2</sub> M <sub>0</sub> /IIIA	Mastectomia	(-)	(-)
7	Carcinoma ductal invasivo mama D/T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> /IIA	Ressecção segmentar	(+)	(+)
8	Carcinoma ductal infiltrante mama D/T <sub>3</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> /IIB	Mastectomia	(-)	(+)

**Legenda:** (-) não foi realizado de maneira concomitante às avaliações do estudo;  
 (+) foi realizado de maneira concomitante às avaliações do estudo;  
 Estadiamento: TNM Clínico.

## 4.2 ALTERAÇÕES DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E IMUNOLÓGICOS RELACIONADOS À DEPRESSÃO

A pesquisa das possíveis alterações acima citadas foi realizada através da comparação do grupo de pacientes com câncer e depressão, com o grupo de pacientes com câncer e sem depressão, na primeira avaliação.

As pacientes do grupo 1 (com depressão) iniciaram a terapêutica com a medicação antidepressiva no dia seguinte à primeira avaliação, logo com a comparação dos resultados dos dois grupos na primeira avaliação é possível aferirmos as possíveis alterações imunes e hematológicas devidas a depressão.

Todos os resultados deste item referem-se a primeira avaliação.

#### **4.2.1 Escala de Hamilton D**

As pacientes com depressão apresentaram *scores* da Escala de Hamilton D, variando de 7 à 22, com média de 16 e desvio padrão de 4.

#### **4.2.2 Eritrócitos, Hemoglobina, Hematócrito, Leucócitos, Bastonetes, Basófilos, Segmentados, Eosinófilos, Linfócitos, Monócitos e Plaquetas.**

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as médias das contagens de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, leucócitos, bastonetes, basófilos, segmentados, eosinófilos, linfócitos , monócitos e plaquetas nos grupos de pacientes com depressão e sem depressão na primeira avaliação (Tabela 8).

**Tabela 8** - Médias e respectivos desvios padrão de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, leucócitos, bastonetes, basófilos, segmentados, eosinófilos, linfócitos, monócitos e plaquetas segundo o estado depressivo, na primeira avaliação.

VARIÁVEL	ESTADO DEPRESSIVO				p*
	com depressão		sem depressão		
Eritrócitos (milhões/mm <sup>3</sup> )	4,04	(0,47)	4,05	(0,49)	0,907
Hemoglobina (g/dL)	12,62	(1,14)	12,15	(1,50)	0,304
Hematócrito (%)	37,24	(3,37)	36,06	(4,06)	0,319
Leucócitos (mil/mm <sup>3</sup> )	4,90	(1,78)	5,84	(1,85)	0,364
Bastonetes (valor/mm <sup>3</sup> )	35,71	(30,33)	60,40	(35,32)	0,148
Basófilos (valor/mm <sup>3</sup> )	21,07	(29,67)	21,30	(36,20)	0,834
Segmentados (valor/mm <sup>3</sup> )	2810,14	(1082,11)	3404,10	(1277,47)	0,172
Eosinófilos (valor/mm <sup>3</sup> )	97,29	(216,71)	101,60	(128,72)	0,240
Linfócitos (valor/mm <sup>3</sup> )	1440,64	(682,43)	1915,10	(1207,93)	0,266
Monócitos (valor/mm <sup>3</sup> )	395,14	(215,99)	293,50	(143,37)	0,178
Plaquetas (mil/mm <sup>3</sup> )	223,79	(74,40)	266,50	(66,76)	0,198

*Legenda:* \*nível de significância estatística segundo o teste de Mann-Whitney.

#### 4.2.3 Triiodotironina (T3), Tiroxina livre (T4 livre), Tirotrófina (TSH) e

##### Cortisol.

Foi observada diferença estatisticamente significativa entre as médias dos valores de cortisol dos grupos de pacientes com depressão e sem depressão na primeira avaliação ( $p = 0,032$ ) (tabela 9).

Foi observada diferença entre a média dos valores de T3 no grupo de pacientes com e sem depressão na primeira avaliação, com tendência à significância estatística ( $p = 0,057$ ) (Tabela 9).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos valores de T4 livre e TSH nos grupos de pacientes com e sem depressão, na primeira avaliação ( $p = 0,359$  e  $p = 0,088$  respectivamente) (Tabela 9).

**Tabela 9** - Médias e respectivos desvios padrão do valor de T3, T4 livre, TSH e Cortisol, na primeira avaliação, segundo o estado depressivo.

VARIÁVEL	ESTADO DEPRESSIVO				p*
	com depressão		sem depressão		
Cortisol ( $\mu\text{g} / \text{dL}$ )	14,96	(6,35)	10,25	(3,91)	0,032
T3 (ng/dL)	137,88	(25,52)	126,55	(10,38)	0,057
T4 (ng/dL)	1,11	(0,24)	1,16	(0,17)	0,359
TSH (mUI/L)	2,70	(1,15)	2,36	(2,56)	0,888

*Legenda: \* nível de significância estatística segundo o teste de Mann-Whitney.*

#### 4.2.4 Subtipos de Linfócitos

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as médias de  $\text{CD3}^+$ ,  $\text{CD4}^+$ ,  $\text{CD8}^+$ ,  $\text{CD56}^+$ ,  $\text{CD19}^+$ ,  $\text{CD3}^+ / \text{CD56}^+$ ,  $\text{CD3}^- / \text{CD56}^+$ ,  $\text{CD3}^+ / \text{CD8}^+$ ,  $\text{CD3}^- / \text{CD8}^+$ ,  $\text{CD4}^+ / \text{CD8}^+$  e razão  $\text{CD4} / \text{CD8}$  nos grupos de pacientes com e sem depressão, na primeira avaliação (Tabela 10).

**Tabela 10** - Médias e respectivos desvios padrão dos subtipos de linfócitos na primeira avaliação segundo o estado depressivo.

VARIÁVEL	ESTADO DEPRESSIVO				p*
	com depressão		sem depressão		
CD3+	1028,14	(498,45)	1451,50	(873,97)	0,101
CD4	652,93	(360,67)	967,00	(609,90)	0,114
CD8+	469,79	(230,40)	517,50	(351,90)	0,953
CD56+	240,71	(111,88)	264,90	(213,36)	0,815
CD19+	166,86	(161,88)	155,10	(145,59)	0,953
CD3+/CD56+	75,86	(51,15)	137,50	(156,50)	0,487
CD3+/CD56+	106,71	(43,20)	123,	(88,53)	0,908
CD3+/CD8+	415,86	(196,54)	489,33	(336,28)	0,867
CD3+/CD8+	61,62	(33,70)	74,78	(62,04)	0,947
CD4+/CD8+	29,57	(36,98)	46,50	(59,97)	0,412
Razão CD4+/CD8+	1,44	(0,43)	2,03	(1,04)	0,138

*Legenda:* \*nível de significância estatística segundo o teste de Mann-Whitney.

\*\* valores dos subtipos de linfócitos em : valor absoluto / mm<sup>3</sup>

#### 4.2.5 Interleucina 2 e Interferon - $\gamma$

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos valores de IL-2 e IFN-  $\gamma$ , no grupo de pacientes com e sem depressão, na primeira avaliação (p = 0,639 e 0,747 respectivamente) (Tabela 11).

**Tabela 11** - Médias e respectivos desvios padrão, dos valores de IL-2 e IFN, na primeira avaliação, segundo o estado depressivo.

VARIÁVEL	ESTADO DEPRESSIVO				p*
	com depressão		sem depressão		
IL-2 (pg / ml / 10 <sup>3</sup> cel.)	1009,79	(685,99)	894,90	(559,97)	0,747
IFN- $\gamma$ (pg / ml / 10 <sup>3</sup> cel.)	462,07	(263,90)	695,20	(865,82)	0,752

*Legenda:* \* nível de significância estatística segundo o teste de Mann-Whitney.

### 4.3 ALTERAÇÕES DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E IMUNOLÓGICOS RELACIONADAS À MELHORA DO QUADRO DE DEPRESSÃO

A análise das possíveis alterações dos parâmetros hematológicos e imunológicos funcionais relacionadas à remissão parcial da depressão foi realizada através da comparação das médias dos parâmetros estudados entre a primeira e quarta avaliação do grupo de pacientes com depressão. Esta comparação de médias entre a primeira e a quarta avaliação também foi realizada no grupo de pacientes sem depressão para controle.

Na quarta avaliação, todas as pacientes com depressão já estavam utilizando o antidepressivo citalopram há 45 dias.

#### 4.3.1 Amostra da quarta avaliação

Das 16 pacientes iniciais do grupo com depressão, 4 (16,66 %) pacientes abandonaram o estudo. Todas apresentavam câncer de mama.

Após consulta telefônica foram determinadas as causas dos abandonos:

- 1 paciente abandonou o estudo devido aos efeitos colaterais da medicação;
- 1 paciente abandonou o estudo devido à incompatibilidade de horários;

- 1 paciente abandonou o estudo devido a problemas ocorridos no laboratório central, local este de colheita do material.
- 1 paciente abandonou o estudo devido à piora do estado físico.

Das 8 pacientes iniciais do grupo sem depressão, 2 (25%) pacientes abandonaram o estudo.

Após consulta telefônica foram determinadas as causas dos abandonos:

- 1 paciente abandonou o estudo devido à incompatibilidade de horários;
- 1 paciente abandonou o estudo devido a problemas familiares que a impediam de sair de sua casa.

#### **4.3.2 Escala de Hamilton D.**

As pontuações da escala de HAM-D no grupo de pacientes com câncer e depressão estão citadas na Tabela 12.

**Tabela 12 - Scores da escala de Hamilton D 21 ítems, nas 4 avaliações, no grupo de pacientes com câncer e depressão.**

Paciente	Avaliação 1	Avaliação 2	Avaliação 3	Avaliação 4
1	19	4	*	*
2	22	19	15	14
3	15	19	15	9
4	17	*	*	*
5	21	17	19	16
6	15	16	13	8
7	7	11	9	5
8	13	9	12	9
9	18	13	11	14
10	19	19	*	*
11	19	*	*	*
12	21	21	25	22
13	**	18	11	15
14	15	20	17	11
15 <sup>o</sup>	9	9	**	6
16	17	**	8	*

*Legenda: \* Abandono do estudo.*

*\*\* Não foi realizada a avaliação psiquiátrica.*

*Obs.: Os escores em negrito referem-se aos pacientes que apresentaram diminuição dos valores da escala HAM-D entre a primeira e quarta avaliação.*

No grupo de pacientes com depressão, foi observada diferença estatisticamente significativa entre as médias dos *scores* da escala de HAM-D com 21 ítems, na primeira e quarta avaliação ( $p = 0,027$ ) (Tabela 13).

**Tabela 13** - Médias e respectivos desvios padrão dos *scores* da escala Hamilton-D 21 itens, na primeira e quarta avaliação, das pacientes com depressão.

<b>Paciente</b>	<b>Avaliação 1</b>	<b>Avaliação 4</b>	<b>p*</b>
Ham-D	16,14 (4,56)	10,86 (3,76)	0,027

*Legenda:* \* nível de significância estatística segundo o teste de Wilcoxon.

#### **4.3.3 Eritrócitos, Hemoglobina, Hematócrito, Leucócitos, Segmentados Bastonetes, Basófilos, Linfócitos, Monócitos, Eosinófilos e Plaquetas**

Em ambos os grupos, com e sem depressão, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos valores de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito, bastonetes, eosinófilos, basófilos, monócitos e plaquetas na primeira e quarta avaliação (Tabela 14)

No grupo de pacientes sem depressão, foi observada diferença estatisticamente significativa entre as médias das contagens de leucócitos e segmentados na primeira e quarta avaliação ( $p = 0,017$  e  $p = 0,012$ , respectivamente). Houve diferença entre as médias da contagem de linfócitos, na primeira e quarta avaliação, no limite da significância estatística ( $p = 0,050$ ) (Tabela 14)

No grupo de pacientes com depressão, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as médias da contagem de leucócitos, segmentados e linfócitos, na primeira e quarta avaliação ( $p = 0,859$ ,  $p = 0,678$  e  $p = 0,139$  respectivamente) (Tabela 14)

**Tabela 14** - Médias e respectivos desvios padrão, dos valores de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, leucócitos, bastonetes, segmentados, eosinófilos, linfócitos, monócitos e plaquetas, na primeira e quarta avaliação, segundo o estado depressivo.

VARIÁVEL	COM DEPRESSÃO				p*	SEM DEPRESSÃO				p*
	Avaliação 1		Avaliação 4			Avaliação 1		Avaliação 4		
Eritócitos (milhões/mm <sup>3</sup> )	3,93	(0,54)	3,96	(0,74)	0,722	4,17	(0,46)	4,11	(0,29)	0,499
Hemoglobina (gdL)	12,27	(1,25)	12,20	(1,69)	0,889	12,21	(1,69)	12,43	(0,75)	0,528
Hematócrito (%)	36,06	(3,59)	36,07	L(5,42)	0,953	36,48	(4,45)	36,88	(2,18)	0,674
Leucócitos (mil/mm <sup>3</sup> )	4,74	(1,87)	4,70	(1,80)	0,859	6,30	(1,64)	4,38	(2,46)	0,017
Bastonetes (valor/mm <sup>3</sup> )	34,11	(33,18)	54,33	(43,50)	0,092	65,50	(37,75)	140,88	(310,75)	0,401
Segmentado (valor/mm <sup>3</sup> )	2788	(11,49)	2585	(824)	0,676	3879	(679)	2277	(797)	0,012
Eosinófilos (valor/mm <sup>3</sup> )	103,67	(126,2)	129,56	(142,65)	0,214	110,25	(144,2)	42,88	(85,10)	0,173
Linfócitos (valor/mm <sup>3</sup> )	1426	(797)	1604	(859)	0,139	1906	(1354)	1493	(1261)	0,050
Monócitos (valor/mm <sup>3</sup> )	371	(153)	294	(142)	0,110	256	(102)	360	(404)	0,779
Plaquetas (mil/mm <sup>3</sup> )	214,78	(83,54)	226,76	(86,18)	0,374	268,50	(54,37)	44,75	(83,50)	0,161

*Legenda:* \* nível de significância estatística segundo o teste de Wilcoxon.

#### 4.3.4 Cortisol, Triiodotironina, Tiroxina livre e Tirotrófina

Em ambos os grupos, com e sem depressão, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as médias de Cortisol, Triiodotironina, Tiroxina livre e Tirotrófina, na primeira e quarta avaliação (Tabela 15).

**Tabela 15** - Médias e respectivos desvios padrão de Cortisol, T3, T4 livre e TSH, na primeira e na quarta avaliação, segundo o estado depressivo.

VARIÁVEL	COM DEPRESSÃO				p*	SEM DEPRESSÃO				p*
	Avaliação 1		Avaliação 4			Avaliação 1		Avaliação 4		
Cortisol ( $\mu$ g / dL)	15,60	(6,77)	15,86	(5,89)	0,686	10,35	(4,17)	11,32	(5,61)	0,262
T3 (ng/dL)	135,97	(29,81)	140,57	(33,66)	0,515	128,81	(10,04)	137,64	(31,95)	0,310
T4 livre (ng/dL)	1,09	(0,20)	1,01	(0,14)	0,880	1,18	(0,18)	1,27	(0,19)	0,396
TSH (mUI/L)	2,61	(1,15)	2,98	(1,92)	0,515	2,33	(2,95)	2,29	(2,12)	1,000

*Legenda:* \* nível de significância estatística segundo o teste de Wilcoxon.

#### 4.3.5 Subtipos de Linfócitos

Em ambos os grupos, com e sem depressão, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas, entre as médias dos valores de CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>, CD 19<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup> / CD8<sup>+</sup>, CD3<sup>-</sup> / CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> / CD8<sup>+</sup>, e razão CD4 / CD8 na primeira e quarta avaliação (Tabela 16).

**Tabela 16** - Médias e respectivos desvios padrão dos subtipos de linfócitos, na primeira e quarta avaliação, segundo o estado depressivo.

VARIÁVEL	COM DEPRESSÃO				P*	SEM DEPRESSÃO				P*
	Avaliação 1		Avaliação 4			Avaliação 1		Avaliação 4		
CD3+	1086	(598)	1156	(686)	0,779	417	(979)	1207	(1020)	0,327
CD4+	741	(426)	794	(487)	0,484	885	(658)	800	(690)	0,840
CD8+	459	(263)	471	(221)	0,674	525	(380)	463	(536)	0,528
CD56+	184	(118)	197	(116)	0,233	248	(159)	243	(306)	0,866
CD19+	195,75	(180,30)	221,50	(188,79)	0,069	163,75	(162,50)	88,75	(75,31)	0,123
CD3+/CD8-	449	(234)	460	(249)	0,893	486	(389)	491	(540)	0,917
CD3-/CD8+	73	(34)	69	(43)	0,588	67	(56)	63	(85)	0,753
CD4+/CD8+	38	(46)	30	(25)	0,726	30	(24)	24	(22)	0,752
Razão CD4/CD8	1,65	(0,35)	1,65	(0,37)	0,889	1,73	(0,69)	2,06	(1,13)	0,225

**Legenda:** \* nível de significância estatística segundo o teste de Wilcoxon.

\*\* Valores dos subtipos de linfócitos em: valor absoluto / mm<sup>3</sup>.

#### 4.3.6 Interleucina 2 e Interferon - $\gamma$

No grupo de pacientes com depressão, foi observada diferença entre as médias dos valores de IL-2, entre a primeira e a quarta avaliação, no limite da significância estatística ( $p = 0,050$ ). Esta diferença não foi observada no grupo de pacientes sem depressão ( $p = 0,575$ ) (Tabela 17).

Em ambos os grupos, com e sem depressão, não foram observadas diferenças estatisticamente significativa das médias dos valores de IFN- $\gamma$ , na primeira e quarta avaliação ( $p = 0,674$  e  $p = 0,263$ , respectivamente) (Tabela 17).



**Tabela 17** - Médias e respectivos desvios padrão dos valores de IL-2 e IFN- $\gamma$ , na primeira e quarta avaliação, segundo o estado depressivo.

VARIÁVEL	COM DEPRESSÃO				P*	SEM DEPRESSÃO				P*
	Avaliação 1		Avaliação 4			Avaliação 1		Avaliação 4		
IL-2 (pg/ml/10 <sup>3</sup> cel.)	1372	(697)	1082	(509)	0,050	1052	(510)	977	(502)	0,575
IFN- $\gamma$ (pg/ml/10 <sup>3</sup> cel.)	503	(328)	455	(232)	0,674	831	(625)	518	(343)	0,263

**Legenda:** \* nível de significância estatística segundo o teste de Wilcoxon.

## 5 DISCUSSÃO

Foram avaliados neste estudo os reflexos da depressão e de sua terapêutica em alguns parâmetros indicativos do estado funcional do sistema imune em pacientes com Câncer.

As pacientes do grupo com depressão apresentaram remissão parcial do quadro depressivo (diminuição de 33% dos valores da escala HAM-D) na quarta avaliação do estudo. Este trabalho não nos permite afirmar que esta melhora da depressão deve-se ao uso do antidepressivo citalopram, tendo em vista a não utilização de grupo controle medicado com placebo para comparação. Todavia, a eficácia do citalopram no tratamento da depressão já foi demonstrada em 1994 por MONTGOMERY et al., entre outros.

O grupo de pacientes com câncer e depressão em nenhum momento foi submetido a psicoterapia formal e como é sabido que a remissão espontânea de um episódio depressivo geralmente demora de 6 à 13 meses (KAPLAN e SADOCK 1993), podemos especular que a melhora da depressão neste grupo de pacientes, estaria relacionada ao uso do antidepressivo e também a própria influência da entrevista.

Um dos principais achados deste estudo é a diminuição dos níveis de IL-2 em pacientes com câncer, após remissão parcial do quadro de depressão (Tabela 17).

Este resultado demonstra que os linfócitos T das pacientes com câncer e depressão na primeira avaliação, isto é, ainda sem o uso do antidepressivo, eram mais responsivos ao estímulo mitogênico (PMA), e produziram maior quantidade de

IL-2. Na quarta avaliação, já com o uso de citalopram por 45 dias, os linfócitos T destas pacientes responderam menos ao estímulo de PMA e produziram menor quantidade de IL-2 do que na primeira avaliação. Portanto, em relação aos níveis de IL-2, as pacientes com câncer e diagnosticadas com depressão na primeira avaliação do seguimento, apresentaram maior grau de resposta ao estímulo mitogênico, em comparação com o grau de resposta ao mesmo estímulo mitogênico 45 depois, quando estas pacientes apresentaram remissão parcial da depressão verificada pela diminuição dos escores da escala HAM-D 21 itens (Tabela 13).

A diminuição da média dos valores de IL-2 na quarta avaliação no grupo de pacientes com câncer e depressão por nós observada, estaria relacionada com a remissão parcial do quadro de depressão avaliada clinicamente e pela diminuição de 33% dos escores da escala HAM-D (Tabela 13) ou poderia ainda estar relacionada à ação da medicação antidepressiva citalopram na dose de 20mg por 45 dias, nos linfócitos das pacientes com câncer e depressão.

Na avaliação inicial das pacientes com câncer e depressão e das pacientes com câncer e sem depressão não foi demonstrado diferença das médias de concentração de IL-2 entre estes dois grupos de pacientes (Tabela 11), portanto a diminuição das concentrações de IL-2 provavelmente estaria relacionada a utilização do antidepressivo.

A diminuição da produção de IL-2 na quarta avaliação nas pacientes com câncer e depressão não está relacionada a alterações dos valores de cortisol plasmático, pois não foram demonstradas alterações das médias dos valores de cortisol plasmático entre a primeira e quarta avaliação nos dois grupos de pacientes do nosso estudo (Tabela 15).

A diminuição acima citada também não está relacionada à diminuição do número de linfócitos na amostra que foi utilizada na quarta avaliação, pois em todas as avaliações das citocinas foi padronizado o número de linfócitos da amostra de sangue utilizada.

Não foram demonstradas alterações nas concentrações de IFN- $\gamma$  entre a primeira e quarta avaliação nos grupos de pacientes com câncer com e sem depressão (Tabela 17).

Poucos estudos avaliam a ação do antidepressivo citalopram no sistema imune. KUBERA et al. (2000), demonstram que em camundongos C57BL/6, a utilização de citalopram por 7, 14 e 28 dias, resultou em diminuição da produção de IL-2. XIA et al. (1996) demonstram que *in vitro* os antidepressivos clomipramina, imipramina e citalopram diminuem a produção de IL-2 e IFN- $\gamma$  por linfócitos estimulados por PHA. Os antidepressivos utilizados inibiram mais a produção de IL-2 do que de IFN- $\gamma$ .

Por outro lado, a não alteração ou mesmo a diminuição da concentração de IFN- $\gamma$ . Em decorrência do uso de outros antidepressivos é citada. LANDMAN et al. (1997) demonstraram que o uso do antidepressivo maclobemida, em 22 pacientes com depressão, não alterou a produção de IFN- $\gamma$ . KUBERA et al. (2001b), também não observou alteração da produção de IFN- $\gamma$  utilizando o antidepressivo tricíclico desipramina em camundongos C57BL/6 por 5 semanas. MAES et al. (1999) demonstram *in vitro* que os antidepressivos clomipramina, sertralina e trazodone, nas doses terapêuticas habituais, diminuiriam a relação IFN- $\gamma$  / IL-10 por redução da produção de IFN- $\gamma$  e aumento da produção da citocina antiinflamatória IL-10. Este

mesmo resultado foi demonstrado por KUBERA et al. (2001a), com o uso do antidepressivo fluoxetina.

Podemos citar vários mecanismos em que os antidepressivos atuam no sistema imune: ação nos receptores e no transportador de serotonina dos linfócitos e ação nos genes das citocinas em questão.

Na depressão, o neurônio serotoninérgico apresentaria uma deficiência relativa da neurotransmissão. Uma provável causa desta deficiência é o aumento numérico do auto-receptor pré-sináptico da serotonina 5HT<sub>1a</sub>. Este receptor, que está localizado no corpo celular e nos dendritos, detecta a presença de serotonina na sinapse e diminui posteriores liberações deste neurotransmissor, ocasionando assim a interrupção do fluxo da neurotransmissão serotoninérgica. (STAHL 1997 e 1998).

O citalopram inicialmente bloqueia a bomba de recaptação da serotonina, causando um aumento de serotonina nas sinapses e com conseqüente diminuição do número ou dessensibilização dos receptores pré-sinápticos 5HT<sub>1a</sub>. Ativando assim, a transmissão mediada pela serotonina, tendo em vista a atividade inibitória dos receptores pré-sinápticos 5HT<sub>1a</sub> (STAHL 1997 e 1998).

Fora do SNC, a serotonina está presente em plaquetas, linfócitos, monócitos, macrófagos, células neuroendócrinas pulmonares e células intestinais enterocromoafins (MÖSSNER e LESCH 1998).

No SNC, está demonstrado a presença de 7 famílias de receptores para a serotonina (5HT<sub>1</sub> à 5HT<sub>7</sub>), compreendendo um total de 14 subtipos de receptores. Estes receptores foram identificados através de técnicas de biologia molecular e as suas funções ainda não são plenamente conhecidas. (BARNES e SHARP 1999).

Vários receptores de serotonina foram demonstrados nos linfócitos a partir de 1982 (MÖSSNER e LESCH 1998). A presença dos receptores 5HT1a, 5HT1b, 5HT2 e 5HT3, foi demonstrada em linfócitos T ativados e células leucêmicas humanas tipo T (AUNE et al. 1993; ARGÜELLES. 2001; AMEISEN et al. 1989; KHAN e POISON 1999). Um gene único codifica o receptor 5HT1b nos neurônios e linfócitos (MARATOUX et al. 1992). O mRNA do receptor 5HT1a foi detectado em linfonodos, baço, timo e células mononucleares (KOBILKA et al. 1987).

O receptor 5HT1a quando estimulado, reduz os níveis da adenil ciclase e com conseqüente diminuição dos níveis intracelulares de cAMP (AUNE et al. 1994).

Nos linfócitos T, o cAMP está associado com a inibição da proliferação celular e a diminuição de citotoxicidade por interferência em várias fases da proliferação celular, como no metabolismo do fosfato de inositol e na enzima kinase C (PKC). O efeito do cAMP também é atribuído à ativação da kinase A (PKA), que consiste de 2 isoenzimas ativadas pelo cAMP: kinase ativada I, que participa na inibição da proliferação e é a forma predominante nos linfócitos T; e a kinase ativada II que age na diferenciação celular (SKALHEGG et al. 1992; CHO-CHUNG e CLAIR 1993).

AUNE et al. (1994), demonstram a importância do receptor 5HT1a no controle da proliferação celular dos linfócitos e na produção de IL-2 e IFN- $\gamma$ , através do uso de vários agonistas e antagonistas deste receptor.

ABDOUH et al. (2001) demonstram que o estímulo mitogênico dos linfócitos T e B com a conseqüente resposta proliferativa destes linfócitos, induz ao aumento da concentração dos receptores 5HT1a, através da regulação transcricional do fator NF- $\kappa$ B.

Outra evidência da ação dos receptores 5HT1a no sistema imune foi demonstrada por HELLSTRAND e HERMODSSON (1987) que, através de estudo *in vitro*, demonstraram que a serotonina, via receptor 5HT1a, controlaria a atividade citotóxica das células NK.

Portanto, com base nos dados da literatura, podemos especular que o antidepressivo citalopram interfere na atividade proliferativa dos linfócitos T quando estimulados por mitógenos, em consequência da diminuição de produção da citocina IL-2. Esta diminuição da produção de IL-2 poderia estar associada à diminuição da concentração ou alteração na transdução do sinal dos receptores 5HT1a nos linfócitos.

O receptor 5HT2 também tem importante papel no controle da proliferação dos linfócitos. PELLEGREINNO e BAYER (2002) demonstram *in vitro* que a utilização do antidepressivo fluoxetina, que também pertence à classe dos inibidores seletivos da recaptação da serotonina, ativa os receptores 5HT2 que, por sua vez, diminuiriam a proliferação dos linfócitos T quando estimulados por mitógeno.

Outro possível mecanismo de ação do antidepressivo citalopram nos linfócitos e na neuroimunomodulação seria via o transportador de serotonina. O transportador de serotonina é um complexo molecular composto por uma enzima (ATPase) responsável pela produção de energia e vários sítios de ligação: um sítio para a serotonina, outro para o íon sódio e outro para o antidepressivo inibidor da recaptação da serotonina. Este transportador está localizado nos axônios terminais pré-sinápticos dos neurônios serotoninérgicos e também no corpo celular destes neurônios. Sua função é remover a serotonina da sinapse, causando assim dois efeitos fisiológicos: finalizar a ação da serotonina na fenda sináptica e recapturar a serotonina para a região intracelular do neurônio pré-sináptico para a sua reutilização.

(STAHL 1998). Inicialmente o antidepressivo citalopram causaria modulação alostérica negativa do transportador de serotonina pré-sináptico, inibindo assim a ligação da serotonina a este transportador e com conseqüente aumento de sua concentração na fenda sináptica e provocando finalmente aumento da neurotransmissão mediada pela serotonina (STHAL 1998). MARAZZITI et al. (1998) demonstraram a presença do transportador de serotonina em linfócitos humanos, e a ligação de vários antidepressivos a este transportador, entre eles o citalopram.

Por fim, a diminuição das concentrações de IL-2, observada na quarta amostra dos pacientes com câncer e depressão tratados com o citalopram, poderia ser explicada pela ação indireta deste antidepressivo na região promotora do gene de IL-2, levando uma redução na sua expressão.

A região promotora do gene da citocina IL-2, localizado anteriormente a região de início de transcrição, é composto por aproximadamente 350 pares de base e contém elementos de ligação para vários fatores de transcrição, entre estes fatores os principais são: AP-1 (proteína ativadora-1), NF- $\kappa$ B (fator de transcrição nuclear  $\kappa$ B) e o NF-AT (fator nuclear das células T ativadas). Estas três famílias de fatores de transcrição, atuam sinergicamente para promover a máxima transcrição do gene de IL-2. A exclusão de qualquer um dos três fatores citados, resulta em diminuição da expressão do gene de IL-2 com conseqüente diminuição da produção da citocina em questão (SMITH 2001).

O fator de transcrição NF- $\kappa$ B, geralmente é encontrado no citoplasma das células não estimuladas, em uma forma inativa devido a sua ligação com a proteína I $\kappa$ B. Em resposta ao estímulo mitogênico, a proteína I $\kappa$ B é fosforilada e degradada e

o fator de transcrição NF- $\kappa$ B fica livre no citoplasma e é translocado rapidamente para o núcleo da célula, local este em que regula a transcrição do gene em questão (QIUTANG e INDER 2002). O aumento da concentração de cAMP, por ativação da via da PKA (proteína quinase A), inibe a ativação do NF- $\kappa$ B por retardar a a degradação da proteína I $\kappa$ B e também diminui a ligação deste fator de transcrição à região reguladora do gene da citocina IL-2. O aumento da concentração de cAMP também antagoniza a via estimulatória  $CA^{2+}$  / calmodulina.(ELENKOV et al. 2000).

A proteína de ligação do cAMP (CREB), quando apresenta aumento de sua concentração, devido ao aumento da concentração do cAMP, compete com os sítios de ligação dos fatores de transcrição AP-1, NF-AT e NF- $\kappa$ B à região regulatória do gene da citocina IL-2, diminuindo a expressão deste gene (ELENKOV et al. 2000). Está demonstrado que a utilização crônica de antidepressivos aumenta a expressão do CREB (KOCH et al. 2003 e THOME et al. 2000). Portanto a utilização do antidepressivo citalopram poderia aumentar a concentração do cAMP e portanto do CREB, diminuindo assim a expressão do gene da citocina IL-2.

Uma observação importante é que a utilização do citalopram não alterou os níveis de IFN- $\gamma$  (Tabela 17), uma citocina fundamental na ativação de macrófagos e linfócitos, assim sendo, é pouco provável que, no protocolo utilizado em nosso estudo, o citalopram exerceria um efeito importante na ação efetora do sistema imune, pelo menos nas vias que dependem do IFN- $\gamma$ . Provavelmente o citalopram não exerceu ação no promotor do gene do IFN- $\gamma$ .

Embora exista um paralelo entre a melhora do quadro de depressão e a diminuição da concentração de IL-2 produzida pelos linfócitos, não observamos alterações nas contagens de linfócitos e seus subtipos no grupo de pacientes com

câncer e depressão. Entre a primeira e quarta avaliação no grupo de pacientes com câncer e depressão bem como no grupo com câncer e sem depressão não foram demonstrados alterações significativas nas médias da contagem de linfócitos e seus subtipos (Tabela 16).

A não alteração do número de linfócitos e seus subtipos também são encontrados na literatura, porém com a utilização de outros antidepressivos. PELLEGREINNO e BAYER (2002) com o uso do antidepressivo fluoxetina, não demonstraram alteração na contagem de leucócitos e linfócitos T. BALLIN et al. (1997) não observaram alteração na contagem de CD4, CD8 e células NK com a utilização do antidepressivo fluvoxamina. RAVINDRAN et al. (1995) descreveram que o uso de vários antidepressivos inibidores da recaptção de serotonina, foi acompanhado de diminuição da contagem de células NK. Não foi demonstrada alteração da contagem de CD3, CD4, CD8, CD4/CD8 e CD19.

O uso do citalopram no nosso estudo também não levou à alterações dos valores do hemograma e dos hormônios tireoideanos. A comparação das médias dos valores do hemograma e dos hormônios tireoideanos, na primeira e quarta avaliação, no grupo de pacientes com câncer e depressão não demonstrou diferenças significativas destes valores (Tabelas 14 e 15).

A depressão, em nosso grupo de pacientes com câncer e depressão, não foi relacionada a alteração das concentrações das citocinas IL-2 e INF- $\gamma$ . A comparação entre as médias dos valores das citocinas IL-2 e IFN- $\gamma$ , na primeira avaliação, entre o grupo de pacientes com câncer e com depressão e o grupo de pacientes com câncer e sem depressão, demonstrou não existir diferenças estatisticamente significativa destes valores (Tabela 11).

A não alteração da concentração da citocina IL-2 em pacientes com depressão foi observada por SEIDEL et al. (1995) e a não alteração da concentração da citocina IFN- $\gamma$  em pacientes com depressão foi observada por LANDMAN et al. (1997). Nestes estudos os pacientes com depressão não apresentavam outras patologias concomitantes.

No nosso trabalho não observamos diferença da produção das citocinas IL-2 e IFN- $\gamma$  entre os pacientes com câncer com ou sem depressão, na avaliação inicial, enquanto o estudo de MUSSELMAN et al. (2001), demonstrou que pacientes com câncer e depressão apresentavam maior produção da citocina IL-6. A diferença de resultados poderia ser explicada pela diferença da população estudada. Enquanto no estudo de Musselman a amostra era composta de pacientes do sexo feminino e masculino e os pacientes com depressão eram mais velhos que as pessoas saudáveis, no nosso estudo todas as pacientes eram do sexo feminino e não apresentavam diferenças das médias de idade entre os dois grupos do estudo. Pacientes do sexo feminino apresentariam diferenças na produção de citocinas, quando comparadas com pacientes do sexo masculino (HAACK et al. 1999; BAKER et al. 1996).

Nas nossas pacientes com câncer, a depressão também não está relacionada a alterações quantitativas de linfócitos T e seus subtipos, células NK e linfócitos B. A comparação das médias dos valores dos linfócitos e seus subtipos, na primeira avaliação, do grupo de pacientes com câncer e depressão e do grupo de pacientes com câncer e sem depressão, demonstrou não haver diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos (Tabela 10). Entre os dois grupos não foi demonstrada diferença entre as médias dos valores de CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup>, CD3<sup>-</sup>/CD56<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> e razão CD4 / CD8.

Este resultado está de acordo com o estudo de MILLER et al. (1999) em que 32 pacientes com depressão, não apresentaram alterações dos valores de CD3, CD4, CD8, CD19 e CD56. SEIDEL et al. (1996a) em 33 pacientes com depressão, também não encontraram diferenças nos valores de CD4, CD8, razão CD4/CD8 e CD19. SCHLEIFER et al. (1999) em 21 pacientes com depressão, também não encontraram diferença de valores de CD3, CD4, CD8 e CD19. Porém, neste estudo, os pacientes com depressão apresentavam diminuição do número de CD56. IRWIN (1999) cita que a depressão não estaria relacionada a alterações quantitativas de linfócitos B, T, CD4, CD8 e células NK.

Enquanto no nosso estudo não demonstramos alterações quantitativas de células NK em pacientes com câncer e depressão; é citado aumento ou diminuição quantitativa das células NK em pacientes com depressão (EVANS et al. 1992; RAVINDRAN et al. 1995; SEIDEL et al. 1996a; JUNG et al. 1999); Uma possível explicação para tal diferença seria que nem todos os estudos utilizam o antígeno de superfície CD56 que foi por nós utilizado, para aferição das células NK. As diferenças de resultados acima citadas, também podem ser explicadas por variações na metodologia da colheita do sangue para exame. Enquanto no nosso estudo a colheita de sangue é feita após um repouso dos pacientes por 30 minutos e em seguida é feita a entrevista clínica, em outros estudos esta ordem é invertida, isto é, primeiro é feita a entrevista clínica e após é feita a colheita de sangue. Está demonstrado que a própria entrevista clínica pode servir como um fator estressante, alterando assim os valores de células NK (GRIFFITHS et al. 1997).

No nosso estudo a depressão também não foi acompanhada de alterações do hemograma e dos hormônios tireoideanos. A comparação entre as médias dos valores

de hemoglobina e hematócrito e das médias dos valores do número de eritrócitos, leucócitos, bastonetes, segmentados, basófilos, eosinófilos, linfócitos, monócitos e plaquetas; e das médias dos valores dos hormônios tireoideanos T3, T4 e TSH, entre os grupos de pacientes com câncer com e sem depressão, na primeira avaliação, não demonstrou diferenças estatisticamente significativas destes valores (Tabelas 8 e 9).

NUNES et al. (2002) e ROTHERMUNDT et al. (2001) também não encontraram alterações da contagem do hemograma em pacientes com depressão.

No nosso estudo, a depressão relacionou-se com aumento do cortisol plasmático. As pacientes com câncer e depressão no início do estudo, apresentaram aumento da média do valor do cortisol plasmático em relação as pacientes com câncer e sem depressão (Tabela 9).

EVANS et al. (1986), demonstram a hiperatividade do eixo H-H-A em pacientes com câncer e depressão, através da maior incidência de teste não supressivo da dexametasona em pacientes com câncer ginecológico e com depressão em relação a pacientes com câncer ginecológico e sem depressão.

JENKINS et al. (1999); TOUITOU et al. (1996) e VINCENT et al. (1994); demonstram hiperatividade do eixo H-H-A, em pacientes com câncer que não apresentavam quadro de depressão concomitante.

O valor aumentado de cortisol basal em pacientes com depressão é considerado um dos primeiros achados fisiopatológicos da depressão, foi observado pela primeira vez em 1950 por Board et al., citado em McQUADE e YOUNG (2000). Seu papel na fisiopatologia da depressão ainda é aceito (NELSON e DAVIS 1997).

No nosso estudo o aumento da média do valor de cortisol plasmático nas pacientes com câncer e depressão não resultou em alteração dos parâmetros hematológicos ou imunológicos estudados. CHROUSOS (1995) cita que os glicocorticóides influenciam o trânsito de leucócitos e inibem suas funções por diminuir a ativação do sistema imune, diminuir a produção de citocinas e também causar resistência à ação das citocinas. Os glicocorticóides afetariam principalmente os linfócitos T *helper* por estimularem sua apoptose. McEWEN et al. (1977) citam as principais funções dos glicocorticóides: diminuição do número de linfócitos, monócitos e eosinófilos no sangue, aumento do número de neutrófilos e inibição da produção de IL-2 e IFN- $\gamma$  pelos linfócitos. O aumento de cortisol das pacientes com câncer e depressão em relação a pacientes com câncer e sem depressão, cujos valores ainda se encontram dentro da faixa de normalidade, provavelmente não foi suficiente para alterar os parâmetros imunológicos e hematológicos estudados.

A melhora parcial da depressão não foi relacionada à alteração dos valores de cortisol plasmático, pois a média do cortisol plasmático na quarta avaliação do grupo de pacientes com câncer e depressão permaneceu mais alta em relação à média do cortisol do grupo das pacientes com câncer e sem depressão na quarta avaliação. (Tabela 15).

Na literatura é citado que os antidepressivos normalizariam a hiperatividade do eixo H-H-A encontrada na depressão e com conseqüente diminuição do cortisol plasmático (BUDZISZEWSKA et al. 2000; HOLSBOER e BARDEN 1996; BARDEN et al. 1995). Provavelmente o período de uso do citalopram no nosso estudo não foi suficiente para alterar os valores médios do cortisol plasmático no grupo de pacientes com câncer e depressão.

Portanto o grupo de pacientes com câncer e depressão, na avaliação inicial, apresentou níveis de cortisol plasmático maior que do grupo de pacientes com câncer e sem depressão, achado este em acordo com o aumento de cortisol em pacientes com depressão e sem outras patologias concomitantes. A remissão parcial do quadro de depressão neste grupo de pacientes, não foi acompanhada de diminuição destes níveis, provavelmente devido ao curto período de uso do antidepressivo.

Com este trabalho procuramos demonstrar e discutir as relações entre o psiquismo, sistema nervoso, sistema endócrino e o sistema imune em pacientes portadores de câncer; demonstrando que estes sistemas estão mutuamente interconectados e portanto qualquer alteração em um determinado sistema pode ser acompanhada por alterações nos outros sistemas em questão. Neste estudo as pacientes com câncer e diagnosticadas com depressão não apresentaram alterações concomitantes dos parâmetros imunológicos avaliados e o tratamento da depressão foi acompanhado de diminuição da produção de IL-2. Com estes resultados questionamos a idéia de que todos os pacientes com câncer e também com depressão apresentam imunossupressão.

Encontramos várias dificuldades para a realização deste estudo e mesmo para a interpretação e discussão dos resultados. A análise e reflexão destas dificuldades são importantes para a crítica bem como para as perspectivas de seguimento deste trabalho.

As principais dificuldades encontradas foram as seguintes:

- 1- Abandono do seguimento pelos pacientes incluídos: esta dificuldade é inerente a estudos em que os seguimentos dos pacientes são próximos e freqüentes, porém esta dificuldade agrava-se em nossa população de pacientes com câncer pois os

tratamentos oncológicos exigem alta frequência de comparecimento ao hospital e alguns pacientes relutam em comparecer em outras ocasiões diferentes das exigidas pelo tratamento.

- 2- Controlar as variáveis que podem interferir nos resultados dos parâmetros imunológicos avaliados: vários fatores podem interferir nos resultados das contagens de linfócitos e seus subtipos e principalmente nas concentrações das citocinas: insônia, tabagismo, menopausa entre outros.
- 3- Avaliação e interpretação dos parâmetros imunológicos: vários métodos laboratoriais estão disponíveis para a mensuração quantitativa das citocinas, no nosso trabalho optamos pela utilização do método Elisa, embora pudéssemos ter utilizado a citometria de fluxo para esta avaliação, sendo que cada um destes métodos, apresentam benefícios diferentes.

Difícil comparar estudos de depressão sem discutir ou padronizar os critérios para depressão como também os de melhora.

Portanto permanece a dúvida sobre as alterações de parâmetros imunológicos relacionados a quadros de depressão em pacientes com câncer. Assim, seria necessário a avaliação destes parâmetros, em grupo de pacientes com câncer e depressão com maior número de componentes e composto de maneira mais homogênea. Uma vez confirmadas as alterações imunológicas, relacionaríamos estas às concentrações dos receptores 5HT1a dos linfócitos e s concentrações plasmáticas de cortisol. Também seria de interesse avaliarmos as implicações clínicas destas possíveis alterações imunológicas, nos pacientes com câncer e depressão.

## 5. CONCLUSÕES

- A depressão não alterou os valores quantitativos dos linfócitos T e seus subgrupos, linfócitos B, células NK e concentrações das citocinas IL-2 e IFN- $\gamma$  em pacientes com câncer e depressão.
  
- A remissão parcial do quadro de depressão após o uso do antidepressivo, nas pacientes com câncer e depressão, foi acompanhada de diminuição da produção da citocina IL-2 e não alteração da produção de IFN- $\gamma$ .

•

## 7 REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdoun M, Soring JM, Riad M, Paquette Y, Albert P, Drobetsky E. Transcriptional mechanism for induction of 5HT1A receptor mRNA and protein in activated B and T lymphocytes. **J Biol Chem** 2001; 276:4382-8.
- Albrecht J, Helderman JH, Schlessner MA, Rush AJ. A controlled study of cellular immune function in affective disorders before and during somatic therapy. **Psychiatry Res** 1985; 15:185-93.
- Ameisen JC, Meade R, Askenase PW. A new interpretation of the involvement of serotonin in delayed-type hypersensitivity. **J Immunol** 1989; 142:3171-9.
- Anisman H, Merali Z. Anedonic and anxiogenic effects of cytokine exposure. **Adv Exp Med Biol** 1999; 461:199-233.
- Anisman H, Merali Z. Cytokines, stress and depressive illness. **Brain Behav Immun** 2002; 16:513-24.
- Arborelius L, Owens MJ, Plotsky PM, Nemeroff CB. The role of corticotropin-releasing-factor in depression and anxiety disorders. **J Endocrinol** 1999; 160:1-12.
- Argüelles CS. The proliferation of human T lymphoblastic cells induced by 5HT1B receptors activation is regulated by 5-HT-moduline. **Life Sci** 2001; 365-72.
- Aune TM, McGrath KM, Sarr T, Bombara MP, Kelley K. Expression of 5HT1a receptors on activated human T cells. **J Immunol** 1993; 151:1175-83.
- Aune TM, Golden HW, McGrath KM. Inhibitors of serotonin synthesis and antagonists of serotonin 1A receptors inhibit T lymphocyte function *in vitro* and cell-mediated immunity *in vivo*. **J Immunol** 1994; 153:489-8.

Baker I, Masserano J, Wiatt RJ. Serum cytokine concentration in patients with schizophrenia. **Schizophrenia Res** 1996; 20:199-203.

Ballin TA, Gershom V, Tanay A, Brener J, Weizman A, Meytes D. The antidepressant Fluvoxamine increases natural killer cell counts in cancer patients. **Isr J Med Sci** 1997; 33:720-3.

Barden N, Reul MHM, Holsboer F. Do antidepressants stabilize mood through actions on the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system? **Trends Neurosci** 1995; 18:6-11.

Barnes N, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. **Neuropharmacol** 1999; 38: 1083-152.

Bauer M, Gauer GJ, Luz C, Silveira RO, Nardi NB, Mühlen C. Evaluation of immune parameters in depression. **Life Sci** 1995; 57:664-74.

Besedovsky HO, Del Rey A. Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. **Endocrine Rev** 1996; 17:64-102.

Boyum A. A one stage procedure for isolation of granulocytes and lymphocytes from human blood: general sedimentation properties of white blood cells in a gravity field. **Scand J Clin Lab Invest** 1968; 21 Suppl 97:51-76.

Breitbart W. Psycho oncology: depression, anxiety and delirium. **Semin Oncol** 1994; 21:754-69.

Bukberg J, Pennman D, Holland JC. Depression in hospitalized patients. **Psychosom Med** 1984; 46:199-212.

Budziszewska B, Jaworska-Feil L, Kajta M, Lason W. Antidepressants drugs inhibit glucocorticoid receptor mediated gene transcription: a possible mechanism. **Br J Pharmacol** 2000; 130:1385-93.

Calabrese JR, Skwerer RG, Barna B. Depression, immunocompetence, and prostaglandins of the E series. **Psychiatry Res** 1986; 17:41-7.

Calil HM, Pires MLN. Aspectos gerais das escalas de avaliação de Depressão. **Rev Psiquiatria Clin** 1999; 26:65-9.

Capuron L, Ravaut A, Gualde N, Bosman E, Dantzer R, Maes M. Association between immune activation and early depressive symptoms in cancer patients treated with IL-2 based therapy. **Psychoneuroendocrinology** 2001; 26:797-808.

Carlin JM, Borden EC, Sondel PM, Byrne GL. Biologic-response-modifier-induced indoleamine 2,3-dioxygenase activity in human peripheral blood mononuclear cell cultures. **J Immunol** 1987; 139:2414-8.

Cho-Chung YS, Clair T. The regulatory subunit of CAMP-dependent protein kinase as a target for chemotherapy of cancer and other celular dysfunctional-related disease. **Pharmacol Ther** 1993; 60:265-88.

Chrousos GP. The hyphothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. **N Engl J Med** 1995; 332:1351-62.

Citero VA. **Descrição e implantação do serviço de interconsulta psiquiátrica no Centro de Tratamento e Pesquisa Hospital do Câncer A.C.Camargo. São Paulo; 1999. [Dissertação de Mestrado-Universidade Federal de São Paulo- Escola Paulista de medicina].**

Clement HW, Buchmann J, Rex S, Grote C, Opper C, Gemsa D. Effects of interferon, interleukin-1 $\beta$ , and tumor necrosis factor on the serotonin metabolism in the nucleus raphe dorsalis of the rat. **J Neural Transm** 1997; 104:981-91.

Connor T, Leonard B. Depression, stress and immunological activation: the role of cytokines in depressive disorders. **Life Sci** 1998; 62:583-606.

Dantzer R, Wollman E, Vitkovic L, Yirmiya R. Cytokines, stress and depression: conclusions and perspectives. **Adv Exp Med Biol** 1999; 461:317-29.

Davidson RJ, Pizzagalli D, Nitschke JB, Putnam K. Depression: perspectives from affective neuroscience. **Annu Rev Psychol** 2002; 53:545-74.

Derogatis LR, Morrow GR, Felting J, et al. The prevalence of psychiatric disorders among cancer patients. **JAMA** 1983; 249:751-7.

Dinan T. Glucocorticoids and the genesis of depression: a psychobiological models. **Br J Psychiatry** 1994; 164:365-371.

Eisen J, Irwin J, Quay J, Livnat S. The effect of antidepressants on immune function in mice. **Biol Psychiatry** 1989; 26:805-17.

Elenkov I, Wilder R, Chrousos G, Vizi E. The sympathetic nerve – an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. **Pharmacol Rev** 2000; 52:595-638.

Evans DL, McCartney CF, Nemeroff CB, et al. Depression in women treated for gynecological cancer: clinical and neuroendocrine assessment. **Am J Psychiatry** 1986; 143:447-2.

Evans D, Folds JD, Petit JM, et al. Circulating natural killer cell phenotypes in men and women with major depression. **Arch Gen Psychiatry** 1992; 49:388-95.

Griffiths J, Ravindran AV, Merali Z, Anisman H. Neuroendocrine measures and lymphocyte subsets in depressive illness: influence of a clinical interview concerning life experiences. **Psychoneuroendocrinology** 1997; 22:225-36.

Haack M, Hinze-Selch D, Fenzel T, Kraus T, Kühn Mchuld A, Pollmächer T. Plasma level of cytokines and soluble cytokine receptors in psychiatric patients upon admission: effects of confounding factors and diagnosis. **J Psychiatry Res** 1999; 33:407-18.

Hamilton M. A rating scale for depression. **J Neurol Neurosurg** 1960; 23:56-62.

Hellstrand K, Hermodsson S. Role of serotonin in the regulation of human natural killer cell cytotoxicity. **J Immunol** 1987; 139:869-75.

Herbert TB, Cohen S. Depression and immunity: a meta-analytic review. **Psychol Bull** 1993; 113:472-86.

Holsboer F, Barden N. Antidepressants and hypothalamic-pituitary-adrenocortical regulation. **Endocrine Rev** 1996; 17:187-205.

Hosaka T, Tokuda Y, Sugiyama Y, Hirai K, Okuyama T. Effects of a structured psychiatric intervention on immune functions of cancer patients. **Tokai J Exp Clin Med** 2000; 25:183-8.

Irwin M, Patterson T, Smith T, Cadwell C, Brown J, Gillin C. Reduction of immune function in life stress and depression. **Biol Psychiatry** 1990; 27:22-30.

Irwin M. Immune correlates of depression. **Adv Exp Med Biol** 1999; 461:1-24.

Iwagaki H, Hizuta A, Uomoto M, Takeuchi Y, Saito S, Tanaka N. Cancer cachexia and depressive states: a neuro-endocrine-immunological disease? **Acta Med Okayama** 1997; 51:233-6.

Jenkins PJ, Sohaib SA, Trainer PJ, Lister TA, Besser GM, Reznick R. Adrenal enlargement and failure of suppression of circulation cortisol by dexametasone in patients with malignancy. **Br J Cancer** 1999, 80:1815-9.

Joffe RT, Rubinow DR, Denicoff KD, Maler M, Sindelar WF. Depression and carcinoma of the pancreas. **Gen Hosp Psychiatry** 1986; 8:241-5.

Jung W, Irwin M. Reduction of natural killer cytotoxic activity in major depression: interaction between depression and cigarette smoking. **Psychosom Med** 1999; 61:263-70.

Kagaia A, Takebayashi M, Fukue-Saeki M, Saeki T, Yamawaki S, Uchitomi Y. Plasma concentrations of interleukin-1 $\beta$ , interleukin-6, soluble interleukin-2 receptor and tumor necrosis factor of depressed patients in Japan. **Neuropsychobiology** 2001; 43:59-62.

Kaplan HI, Sadock BJM. **Compêndio de psiquiatria**. 6. ed. Porto Alegre: Artes Médicas; 1993. Transtornos de humor: p.386-412.

Khan NA, Poisson J. 5HT<sub>3</sub> receptor-channels coupled with Na<sup>+</sup> influx in human T cell: role in T cell activation. **J Neuroimmunol** 1999; 99:53-60.

Kirchner H, Kirchner CH., Digel WA. whole-blood technique for testing production of human interferon by leukocytes. **J Immunol Methods** 1982; 48:213-9.

Kobilka BK, Frielle T, Collins S, et al. An intronless gene encoding a potential member of the family of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins **Nature** 1987; 329:75-9.

Koch J, Kell S, Aldenhoff J. Differential effects of fluoxetine and imipramine on the phosphorylation of the transcription factor CREB and cell-viability. **J Psychiatric Res** 2003; 37: 3-9.

Kook AI, Mizruchin A, Odnopozov N, Gershon H, Segev Y. Depression and immunity: the biochemical interrelationship between the central nervous system and the immune system. **Biol Psychiatry** 1995; 37:817-9.

Kronfol Z, House D. Immune function in mania. **Biol Psychiatry** 1988; 24:341-3.

Kubera M, Basta-Kaim A, Skowron-Cendrzac A, Borycz J. Effect of repeated amitriptyline administration to mice on the T lymphocyte proliferative activity and natural killer cell cytotoxicity. **Pol J Pharmacol** 1995; 47:321-6.

Kubera M, Simbirtsev A, Matison R, Maes M. Effect of repeated fluoxetine and citalopram administration on cytokine release in C57BL/6 mice. **Psychiatry Res** 2000; 96:255-66.

Kubera M, Lin A, Kenis G, Bosman E, vanBockstaele D, Maes M. Anti-inflammatory effects of antidepressants through suppression of the IFN- $\gamma$  / IL-10 production ratio. **J Clin Psychopharmacol** 2001a; 21:199-206.

Kubera M, Maes M, Holan V, Basta-Kaim A, Roman A, Shani J. Prolonged desipramine treatment increases the production of interleukin-10, an anti-inflammatory cytokine, in C57BL/6 mice subjected to the chronic mild stress model of depression. **J Affect Disorders** 2001b; 63:171-8.

Landman R, Schaub B, Link S, Wacker HR. Unaltered monocyte functions in patients with major depression before and after three months of antidepressive therapy. **Biol Psychiatry** 1997; 41:675-81.

Maes M, Bosmans E, Suy E, Vandervost C, De Jonckheere C, Raus J. Depression-related disturbances in mitogen-induced lymphocyte responses and interleukin-1B and soluble interleukin-2 receptor production. **Acta Psychiatry Scand** 1991; 84:379-86.

Maes M, Lambrechts J, Bosmans E, et al. Evidence for a systemic immune activation during depression : results of leukocyte enumeration by flow cytometry in conjunction with monoclonal antibody staining. **Psychol Med** 1992; 22:45-53.

Maes M, Sharpe S, Meltzer HY, Okayli G, et al. Increased neopterin and IFN $\gamma$  secretion and lower L-tryptophan levels in major depression: further evidence for immune activation in severe depression. **Psychiatry Res** 1994; 54:134-60.

Maes M, Meltzer HY, Bosman E, et al. Increased plasma concentration of IL-6, soluble IL-6, soluble IL-2 and transferrin receptor in major depression. **J Affect Disord** 1995; 34:301-9.

Maes M. Major depression and activation of the inflammatory response system: cytokines, stress and depression. **Adv Exp Med Biol** 1999; 461:25-46.

Maes M, Song C, Lin A, Bonaccorso S, et al. Negative immunoregulatory effects of antidepressants: inhibition of interferon-gamma and stimulation of interleukin-10 secretion. **Neuropsychopharmacology** 1999; 20:370-9.

Manji HK, Drevets WC, Charney DS. The cellular neurobiology of depression. **Nature Med** 2001; 7:541-7.

Maratoux F, Saudou N, Amlaiky U, Boschert JL, Hen R. Mouse 5HT1B serotonin receptor: cloning, functional expression and localization in motor control centers. **Proc Natl Acad Sci USA** 1992; 89:3020-4.

Marazziti D, Rossi A, Giannaccini G, Baroni S, Lucachini A, Cassano G. Presence and characterization of the serotonin transporter in human resting lymphocytes. **Neuropsychopharmacology** 1998; 19:154-9.

Marti G, Steler-Stevenson M, Bleesing J, Fleisher T. Introduction to flow cytometry. **Semin Hematol** 2001; 38:93-9.

Masek K, Petrovicky P, Sevcik J, Zidek Z, Frankova D. Past, present and future of psychoneuroimmunology. **Toxicology** 2000; 142:179-88.

McEwen B, Biron C, Brunson KW, et al. The role of adrenocorticoids as modulators of immune functions in health and disease: neural, endocrine and immune interactions. **Brain Res Rev** 1977; 23:79-133.

McQuade R, Young A. Future therapeutics in mood disorders: the glucocorticoid receptor. **Br J Psychiatry** 2000; 177:390-5.

Miller AH, Asnis GM, Praag HM, Norin AJ. Influence of desmethylimipramine on natural killer cell activity. **Psychiatry Res** 1986; 19:9-15.

Miller AH, Asnis GM, Lackner C, Halbreich U, Norin AJ. Depression, natural killer cell activity, and cortisol secretion. **Biol Psychiatry** 1991; 29:878-86.

Miller GE, Cohen S, Herbert T. Pathways linking major depression and immunity in ambulatory female patients. **Psychosom Med** 1999; 61:850-60.

Montgomery SA, Pedersen V, Tanghøj P, Rasmussen C, Rioux P. The optimal dosing regimen for citalopram- a meta-analysis of nine placebo-controlled studies. **Int Clin Psychopharmacol** 1994; 9 Suppl 1:35-40.

Montgomery SA; Jonhson FN. Citalopram in the treatment of depression. **Rev Comtemp Pharmacoter** 1995; 6:297-306.

Moreno RA, Moreno DA. Escalas de avaliação para depressão de Hamilton (HAM-D) e Montgomery-Asberg (MADRS). **Rev Psiquiatria Clin** 1998; 26:71-5.

Mössner R, Lesch K. Role of serotonin in the immune system and on neuroimmune interactions. **Brain Behav Immun** 1998; 12:249-71.

Muldoon C. The safety and tolerability of citalopram. **Int Clin Psychopharmacol** 1996; 11(Suppl 1):35-40.

Müller N, Hofschuster E, Ackenheil M, Mempel W, Eckstein R. Investigations of the cellular immunity during depression and the free interval: evidence for an immune activation in affective disorders. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** 1993; 17:713-30.

Musselman D, McDaniel JS, Porter M, Nemeroff C. Psychoneuroendocrinology and cancer. In: Holland JC, editor. **Psychooncology**. New York: Oxford University Press; 1998. p.135-43.

Musselman DL, Porter AH, Manatunga A, et al. Higher than normal plasma interleukin-6 concentration in cancer patients with depression: preliminary findings. **Am J Psychiatry** 2001; 158:1252-7.

Nelson JC, Davis JM. DST studies in psychotic depression: a meta-analysis. **Am J Psychiatry** 1997; 154:1497-503.

Newport D, Nemeroff CB. Assessment and treatment of depression in the cancer patient. **J Psychosom Res** 1998; 45:215-37.

Nunes SOV, Reiche EMV, Morimoto HK, et al. Immune and hormonal activity in adultas suffering from depression. **Braz J Med Biol Res** 2002; 35:581-7.

Pellegreinno T, Bayer BM. Role of central 5HT2 receptors in fluoxetina-induced decreases in T lymphocytes activity. **Brain Behav Immunol** 2002; 16:87-103.

Quintang L, Inder V. NF- $\kappa$ B regulation in the immune system. **Nature Rev.**2002; 2:725- 33.

Ramamoorthy S, Ramamoorthy JD, Prasad PD, et al. Regulation of the human serotonin transporter by interleukin-1 beta. **Biochem Biophys Res Commun** 1995; 216:560-7.

Ravaud A, Bedane C, Geoffrois L, Lesimple T, Delaunay M. Toxicity and feasibility of adjuvant high dosage interferon alpha-2b in patients with melanoma in clinical oncological practice. **Br J Cancer** 1999; 80:1767-9.

Ravindran AV, Griffiths J, Merali Z, Anisman H. Lymphocyte subsets associated with major depression and dysthymia modification by antidepressant treatment. **Psychosom Med** 1995; 57:555-63.

Remick DG, Whiteside T. Cytokine assays. In: Oppenheim J, Feldmann M, editors. **Cytokine Reference**. New York: Academic Press; 2001. p.53-64.

Rothermundt M, Arolt V, Peters M, et al. Inflammatory markers in major depression and melancholia. **J Affect Disord** 2001; 63:93-102.

Savino W, Dardenne M. Immune-neuroendocrine interactions. **Immunology Today** 1995; 16:318-21.

Schildkraut JJ. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **Am J Psychiatry** 1965; 122:509-22.

Schleifer SJ, Keller SE, Meyerson AT, Raskin MJ, Davis KL, Stein M. Lymphocyte functions in major depressive disorder. **Arch Gen Psychiatry** 1984; 41:494-86.

Schleifer SJ, Keller SE, Bartlet JA. Depression and immunity: clinical factors and therapeutic course. **Psychiatry Res** 1999; 85:63-9.

Schwartz JA, Speed NM, Brunberg JA, Brewer TL, Brow M, Greden JF. Depression in stroke rehabilitation. **Biol Psychiatry** 1993; 33:694-9.



Seidel A, Arolt V, Hunstiger M, Rink L, Behnisch A, Kirchner H. Cytokine production and serum proteins in depression. **Scand J Immunol** 1995; 41:534-8.

Seidel A, Arolt V, Hunstiger M, Rink L, Bechnisch A, Kirchner H. Major depressive disorder is associated with elevated monocyte counts. **Acta Psychiatry Scand** 1996a; 94:198-204.

Seidel A, Arolt V, Hunstiger M, Rink L, Bechnisch A, Kirchner H. Increased CD56<sup>+</sup> natural killer cells and related cytokines in major depression. **Clin Immunol Immunopathol** 1996b; 78:83-5.

Seidel A, Rothermund M, Rink L. Cytokine production in depressed patients. **Adv Exp Med Biol** 1999; 461:47-57.

Septon SE, Sapolky RM, Kraemer HC, Spiegel D. Diurnal cortisol rhythm as a predictor of breast cancer survival. **J Natl Cancer Inst** 2000; 92:994-1000.

Skalhegg BS, Landmark BF, Doskeland SO, Hanson V, Lea T, Jahnsen T. Cyclic AMP-dependent protein kinase Type I mediates the inhibitory effects of 3,5-cyclic adenosine monophosphate on cell replication in human T lymphocytes. **J Biol Chem** 1992; 267:15707-14.

Sluzewska A, Rybakowski JK, Laciak M, Mackiewicz A, Sobieska M, Wiktorowicz K. Interleukin-6 serum levels in depressed patients before and after treatment with fluoxetine. **Ann N Y Acad Sci** 1995; 762:474-6.

Sluzewska A. Indicators of immune activation in depressed patients. **Adv Exp Med Biol** 1999; 461:59-73.

Smith K. IL-2. In: Oppenheim J, Feldmann M, editors. **Cytokine reference**. New York: Academic Press; 2001. p.113-25.

Stahl S. **Psicofarmacologia dos antidepressivos**. São Paulo: Ed. Martin Dunitz; 1997. Os inibidores seletivos da recaptção da serotonina; p.37-48.

Stahl S. Mechanism of action of serotonin selective reutake inhibitors Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects. **J Affect Disord** 1998; 51:215-35.

Stein M, Miller AH, Trestman RL. Depression, the immune system, and helth and illness. **Arch Gen Psychiatry** 1991; 48:171-7.

Suzuki E, Shintani F, Kanba S, Asai M, Nakaki T. Induction of Interleukin-1 $\beta$  and Interleukin-1 $\alpha$  receptor antagonist mRNA by chronic treatment with various psychotropics in widespread area of rat brain. **Neurosci Let** 1996; 215:201-4.

Takikawa O, Kuroiwa T, Yamasaki F, Kido R. Mechanism of IFN- $\gamma$  action: characterization of indoleamine 2,3-dioxigenase in cultured human cells induced by IFN- $\gamma$  and evaluation of the enzyme-mediated tryptophan defgradation in its anticellular activity. **J Biol Chem** 1988, 263:2041-8.

Touitou Y, Lévi F, Bogdan A, Benavides M, Bailleul F, Misset J. Rhythm alteration in patients with metastatic breast cancer and poor prognostic factors. **J Cancer Res Clin Oncol** 1995; 121:181-8.

Touitou Y, Bogdan A, Lévi F, Benavides M, Auzéby A. Disruption of the circadian patterns of serum cortisol in breast ovarian cancer patients: relationship with tumour marker antigens. **Br J Cancer** 1996; 74:1248-52.

Turnbull AV, Rivier C. Regulation of the hypotalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of actions. **Phys Rev** 1999; 79:1-71.

Valentine AD, Meyers CA, King MA, Richelson E, Hauser P. Mood and cognitive side effects of interferon-alfa therapy. **Semin Oncol** 1998; 25 Suppl 1:39-47.



Vincent JM, Morrison ID, Armstrong P, Rezner RH. Computed tomography of diffuse, non-metastatic enlargement of the adrenal glands in patients with malignant disease. **Clin Radiol** 1994; 49:456-60.

Walsh T, Seidman S, Sysko R, Gould M. Placebo responses in studies of major depression : variable, substantial and forwring. **JAMA** 2002; 287:1840-7

Wrona D, Jurkowski MK, Trojnar W, Starewska M, Tokarski J. Eletrolytic lesions of the hypohalamus influence peripheral blood NK cytotoxicity in rats. **J Neuroimmunol** 1994; 55:54-4.

Weizman R, Laor N, Podliszewski E, Notti I, Djaldetti M, Bessler H. Cytokine production in major depressed patients before and after clomipramine treatment. **Biol Psychiatry** 1994; 35:42-7.

Xia Z, DePierre JW, Nässberger L. Tricyclic antidepressants inhibit IL-6, IL1 $\beta$  and TNF release in human blood monocytes and IL-2 and Interferon-gama in T cells. **Immunopharmacology** 1996; 34:27-37.

Xiao L, Emeroth P. Tricyclic antidepressant inhibit human natural killer cells. **Toxicol Appl Pharmacol** 1995; 137:157-62.

Zalcman S, Green-Johnson JM, Murray L, Nance DM, Dyck D, Anisman H. Cytokine-specific central monoamine alteration induced by interleukin-1,2 and 6. **Brain Res** 1994; 643:40-9.

Zorrilla E, Luborsky L, McKay JR, et al. The relationship of depression and stressors to immunological assays: a meta-analytic review. **Brain Behav Immunol** 2001; 15:199-226.