

INTRODUÇÃO

O transtorno bipolar (TB) é uma doença psiquiátrica crônica, caracterizada por recorrentes episódios maníacos e depressivos. A incidência deste transtorno é de cerca de 3 a 4% na população mundial. Existem evidências de que múltiplos sistemas biológicos estão envolvidos na patofisiologia deste transtorno de humor, especialmente o sistema nervoso central, sistema endócrino e sistema imunológico. Alterações imunológicas vêm sendo descritas em transtornos de humor, principalmente em Depressão Maior e Esquizofrenia, no entanto o papel deste sistema na patofisiologia do TB ainda é bastante limitado.

OBJETIVOS

Avaliar parâmetros imunológicos de mulheres com TB do tipo I ou II e comparar com controles saudáveis.

METODOLOGIA

População de estudo:

Foram recrutadas pacientes do sexo feminino com TB tipo I ou II eutímicas do ambulatório psiquiátrico do Hospital Presidente Vargas de Porto Alegre e controles saudáveis. Todos os participantes do estudo foram submetidos ao *Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders* (SCID-I) para a confirmação do diagnóstico de TB. Todos os pacientes estavam em uma dosagem estável de medicamentos por pelo menos três meses antes do início deste estudo. O estado de humor foi analisado através da aplicação das escalas *Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS) e do *Young Mania Rating Scale* (YMRS).

Coleta de sangue periférico e isolamento das células mononucleares:

O sangue periférico foi coletado em tubos contendo EDTA e as células mononucleares (PBMCs) separadas por um gradiente de Ficoll-Histopaque.

Imunofenotipagem:

Os seguintes subtipos linfocitários foram analisados por citometria de fluxo (FACS Calibur, BD): CD3+CD4+ (T auxiliar), CD3+CD8+ (Tcitotóxico), CD3-CD19+ (linfócitos B), CD3-CD56+ (Natural Killer), CD3+CD4+CD69+ (Tauxiliar ativado), CD3+CD8+CD69+ (Tcitotóxico ativado), CD8+CD28- (subtipo associado à imunossenescência), CD8+CD103+ (Tcitotóxicas regulatórias) e CD4+CD25+FoxP3+ (Tregulatórias). Os resultados foram analisados no programa *Flow Jo 7.6.3*.

Análise estatística:

Os grupos foram analisados pelo teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$) com o auxílio do programa *SPSS 17.0* e *GraphPad Prism 5*.

RESULTADOS

Tabela 1

	Bipolar	Saudável
N	21	19
Idade ($M \pm DP$)	41,13 \pm 13,69	44,27 \pm 12,10
IMC	29,43 \pm 5,21	23,01 \pm 2,14
Anos de doença (M e Intervalo)	13,10 (1-25)	-
Tabagismo	02/21	02/19
Doença Tireoidiana	08/21	01/19

Tabela1. Caracterização da população de estudo.

Tabela 2. Análise dos subtipos celulares.

* $p < 0,05$

Tabela 2

	Bipolar (%)	Controle (%)	Valor p
CD3+CD4+	49 \pm 7,218	47,4 \pm 7,69	0,338
CD3+CD8+	24,14 \pm 5,84	25,76 \pm 5,9	0,353
CD3-CD19+	8,60 \pm 4,92	7,46 \pm 2,38	0,535
CD3+CD56+	6,55 \pm 6,08	9,75 \pm 22,15	0,573
CD8+CD28-	16,41 \pm 5,86	12,43 \pm 5,15	*
CD4+CD45RO+	28,7 \pm 30,34	27,52 \pm 4,76	0,614
CD8+CD45RO+	10,8 \pm 7,93	10,75 \pm 2,95	0,554
CD3+CD4+CD69+	1,19 \pm 0,85	1,89 \pm 0,84	*
CD3+CD8+CD69+	2,52 \pm 0,29	2,27 \pm 0,30	0,276
CD4+CD25+FOXP3+	2,02 \pm 1,21	3,50 \pm 3,38	0,174
CD8+CD103+	0,695 \pm 0,31	1,05 \pm 0,68	0,304
CD4 MC	38,97 \pm 8,57	45,04 \pm 8,08	0,226
CD4 ME	16,22 \pm 6,59	15,52 \pm 5,06	1,000
CD4 Naïve	38,8 \pm 10,58	33,77 \pm 9,79	0,276
CD8 MC	21,82 \pm 8,08	23,78 \pm 6,71	0,628
CD8 Naïve	46,14 \pm 10,49	45,04 \pm 9,04	0,607
EMRA	19,38 \pm 5,60	15,25 \pm 3,27	0,061
CD8 ME	12,59 \pm 6,36	15,06 \pm 5,04	0,130

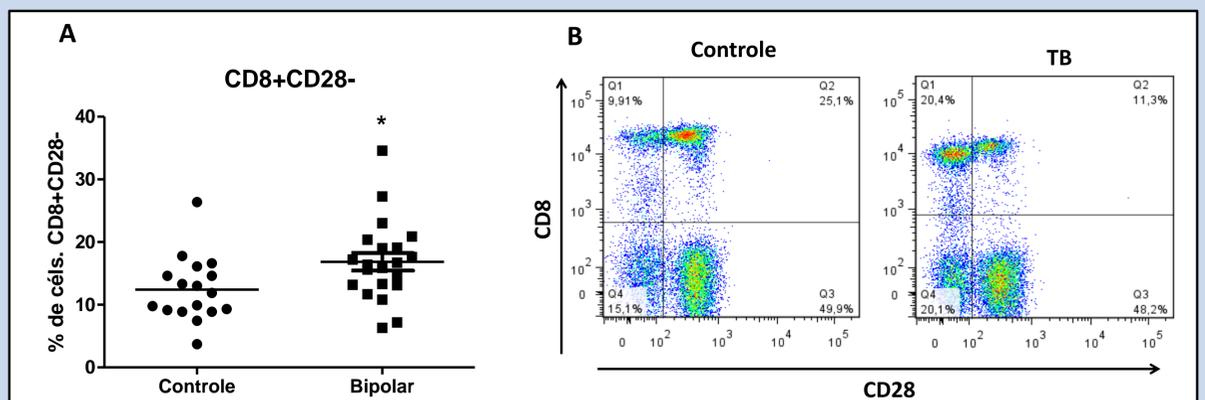


Figura 1. Análise do subtipo celular CD8+CD28- no grupo controle e TB. (A) Porcentagem de células CD8+CD28- no grupo controle ($M = 12.43\%$; $DP = \pm 1.251\%$; $N = 17$) e TB ($M = 16.86\%$; $DP = \pm 1.394\%$; $N = 21$) (Mann-Whitney $U = 96,50$; $P = 0,0167$). (B) Dot plots representativos. * $P < 0,05$

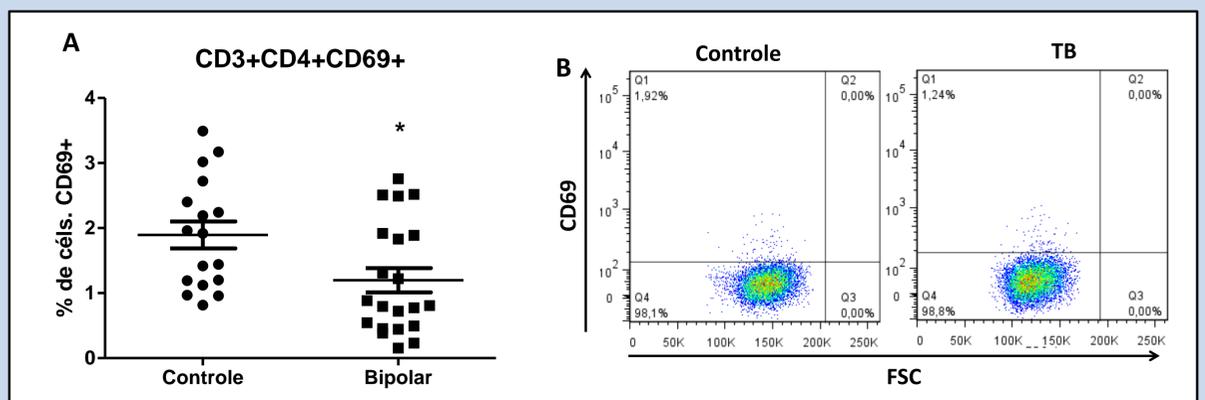


Figura 2. (A) Análise da expressão de CD69 em linfócitos CD4 no grupo controle ($M = 1.895\%$; $DP = \pm 0.2056\%$; $N = 17$) e TB ($M = 1.197\%$; $DP = \pm 0.1860\%$; $N = 21$) (Mann-Whitney $U = 90,50$; $P = 0,0102$). (B) Dot plots representativos de CD3+CD4+CD69+ no grupo controle e TB.

DISCUSSÃO

A análise preliminar dos dados apontou um aumento na porcentagem de linfócitos CD8+CD28- (fig. 1A) em indivíduos com TB. A molécula CD28 é expressa em células T e atua como sinal co-estimulatório, sendo necessária para sua ativação. A não-expressão de CD28 está associada ao envelhecimento do sistema imunológico (imunossenescência). Estudos tem relatado um perfil imune ativado em pessoas com TB, caracterizado por um aumento de citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e IL-2). Isso sugere que a ativação persistente do sistema imune possa estar induzindo sua exaustão, e direcionando a uma imunossenescência precoce.

A ativação celular foi analisada através da expressão de CD69. Quando analisamos a porcentagem de linfócitos CD3+CD69+, não houve diferença significativa entre o grupo controle e TB, o que está de acordo com estudos anteriores. No entanto, ao dividir esta população nos subtipos CD4 e CD8, observamos que há uma diminuição na população de células CD4+CD69+ no grupo TB (fig. 2 A), não evidenciado no subtipo CD8. Tendo em vista que no TB há um estado inflamatório continuado e que o CD69 é mais expresso durante o início da ativação, é esperado que os pacientes apresentem preferencialmente marcadores de ativação tardia como MHC II e CD71 ao invés de CD69.

PERSPECTIVAS

- Aumentar o tamanho amostral;
- Utilizar outros marcadores associados a imunossenescência, e a ativação tardia, a fim de confirmar nossas hipóteses.