

Alterazioni delle risposte immuno-infiammatorie nei pazienti affetti da disturbo depressivo maggiore

Immune-inflammatory response changes in patients with major depressive disorder

G. Camardese¹, G. Pizi¹, M. Marino², E. Bartoccioni², R.L. Grillo², B. Mattioli¹, B. Leone¹, L. De Risio¹, L. Pucci¹, P. Bria¹, L. Janiri¹

¹ Istituto di Psichiatria e Psicologia, ² Dipartimento di Patologia Generale, Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma

Summary

Objectives

It has been hypothesized that major depression is accompanied by alterations in cell-mediated and innate immunity. Moreover, major depression appears to be associated with increased plasma concentrations of positive “acute-phase” proteins and increased production of cytokines. It has been suggested that an altered production of cytokines may underlie numerous recognized changes of immune or inflammatory markers.

The aim of our study was to evaluate the usefulness of high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) values in identifying a state of immune-inflammatory activation in patients with major depressive disorder.

In particular, in order to assess the reliability of this inflammatory parameter in depression, we measured changes in hs-CRP values as well as its correlation with both the levels of some cytokines [interleukin 6 (IL-6), soluble interleukin 6 receptor (sIL-6R) and Tumor Necrosis Factor (TNF- α)] and the clinical characteristics of the sample (severity of symptoms, specific psychopathological dimensions, etc.).

Methods

24 outpatients (M/F = 8/16; mean age = 46.79 \pm 12.97) with a Major Depressive Disorder (MDD) during a Major Depressive Episode (MDE) and 20 healthy controls (M/F = 8/12, mean age = 40.05 \pm 11.02) were recruited at the Institute of Psychiatry of the Catholic University in Rome. Depression severity was assessed with 21-items-Hamilton Depression Rating Scale (HDRS), while anhedonia and psychomotor retardation were evaluated with Snaith-Hamilton Pleasure Scale (SHAPS) and Depression Retardation Rating Scale (DRRS). Blood samples for the determination of hs-CRP, TNF- α , IL-6 and sIL-6R were collected. Cytokines were measured using commercial enzyme linked immunosorbent assays (ELISA). Levels of hs-CRP were measured using nephelometric assay.

Results

The patients included in the study mostly had moderate depressive symptoms at baseline.

Plasma concentrations of IL-6 (0.59 \pm 1.14 vs. 0.06 \pm 0.27 pg/ml) and hs-CRP (3.28 \pm 3.59 vs. 1.33 \pm 1.48 mg/ml) were significantly higher in depressed patients compared to healthy controls. sIL-6R levels along with receptor-ligand binding activity (product IL-6 \times sIL6R) were higher in depressed patients compared to healthy controls, though not significantly. In contrast, TNF- α levels appeared reduced in depressed patients compared to healthy subjects.

A significant positive correlation between hs-CRP and IL-6 ($r = 0.25$, $p = 0.047$) was found.

The analysis of a possible correlation between different inflammatory markers (hs-CRP, IL-6, sIL-6R and TNF- α) and scores on psychometric scales (HDRS, BPRS, DRRS and SHAPS) showed no statistical significance. Immune system and acute phase response activation, therefore, shows no correlation with severity of depressive symptoms and psychopathological profile (anhedonia and psychomotor retardation).

Conclusions

Although plasma cytokine assays are highly specific and sensitive measures in defining immune profile, they are quite expensive. The use of hs-CRP in our study has, on the contrary, proven to be sufficiently reliable and potentially applicable to routine clinical practice, so to identify those subjects with the highest levels of immune dysregulation.

Further studies on larger samples, more adequately characterized with respect to clinical course and characteristics, are necessary to increase our understanding of the role played by immune activation in major depression.

Key words

Depression • Neuroimmunology • C-reactive protein

Riassunto

Obiettivi

È stato ipotizzato che la depressione maggiore si accompagni a un'alterazione dell'immunità innata e cellulo-mediata. In particolare questa condizione psichiatrica sembra essere associata a

un incremento delle concentrazioni plasmatiche delle proteine di “fase acuta” e a un'aumentata produzione di citochine. In tal senso è stato suggerito che la variazione dei marker immunitari e infiammatori sia mediata da un'alterata produzione delle principali citochine pro-infiammatorie. Lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare l'utilizzabilità dei valori di proteina C

Corrispondenza

Giovanni Camardese, Istituto di Psichiatria e Psicologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, largo Agostino Gemelli 8, 00168 Roma, Italia • Tel. +39 06 30155539 • Fax +39 301 54122 • E-mail: g.camardese@rm.unicatt.it

reattiva ad alta sensibilità (hs-PCR) nell'identificare uno stato di attivazione immuno-infiammatoria in pazienti affetti da disturbo depressivo maggiore. In particolare, al fine di valutare l'utilizzabilità di tale parametro infiammatorio in questa condizione clinica, abbiamo rilevato le modificazioni dei valori di hs-PCR e le sue correlazioni con i valori di alcune citochine [interleuchina 6 (IL-6), recettore solubile dell'interleuchina 6 (sIL-6R) e fattore di necrosi tumorale (TNF- α)] nonché con le caratteristiche cliniche del campione (gravità dei sintomi, specifiche dimensioni psicopatologiche, ecc.).

Metodi

Sono stati reclutati, presso l'Istituto di Psichiatria dell'Università Cattolica di Roma, 24 pazienti (M/F = 8/16; età media = $46,79 \pm 12,97$) affetti da un disturbo depressivo maggiore (DDM), con un episodio depressivo maggiore (EDM) in corso, e 20 soggetti sani (M/F = 8/12; età media = $40,05 \pm 11,02$). La gravità della depressione è stata valutata mediante la *21-items-Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS), mentre l'anedonia e il rallentamento psicomotorio sono stati valutati mediante la *Snaith-Hamilton Pleasure Scale* (SHAPS) e la *Depression Retardation Rating Scale* (DRRS). Sono stati raccolti campioni di sangue per la determinazione dell'hs-PCR, del TNF- α , dell'IL-6 e dell'sIL-6R. Le citochine sono state misurate col metodo di assorbimento immunoenzimatico (*enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA). I livelli di hs-PCR sono stati misurati usando il metodo nefelometrico.

Risultati

I pazienti studiati presentavano alla valutazione basale una sintomatologia depressiva perlopiù di grado moderato. Le concentrazioni plasmatiche dell'IL-6 ($0,59 \pm 1,14$ vs. $0,06 \pm 0,27$ pg/

ml) e dell'hs-PCR ($3,28 \pm 3,59$ vs. $1,33 \pm 1,48$ mg/ml) sono apparse significativamente più elevate nei soggetti depressi rispetto ai controlli. I valori dell'sIL-6R e del suo prodotto (IL-6 x sIL-6R) sono risultati più alti nei pazienti rispetto ai controlli, ma non in maniera statisticamente significativa. Al contrario, i livelli di TNF- α sono apparsi ridotti nei depressi rispetto ai soggetti sani. In aggiunta i valori plasmatici dell'hs-PCR sono apparsi correlati ai valori dell'IL-6 ($r = 0,252$, $p = 0,047$). L'analisi delle correlazioni tra i differenti indici di flogosi (hs-PCR, IL-6, sIL-6R e TNF- α) e i punteggi sulle scale psicometriche (HDRS, BPRS, DRRS e SHAPS) non ha evidenziato risultati statisticamente significativi. L'attivazione del sistema immunitario e la risposta di fase acuta non sono pertanto apparsi correlati alla severità della sintomatologia depressiva né al profilo psicopatologico e alle dimensioni anedonia e rallentamento psicomotorio.

Conclusioni

I dosaggi delle citochine plasmatiche rappresentano dei parametri estremamente specifici e sensibili per definire l'assetto immunitario, sebbene comportino dei costi piuttosto elevati. A nostro avviso pertanto, l'utilizzo dell'hs-PCR potrebbe rivelarsi adeguatamente affidabile e potenzialmente applicabile su larga scala per l'identificazione di quei soggetti depressi in cui è maggiormente espressa la disregolazione immunitaria. Ulteriori studi su vasti campioni, adeguatamente caratterizzati per ciò che concerne le peculiarità cliniche e di decorso, sono tuttavia necessari per approfondire il ruolo dell'attivazione immune nella depressione maggiore.

Parole chiave

Depressione • Neuroimmunologia • Proteina C reattiva

Introduzione

Alle ipotesi patogenetiche più accreditate dei disturbi depressivi, che coinvolgono le alterazioni dei sistemi amineergici cerebrali, si sono aggiunte in tempi più recenti prove sperimentali che riconoscono un ruolo importante al sistema immunitario e a quello endocrino.

Le strette interconnessioni tra sistema nervoso, sistema endocrino e immunità hanno infatti delineato, negli ultimi decenni, una prospettiva psiconeuroimmunoendocrinologica oramai consolidata nello studio delle complesse modificazioni biologiche rinvenibili nei pazienti depressi.

In tal senso ci sono numerose prove di un'attivazione del sistema immunitario in corso di depressione maggiore, tra cui: 1) un incremento del numero e della percentuale dei leucociti nel sangue periferico, sia neutrofili che linfociti T attivati; 2) un aumento dei livelli sierici degli indicatori di attivazione immunitaria, come neopterin, prostaglandina E2 (PGE2) e recettore solubile dell'IL-2 (sIL-2R); 3) un aumento della secrezione di citochine proinfiammatorie, quali l'interleuchina 1 (IL-1), l'interleuchina 6 (IL-6), l'interferon- γ (IFN- γ) e dei loro recettori quali il recettore solubile dell'IL-6 (sIL-6R); 4) la presenza di una risposta di fase acuta con le sue componenti positiva

(aumento di proteine di fase acuta quali aptoglobina, α 2-macroglobulina, proteina C reattiva) e negativa (diminuzione di albumina e colesterolo totale)¹⁻⁴.

È stato ipotizzato da vari Autori che l'attivazione di questa risposta di fase acuta sia mediata dall'aumentata produzione delle principali citochine pro-infiammatorie: IL-1, IL-6 e IFN- γ ¹⁻⁴. Diversi Autori hanno dimostrato che questa risposta immunitaria possa subire una forma di sensibilizzazione e che l'esposizione a stress fisici e psichici possa indurre alterazioni a lungo termine dei sistemi di risposta immunitaria^{4,5}.

Queste osservazioni pongono le basi per ampliare la conoscenza del disturbo depressivo che, da questa prospettiva, può essere considerato come un disordine psiconeuroimmunologico, in cui l'attivazione immune periferica, attraverso il rilascio di citochine proinfiammatorie, potrebbe contribuire a realizzare quelle alterazioni comportamentali e neuroendocrine associate con questa condizione psichiatrica. A tal proposito è stata formulata da Maes nel 1995 una "ipotesi citochinica" della depressione^{3,4}.

È importante sottolineare che oltre a trasferire i messaggi provenienti dalla periferia verso il sistema nervoso centrale, le citochine come IFN- α , IFN- γ , IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α e i loro recettori sono prodotti costitutivamente

dagli astrociti e dalla microglia. I principali siti cerebrali coinvolti nella loro sintesi sono l'ipotalamo, l'ippocampo, il cervelletto e i gangli basali⁶. Sebbene non si conosca l'esatta funzione della produzione di citochine a livello centrale, esse potrebbero intervenire nei meccanismi di sviluppo e plasticità neuronale, così come contribuire al danno neuronale dopo un insulto di qualsiasi natura.

Le citochine sono proteine prodotte dalle cellule del sistema immunitario, sia nell'ambito dell'immunità innata che di quella specifica, in risposta per lo più ad antigeni, in grado di mediare e di regolare le risposte immunitarie e infiammatorie. Le loro azioni sono spesso pleiotropiche e ridondanti e, al pari di altri ormoni polipeptidici, svolgono la loro funzione legandosi a recettori specifici espressi sulla membrana delle cellule bersaglio o presenti in forma solubile nel sangue. Le citochine influenzano spesso la sintesi e l'azione di altre citochine ed, inoltre, tali molecole possono interagire antagonizzandosi a vicenda, possono produrre effetti additivi o, in alcuni casi, avere un effetto sinergico. Esse assolvono a numerose funzioni fondamentali per la difesa dell'ospite contro gli agenti patogeni e rappresentano il necessario anello di congiunzione tra immunità naturale e specifica; inoltre regolano l'entità e la natura delle risposte immunitarie, influenzando la crescita e la maturazione dei linfociti⁷.

Nonostante la molteplicità delle loro attività biologiche, possono essere distinte due categorie generali di citochine: le pro-infiammatorie, come IL-1, IL-6, INF- γ e TNF- α , e le anti-infiammatorie, come IL-4, IL-10 e IL-13.

La quantità di citochine nel sangue periferico dipende dallo stato di attivazione immunitaria, aumentando in condizioni patologiche di infiammazione acuta e cronica ovvero nel corso di infezioni e di danno tissutale⁷.

Un ruolo importante nel determinare i livelli di citochine circolanti è svolto dall'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) e in particolare dal cortisolo, il quale è implicato nella regolazione delle risposte immuni e quindi nella produzione di citochine mediante una inibizione dei geni coinvolti nella loro trascrizione⁶. In particolare il cortisolo inibisce la produzione di TNF- α , IL-1 e IL-6, sebbene esista una gerarchia nella sensibilità di risposta all'azione dell'ormone. Il TNF- α infatti ha, rispetto alle altre citochine, una sensibilità maggiore in tal senso e la sua riduzione si ha già a livelli fisiologici circolanti di cortisolo. L'IL-1 ha una sensibilità intermedia, risultando ridotta solo per livelli più elevati di cortisolo, mentre l'IL-6 sembrerebbe a sua volta relativamente resistente all'attività inibitoria del cortisolo⁸.

Le citochine proinfiammatorie sono state, a loro volta, coinvolte nella mediazione di effetti neuroendocrini che riguardano l'asse HPA e che determinano un aumento delle concentrazioni plasmatiche di ormone rilasciante la corticotropina (CRH), di vasopressina (VP), di ormone adrenocorticotropo (ACTH) e di corticosteroidi^{9 10}. La

produzione di CRH può anche essere stimolata dalle citochine a livello centrale in maniera indiretta, attraverso alcuni effetti sulla neurotrasmissione monoaminergica e conseguentemente sul profilo di secrezione dei neuroni ipotalamici^{11 12}. Tuttavia, sebbene le citochine proinfiammatorie siano potenti attivatori dell'asse HPA in condizioni fisiologiche, esiste un importante meccanismo regolatorio di feed-back negativo esercitato dai corticosteroidi circolanti che assicura il mantenimento dell'omeostasi del sistema.

Le citochine sono state inoltre associate, come già accennato, con modifiche della neurotrasmissione monoaminergica.

Studi condotti nei ratti a cui erano state somministrate citochine per via sistemica, al fine di mimare gli effetti di una attivazione immune periferica e con conseguente aumento delle concentrazioni anche nel sistema nervoso centrale, hanno consentito di osservare un aumento di dopamina, noradrenalina e serotonina a livello dei nuclei ipotalamici, del nucleo *accumbens* e nell'ippocampo^{13 14}.

Caratteristici sono anche gli effetti comportamentali indotti dalla somministrazione sistemica o centrale di citochine in animali, noti come "sickness behaviour".

La "sickness behaviour" è un complesso sindromico caratterizzato da sintomi similinfluenzali e da una varietà di alterazioni comportamentali che includono inappetenza, perdita di peso, astenia, disturbi del sonno, rallentamento motorio, anedonia, riduzione del desiderio sessuale, compromissione delle abilità cognitive e umore depresso^{15 16}.

Il medesimo corteo sintomatologico è riscontrabile, con caratteri di inequivocabilità e particolare gravità, nei pazienti in trattamento per patologie neoplastiche, malattie demielinizzanti o epatite C cronica che assumono citochine proinfiammatorie quali TNF- α , IFN- γ o IL-2. La sintomatologia, infatti, si attenua fino a scomparire in seguito all'interruzione della somministrazione di citochine o dopo specifica terapia antidepressiva, a ulteriore riprova di un ruolo eziologico delle stesse nel determinismo di questa condizione.

In aggiunta, ci sono diverse patologie associate a un'attivazione della risposta immunitaria che si accompagnano a una chiara sintomatologia depressiva, tra cui malattie infiammatorie croniche, come l'artrite reumatoide, la sclerosi multipla, le neoplasie, alcune malattie neurodegenerative, alcune malattie infettive acute o croniche^{17 18}.

Tale sintomatologia si potrebbe ricondurre non solo alla risposta di adattamento a una condizione di sofferenza legata alla malattia, ma potrebbe essere più o meno direttamente connessa all'attivazione immunitaria. Ciò costituirebbe un ulteriore elemento a favore della suddetta ipotesi citochinica della depressione.

Nello scenario delle complesse interrelazioni tra sistema immunitario e modificazioni dell'umore abbiamo con-

dotto uno studio per valutare l'utilità dei valori di proteina C reattiva ad alta sensibilità (hs-PCR) nell'identificare uno stato di attivazione immuno-infiammatoria in pazienti affetti da disturbo depressivo maggiore.

In particolare, al fine di valutare l'utilizzabilità di tale parametro infiammatorio in questa condizione clinica, abbiamo rilevato le modificazioni dei valori di hs-PCR e le sue correlazioni con i valori di alcune citochine (IL-6, sIL-6R e TNF- α) nonché con le caratteristiche cliniche del campione (severità dei sintomi, specifiche dimensioni psicopatologiche, ecc.).

Materiali e metodi

Sono stati reclutati 24 pazienti (F/M = 16/8; età media \pm DS = 46,79 \pm 12,97) affetti da un disturbo depressivo maggiore, con un episodio depressivo maggiore in corso, in accordo ai criteri del DSM-IV-TR.

Lo studio è stato condotto dal dicembre 2006 al marzo 2007. I pazienti sono stati reclutati presso l'unità dei disturbi depressivi del Day Hospital di Psichiatria Clinica del Policlinico "A. Gemelli" di Roma.

Dopo una completa descrizione dello studio, tutti i pazienti hanno firmato un consenso informato per partecipare alla ricerca che è stata approvata dal Comitato Etico del nostro policlinico.

I pazienti sono stati successivamente sottoposti a una intervista diagnostica strutturata (*MINI Interview*)¹⁹. Per la valutazione delle caratteristiche cliniche del campione sono stati utilizzati alcuni reattivi psicometrici. La gravità della depressione e la severità complessiva della psicopatologia sono state valutate tramite la *21-items-Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS)²⁰ e la *Brief Psychiatric Rating Scale* (BPRS)²¹; i sintomi correlati all'ansia tramite la *Hamilton Anxiety Rating Scale* (HARS)²² e il livello di funzionamento socio-lavorativo tramite la *Social Adaptation Self-Evaluation Scale* (SASS)²³. Anedonia e rallentamento psicomotorio sono stati infine valutati tramite la *Snaith-Hamilton Pleasure Scale* (SHAPS)²⁴ e la *Depression Retardation Rating Scale* (DRRS)²⁵.

Sono stati esclusi tutti i pazienti con un concomitante disturbo psichiatrico di Asse I. Un ulteriore criterio di esclusione è stato rappresentato dalla presenza di un tentativo di suicidio nei 6 mesi precedenti il reclutamento.

Sono stati inoltre esclusi i pazienti in sovrappeso o che soffrissero di disturbi endocrini, immuni o metabolici, malattia infiammatoria cronica intestinale o sindrome da immunodeficienza acquisita nonché i soggetti fumatori. Allo stesso modo sono stati esclusi soggetti che nelle ultime due settimane avessero presentato qualunque tipo di allergia o infezione.

Esami ematochimici sono stati condotti su tutti i pazienti: esame emocromocitometrico, elettroforesi proteica, valutazione della funzionalità epatica, renale e tiroidea.

Un campione di sangue di 9 ml per la determinazione dell'hs-PCR, del TNF- α , dell'IL-6 e del suo recettore solubile (sIL-6R) è stato prelevato nello stesso giorno in cui sono state fatte le valutazioni complete del profilo psicopatologico.

I campioni di sangue sono stati raccolti durante la mattinata tra le ore 08,00 e le ore 09,00. Il sangue è stato stabilizzato con acido etilendiamminotetracetico (1 mg/ml) e aptotina, immediatamente centrifugato e il siero congelato alla temperatura di -80°C. Il TNF- α , l'IL-6 e l'sIL-6R sono stati valutati con metodo di assorbimento immunoenzimatico (*enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA). L'IL-6 è stata dosata usando Endogen Human IL-6 ELISA Kit (Pierce Biotechnology, Inc; campioni indiluiti). Il TNF- α è stato dosato usando Endogen Human TNF- α ELISA Kit (Pierce Biotechnology Inc; sieri diluiti 1:5). sIL-6R è stato dosato usando Bender MedSystems (sieri diluiti 1:250). I livelli di proteina C reattiva sono stati misurati usando il metodo nefelometrico di DadeBehring, sistema in grado di determinare concentrazioni di questa proteina inferiori a 1,57 mg/ml. Non è stato tuttavia possibile escludere, tra le importanti cause di alterazione del sistema delle citochine, l'effetto esercitato da stress fisici o psichici o da deprivazione di sonno che sono comuni in corso di disturbi depressivi.

È stato reclutato infine un campione di controllo composto da 20 soggetti sani (F/M = 12/8; età media \pm DS = 40,05 \pm 11,02). Nessuno di essi presentava alcun tipo di disturbo psichiatrico o neurologico né assumeva farmaci da almeno 4 settimane. Nessuno inoltre presentava malattie autoimmuni o malattie acute o croniche (come infezioni o allergie), associate con un'attivazione dell'immunità cellulo-mediata.

L'analisi statistica per valutare le differenze nei parametri immunitari tra i pazienti e i controlli è stata condotta utilizzando l'analisi della varianza a una via (*one-way ANOVA*). L'analisi della varianza a due vie (*two-way ANOVA*) è stata utilizzata invece per valutare le differenze di genere e di età tra i pazienti e i controlli.

Le correlazioni tra i parametri di flogosi e le scale psicometriche sono state valutate mediante il coefficiente di correlazione momento-prodotto di Pearson.

Tutti i risultati sono stati espressi in termini di media \pm deviazione standard e l'analisi dei dati è stata realizzata tramite il software SPSS 12.0 for Windows.

Il valore di $p < 0,05$ è stato considerato come limite della significatività statistica.

Il valore di $p < 0,1$ è stato considerato indicativo per l'individuazione di un "trend".

Risultati

I pazienti studiati presentavano alla valutazione basale una sintomatologia depressiva perlopiù di grado lieve-

TABELLA I.
Parametri psicometrici basali. *Baseline psychometric parameters.*

Scala psicometrica*	Media ± DS
HDRS	17,83 ± 5,53
HARS	18,08 ± 6,29
BPRS	33,38 ± 6,32
DRRS	15,82 ± 10,11
SHAPS	3,17 ± 3,57
SASS	34,38 ± 7,57

* HDRS: *Hamilton Depression Rating Scale*; HARS: *Hamilton Anxiety Rating Scale*; BPRS: *Brief Psychiatric Rating Scale*; DRRS: *Depression Retardation Rating Scale*; SHAPS: *Snaith-Hamilton Pleasure Scale*; SASS: *Social Adaptation Self-Evaluation Scale*.

moderato (punteggio medio alla HDRS = 17,83 ± 5,53; punteggio medio alla BPRS = 33,38 ± 6,32).

Nella Tabella I sono riportati i parametri medi basali relativi al profilo psicopatologico valutato tramite gli strumenti psicometrici.

I pazienti presentavano, inoltre, alcune alterazioni degli indici di flogosi analizzati, con un incremento dell'hs-PCR e delle citochine plasmatiche IL-6 e sIL-6R. Tali alterazioni sono apparse associate a una riduzione dell'albumina e a un incremento delle proteine alfa1 e alfa2, compatibilmente con un quadro di "risposta di fase acuta".

Molte delle differenze osservate si sono inoltre rivelate statisticamente significative rispetto al campione di controllo (Tab. II). Le concentrazioni plasmatiche di IL-6 (0,59 ± 1,14 vs. 0,06 ± 0,27 pg/ml) e di hs-PCR (3,28 ± 3,59 vs. 1,33 ± 1,48 mg/ml) sono apparse significativamente più elevate nei soggetti depressi rispetto ai controlli. I valori dell'sIL-6R e del suo prodotto (IL-6 × sIL-6R) sono risultati più alti nei pazienti rispetto ai controlli, ma non in maniera statisticamente significativa.

TABELLA II.
Indici di flogosi basali. *Baseline inflammatory markers.*

	Pazienti	Controlli	P
Albumina %	61,44 ± 2,69	63,11 ± 2,61	0,044
Alfa 1 %	4,04 ± 0,52	3,78 ± 0,36	0,073
Alfa 2 %	9,66 ± 1,18	8,75 ± 1,23	0,017
Beta 1 %	6,19 ± 0,70	6,14 ± 0,70	0,79
Beta 2 %	4,57 ± 0,68	4,24 ± 0,94	0,19
Gamma %	14,06 ± 1,74	13,96 ± 2,01	0,86
PCR	3,28 ± 3,59	1,33 ± 1,48	0,028
IL-6	0,59 ± 1,14	0,06 ± 0,27	0,050
sIL-6R	201,38 ± 65,15	167,68 ± 52,86	0,080
IL-6 Prodotto	97,39 ± 189,95	10,80 ± 109,60	0,056
TNF-alfa	90,90 ± 125,50	136,90 ± 109,605	0,225

Al contrario i livelli di TNF- α sono apparsi ridotti nei depressi rispetto ai soggetti sani. In aggiunta i valori plasmatici dell'hs-PCR sono apparsi correlati ai valori dell'IL-6 ($r = 0,252$, $p = 0,047$).

L'analisi delle correlazioni tra i differenti indici di flogosi (hs-PCR, IL-6, sIL-6R e TNF- α) e i punteggi sulle scale psicometriche (HDRS, BPRS, DRRS e SHAPS) non ha evidenziato risultati statisticamente significativi.

L'attivazione del sistema immunitario e la risposta di fase acuta non sono pertanto apparsi correlati alla severità della sintomatologia depressiva, né al profilo psicopatologico e alle dimensioni anedonia e rallentamento psicomotorio.

Discussione

Nel nostro campione di studio, composto da soggetti depressi, si è evidenziata un'attivazione del sistema immunitario con una risposta di fase acuta, in analogia a quanto precedentemente riscontrato da altri Autori. In accordo con le revisioni della letteratura di Maes nel 1995² e di Kronfol nel 2002²⁶, la depressione maggiore appare infatti associata a un incremento delle concentrazioni plasmatiche delle proteine di fase acuta quali aptoglobina, ceruloplasmina, proteina-C reattiva, emopessina, α 1-antitripsina e α 1-glicoproteina.

In analogia agli studi precedenti^{1,2}, le citochine proinfiammatorie del sistema dell'IL-6 (IL-6 e sIL-6R) sono inoltre risultate più elevate nel sangue dei nostri pazienti con depressione maggiore rispetto ai controlli.

Tale osservazione appare in accordo anche con gli studi *in vitro* su colture di cellule mononucleate del sangue periferico di soggetti depressi, che, stimolate con mitogeni, mostravano una produzione di IL-6 più elevata rispetto ai controlli. In effetti, l'IL-6 riveste un ruolo di particolare importanza come mediatore della risposta infiammatoria: agisce come segnale per l'attivazione dei linfociti T, stimola la produzione di anticorpi da parte dei linfociti B e induce la differenziazione dei linfociti T citotossici⁷. Un aumento dei livelli di IL-6 si riscontra in numerose patologie autoimmuni (LES, artrite reumatoide) nonché nell'infezione da HIV. Condizioni di stress prolungato comportano inoltre l'aumento dei livelli di IL-6 ed è stato infine proposto che l'IL-6 sia una delle maggiori citochine in grado di stimolare l'asse HPA durante i processi infiammatori²⁷. Per quanto concerne i pazienti depressi, tuttavia, lo specifico meccanismo eziopatogenetico che sottende l'aumento dei livelli di IL-6 è ancora sconosciuto.

Nel nostro campione di soggetti depressi abbiamo inoltre osservato un'elevazione dei livelli della frazione solubile del recettore dell'IL-6 (sIL-6R), sebbene non significativa rispetto ai valori rinvenuti nei controlli.

La frazione solubile del recettore dell'IL-6 viene secreta da molti tipi cellulari quali macrofagi, monociti attivati,

linfociti T, epatociti, neutrofili, piastrine e cellule stromali del midollo osseo. L'sIL-6R si ritrova inoltre incrementata in patologie dell'immunità quali l'artrite reumatoide giovanile, il mieloma multiplo nonché l'infezione da HIV. Honda et al. hanno suggerito che i livelli di sIL-6R possano essere correlati alla funzione regolatoria delle risposte immuni indotte dalla stimolazione di IL-6 nel corso della crescita cellulare²⁸.

Anche nei soggetti depressi, in accordo all'ipotesi di Maes et al. del 1995², l'incremento di produzione di sIL-6R potrebbe essere in parte correlato all'iperproduzione di IL-6.

In aggiunta, la concomitante *up-regulation* dell'IL-6 e del sIL-6R nel plasma dei depressi può ulteriormente accrescere le attività biologiche dell'IL-6 stessa.

È stato dimostrato infatti che il complesso IL-6/sIL-6R rappresenta un ligando per la proteina di membrana gp130 in grado di incrementare l'azione dell'IL-6 sul suo recettore, rendendo in tal modo le cellule più responsive. È chiara pertanto l'azione di potenziamento svolta dal sIL-6R sull'intero sistema²⁹.

Nel nostro campione abbiamo infine rilevato dei valori plasmatici di TNF- α ridotti nei pazienti depressi rispetto ai controlli, ma tale differenza non è risultata statisticamente significativa.

Nell'interpretare tale dato, non possiamo escludere che l'attività inibitoria dell'IL-6, così aumentata nei nostri pazienti, possa aver giocato un ruolo di modulazione sulla sintesi di TNF- α che pertanto non è apparso significativamente modificato.

Occorre inoltre ricordare che il TNF- α ha, rispetto alle altre citochine, una sensibilità maggiore all'azione inibitoria del cortisolo, che frequentemente risulta aumentato nei soggetti depressi in relazione all'iperattività dell'asse HPA⁶. L'IL-6 risulterebbe invece relativamente resistente a tale influenza.

I rapporti tra citochine e asse HPA sono stati talora chiamati in causa nella comprensione del complesso intreccio di alterazioni neurobiologiche che si osservano nei soggetti depressi^{5 8 9}.

Tuttavia, più in generale, i meccanismi specifici attraverso cui le citochine eserciterebbero la loro azione a livello centrale in questi pazienti non sono ancora del tutto noti.

Le teorie più accreditate a riguardo propongono due possibili modalità d'azione:

1. iperstimolazione dell'indolamina-2,3-diossigenasi (IDO), enzima responsabile del metabolismo del triptofano la cui deplezione comporta riduzione dei livelli di serotonina^{30 31}. L'iperattività dell'IDO può inoltre determinare la sintesi di metaboliti della kinurenina, prodotto del catabolismo del triptofano, come la 3-idrossi-kinurenina (3 OH-KIN) e l'acido chinolonico (QUIN)^{32 33}, sostanze neurotossiche già implicate in diverse condizioni neuro-

degenerative che possono condurre a un'iperproduzione di specie reattive dell'ossigeno e a un'incrementata attività delle monoaminoossidasi (MAO). Entrambi gli eventi conducono, con modalità diverse, a una alterazione della trasmissione serotoninergica e catecolaminergica;

2. inibizione del feed-back negativo dei corticosteroidi circolanti sull'asse HPA con conseguente iperattività del medesimo³⁴.

In tale contesto, la depressione maggiore, considerando una visione più ampia e integrata, potrebbe essere assimilata a condizioni di stress protratto che l'organismo tenta di fronteggiare integrando l'intervento dei sistemi endocrino e immunitario, con un'iperattività aspecifica di entrambi^{5 35}.

Alla luce delle molteplici prove cliniche e sperimentali resta tuttavia ancora insoluto il quesito se l'attivazione infiammatoria in corso di depressione maggiore rivesta un ruolo causale, con particolare riferimento all'azione delle citochine, oppure rappresenti un epifenomeno correlato alla complessità e al coinvolgimento sistemico di tale patologia.

Nel fare questa riflessione occorre inoltre considerare che nella maggior parte degli studi sperimentali che abbiano previsto la somministrazione di citochine (sistemica e/o centrale), le quantità utilizzate, e in grado di determinare gli effetti noti come "sickness behaviour", apparivano decisamente più elevate rispetto ai livelli rinvenibili nei depressi.

Inoltre, a fronte di un'iperattivazione del sistema immunitario, nella depressione maggiore esiste, di fatto, una compromissione della competenza immunitaria, in particolare a livello del compartimento cellulare (ridotta attivazione linfocitaria in risposta a mitogeni, ridotta attività delle cellule natural killer, ecc.)^{2 26}. A tal riguardo ci sono le comuni prove cliniche di una maggiore suscettibilità alle infezioni e ai tumori dei pazienti depressi, in cui tuttavia il quadro immunitario deve essere valutato anche nell'ambito di alcune peculiari modificazioni biologiche associate alla malattia di base, quali calo ponderale, alterazioni del ritmo sonno-veglia e modificazioni delle abitudini dietetiche.

In realtà la disregolazione del sistema immunitario non risulterebbe univoca: il rallentamento di alcune funzioni verosimilmente coesiste, nell'ambito di meccanismi compensatori, con l'incremento di altre, conducendo a una condizione di anergia e, quindi, di incapacità a fronteggiare gli insulti sia esterni che interni.

In quest'ottica il rapporto tra depressione e sistema immunitario necessita di essere approfondito da un'analisi più dettagliata del profilo psicopatologico dei pazienti al fine di individuare dei sottogruppi più informativi in tal senso, ovvero identificare quei pazienti in cui è maggiormente espressa la disregolazione immunitaria.

Tale approfondimento ovviamente richiede un campione di soggetti che possa essere adeguatamente caratterizzato non solo per la severità della patologia ma anche in relazione alle specifiche caratteristiche cliniche del disturbo.

Nel nostro studio non è stata evidenziata tuttavia alcuna relazione tra l'entità della disregolazione immunitaria, la gravità della depressione e alcuni peculiari profili psicopatologici (pazienti ansiosi, rallentati, anedonici, ecc.).

Il numero esiguo dei soggetti presi in considerazione non appare, tuttavia, tale da contenere in sé la molteplicità degli aspetti sia biologici che psicopatologici del disturbo depressivo, né appare adeguato per sviluppare considerazioni conclusive.

La rilevazione delle citochine circolanti, inoltre, per quanto costituisca una modalità estremamente specifica e sensibile nel definire un assetto immunitario, comporta di fatto dei costi piuttosto elevati per prevederne un utilizzo su campioni sufficientemente dimensionati, in una prassi ordinaria.

In tal senso, nel nostro studio, l'hs-PCR si è rivelata un parametro piuttosto attendibile di attivazione di una risposta immuno-infiammatoria e, nonostante la minore sensibilità rispetto a quella delle citochine circolanti, ha consentito di evidenziare un assetto infiammatorio significativamente attivato nei depressi rispetto ai controlli.

Com'è noto, tale proteina di fase acuta viene stimolata nella sua sintesi e nel rilascio dall'IL-6 che, come prevedibile, è apparsa significativamente correlata nei suoi livelli all'hs-PCR anche nel nostro campione di depressi. A nostro avviso pertanto l'hs-PCR si propone come un parametro infiammatorio semplice ed economico da rilevare, potenzialmente utilizzabile in una pratica clinica ordinaria, in grado di essere dosato e monitorato su vasti campioni di soggetti.

Conclusioni

Tentare di comprendere il ruolo del sistema immunitario nell'ambito delle complesse alterazioni comportamentali e neuroendocrine coinvolte nella depressione maggiore resta a oggi un ambito di studio tanto affascinante quanto di difficile definizione.

Rispetto al lavoro già condotto, ulteriori studi su vasti campioni adeguatamente caratterizzati, per ciò che concerne le peculiarità cliniche e di decorso, sono tuttavia necessari per approfondire il ruolo dell'attivazione immune in questa condizione psichiatrica. Tali ricerche consentirebbero inoltre di rispondere meglio al quesito se tale attivazione rivesta un ruolo causale ovvero costituisca un epifenomeno correlato alla complessità e al coinvolgimento sistemico di tale patologia.

In tale contesto, i dosaggi delle citochine plasmatiche rappresentano dei parametri estremamente specifici e sensibili per definire l'assetto immunitario, sebbene comportino dei costi piuttosto rilevanti.

A nostro avviso pertanto, l'utilizzo dell'hs-PCR potrebbe rivelarsi sufficientemente affidabile e potenzialmente applicabile a una pratica clinica ordinaria per l'identificazione di quei soggetti in cui è maggiormente espressa la disregolazione immunitaria e che costituirebbero un sottogruppo maggiormente rappresentativo su cui orientare elettivamente gli ulteriori sforzi della ricerca.

Occorre tuttavia, da ultimo, segnalare alcune significative limitazioni metodologiche: da un lato, come già detto, il campione di studio è apparso piuttosto limitato, dall'altro non è stato possibile escludere importanti cause di alterazione del sistema delle citochine quali stress fisici, psicologici, livelli di *arousal* e/o l'insonnia, che rappresentano caratteristiche comuni della depressione, e che possono aver influenzato i risultati in maniera non prevedibile.

Bibliografia

- 1 Schiepers OJ, Wichers MC, Maes M. *Cytokines and major depression*. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2005;29:201-17.
- 2 Maes M. *Major depression and activation of the inflammatory response system*. In: Dantzer R, Wollman EE, Yirmiya, R, editors. *Cytokines, stress and depression*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers 1999, pp. 25-46.
- 3 Maes M. *Evidence for an immune response in major depression: a review and hypothesis*. Prog. Neuro-psychopharmacol. Biol Psychiatry 1995;19:11-38.
- 4 Maes M, Meltzer H, Bosmans E, et al. *Increased plasma concentrations of interleukin-6, soluble interleukin-6 receptor, soluble interleukin-2 receptor and transferrin receptor in major depression*. J Affect Disord 1995;34:301-9.
- 5 Leonard B. *Stress, depression and the activation of the immune system*. World J Biol Psychiatry 2000;1:17-25.
- 6 McGeer PL, McGeer EG. *The inflammatory response system of the brain: implications for therapy of Alzheimer and other neurodegenerative diseases*. Brain Res Rev 1995;21:195-218.
- 7 Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and molecular immunology*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company 2000.
- 8 O'Connor TM, O'Halloran DJ, Shanahan F. *The stress response and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: from molecule to melancholia*. QJM 2000;93:323-33.
- 9 Xu Y, Day TA, Buller KM. *The central amygdala modulates hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses to systemic interleukin-1h administration*. Neuroscience 1999;94:175-183.
- 10 Brebner K, Hayley S, Zacharko R, et al. *Synergistic effects of interleukin-1h, interleukin-6, and tumor necrosis factor- α* .

- central monoamine, corticosterone, and behavioral variations. *Neuropsychopharmacology* 2000;22:566-80.
- 11 Dunn AJ, Wang J, Ando T. *Effects of cytokines on cerebral neurotransmission. Comparison with the effects of stress.* In: Dantzer R, Wollman EE, Yirmiya R, editors. *Cytokines, stress and depression.* New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers 1999, pp. 117-27.
 - 12 Crane JW, Buller KM, Day TA. *Evidence that the bed nucleus of the stria terminalis contributes to the modulation of hypophysiotropic corticotropin-releasing factor cell responses to systemic interleukin-1beta.* *J Comp Neurol* 2003;467:232-42.
 - 13 Merali Z, Lacosta S, Anisman H. *Effects of interleukin-1h and mild stress on alterations of norepinephrine, dopamine and serotonin neurotransmission: a regional microdialysis study.* *Brain Res* 1997;761:225-35.
 - 14 Song C, Merali Z, Anisman H. *Variations of nucleus accumbens dopamine and serotonin following systemic interleukin-1, interleukin-2 or interleukin-6 treatment.* *Neuroscience* 1999;88:823-836.
 - 15 Dantzer R, Aubert A, Bluthé R-M, et al. *Mechanisms of the behavioral effects of cytokines.* In: Dantzer R, Wollman EE, Yirmiya R, editors. *Cytokines, stress and depression.* New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers 1999, pp. 83-105.
 - 16 Dantzer R. *Cytokine-induced sickness behaviour: mechanisms and implications.* *Ann N Y Acad Sci* 2001;933:222-34.
 - 17 Van Gool AR, Kruit WHJ, Cornelissen JJ, et al. *Management of psychiatric adverse events with immunotherapy with interferon-alfa.* *Acta Neuropsychiatr* 1999;11:120-4.
 - 18 Bonaccorso S, Meltzer H, Maes M. *Psychological and behavioural effects of interferon-alpha.* *Curr Opin Psychiatry* 2000;13:673-7.
 - 19 Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, et al. *The Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10.* *J Clin Psychiatry* 1998;59(Suppl 20):22-33.
 - 20 Hamilton M. *A rating scale for depression.* *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1960;23:56-62.
 - 21 Overall JE, Gorham DR. *The Brief Psychiatric Rating Scale.* *Psychol Rep* 1962;10:799-812.
 - 22 Hamilton M. *The assessment of anxiety states by rating.* *Br J Med Psychol* 1959;32:50-5.
 - 23 Bosc M, Dubini A, Polin V. *Development and validation of a social functioning scale, the Social Adaptation Self-evaluation Scale.* *Eur Neuropsychopharmacol* 1997;7(Suppl 1):S57-70.
 - 24 Snaith RP, Hamilton M, Morley S, et al. *A scale for assessment of hedonic tone, the Snaith-Hamilton Pleasure Scale.* *Br J Psychiatry* 1995;167:99-103.
 - 25 Widlocher DJ. *Psychomotor retardation: clinical, theoretical, and psychometric aspects.* *Psychiatr Clin North* 1983;6:27-40.
 - 26 Kronfol Z. *Immune dysregulation in major depression: a critical review of existing evidence.* *Int J Neuropsychopharmacol* 2002;5:333-43.
 - 27 Mastorakos G., Chrousos GP, Weber JS. *Recombinant interleukin-6 activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in humans.* *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1690-4.
 - 28 Honda M, Yamamoto S, Cheng M, et al. *Human soluble IL-6 receptor: its detection and enhanced release by HIV infection.* *J Immunol* 1992;148:2175-80.
 - 29 Narazaki M, Yasukawa K, Saito T, et al. *Soluble forms of the interleukin-6 signal-transducing receptor component gp130 in human serum possessing a potential to inhibit signals through membrane-anchored gp130.* *Blood* 1993;82:1120-6.
 - 30 Heyes MP, Saito K, Crowley JS, et al. *Quinolinic acid and kynurenine pathway metabolism in inflammatory and non-inflammatory neurological disease.* *Brain* 1992;115:1249-73.
 - 31 Stone TW, Darlington LG. *Endogenous kynurenines as targets for drug discovery and development.* *Nat Rev* 2002;1:609-20.
 - 32 Maes M, Verkerk R, Bonaccorso S, et al. *Depressive and anxiety symptoms in the early puerperium are related to increased degradation of tryptophan into kynurenine, a phenomenon which is related to immune activation.* *Life Sci* 2002;71:1837-48.
 - 33 Wichers M, Maes M. *The role of indoleamine 2,3 dioxygenase (IDO) in the pathophysiology of interferon-alpha-induced depression.* *J Psychiatry Neurosci* 2004;29:11-17.
 - 34 Miller AH, Pariante CM, Pearce BD. *Effects of cytokines on glucocorticoid receptor expression and function. Glucocorticoid resistance and relevance to depression.* In: Dantzer R, Wollman EE, Yirmiya R, editors. *Cytokines, stress and depression.* New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers 1999, pp. 107-116.
 - 35 Zunszain PA, Anacker C, Cattaneo A, et al. *Glucocorticoids, cytokines and brain abnormalities in depression.* *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2011;35:722-9.