

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E COMPORTAMENTO
LABORATÓRIO DE NEUROCIÊNCIAS CLÍNICAS

**Disfunção na resposta imune no transtorno bipolar e risco de suicídio:
associação entre níveis periféricos do hormônio liberador de
corticotropina e da interleucina-1 β**

XÊNIA MARTINS MONFRIM

PELOTAS, 25 DE FEVEREIRO DE 2014.

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E COMPORTAMENTO
LABORATÓRIO DE NEUROCIÊNCIAS CLÍNICAS

**Disfunção na resposta imune no transtorno bipolar e risco de suicídio:
associação entre níveis periféricos do hormônio liberador de
corticotropina e da interleucina-1 β**

XÊNIA MARTINS MONFRIM

PELOTAS, 06 DE NOVEMBRO DE 2012.

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E COMPORTAMENTO
LABORATÓRIO DE NEUROCIÊNCIAS CLÍNICAS

**Disfunção na resposta imune no transtorno bipolar e risco de suicídio:
associação entre níveis periféricos do hormônio liberador de
corticotropina e da interleucina-1 β**

XÊNIA MARTINS MONFRIM

Projeto de pesquisa elaborado para o
Mestrado em Saúde e Comportamento
da Universidade Católica de Pelotas, sob
a orientação da Prof. Dra. Manuella
Kaster e co-orientação da Prof. Dra.
Barbara Spessato

Pelotas, 2012

SUMÁRIO

<u>I. Identificação</u>	04
1.1 Título.....	04
1.2 Mestranda.....	04
1.3 Orientador.....	04
1.5 Linha de Pesquisa.....	04
1.6 Data.....	04
<u>II. Delimitação do Problema</u>	05
1. Introdução.....	05
2. Objetivos.....	06
2.1 Objetivos Gerais.....	06
2.2 Objetivos Específicos.....	06
3. Hipóteses.....	06
<u>III. Estratégias de Busca</u>	07
<u>IV. Fundamentação Teórica</u>	08
<u>V. Metodologia</u>	10
5.1 Delineamento do Estudo.....	10
5.2 Amostra.....	10
5.3 Instrumentos.....	11
5.4 Aspectos Éticos.....	11
5.5 Avaliação Bioquímica.....	12
5.6 Análises Estatísticas.....	12
<u>VI. Cronograma</u>	12
<u>VII. Orçamento</u>	13
<u>VII. Referências</u>	14

Artigo

Anexos

I.IDENTIFICAÇÃO

1.1. Título: Disfunção na resposta imune no transtorno bipolar e risco de suicídio: associação entre níveis periféricos do hormônio liberador de corticotropina e da interleucina-1 β

1.2. Mestranda: Xênia Monfrim

1.3. Orientadora: Prof^a. Dra. Manuella Pinto Kaster

Co-orientadora: Dra. Barbara Spessato

1.4. Instituição: Mestrado em Saúde e Comportamento - Universidade Católica de Pelotas (UCPel).

1.5. Linha de Pesquisa: Doenças Neuropsiquiátricas e Marcadores Bioquímicos.

1.6. Data: Novembro 2012.

II. DELIMITAÇÃO DO PROBLEMA

1. Introdução

Embora os transtornos de humor sejam doenças multifatoriais e de etiologia pouco determinada, existem fortes indícios relacionando o estresse como o principal fator ambiental no desenvolvimento destas patologias (KLOET et al., 2005). As alterações neuroendócrinas observadas em indivíduos deprimidos, como a hiperatividade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), têm sido relacionadas com uma redução na plasticidade sináptica cerebral, possivelmente resultante da falta de capacidade do cérebro em responder ou adaptar-se a estímulos aversivos (DUMAN 2005). A menor plasticidade dos circuitos neuronais seria o resultado de modificações morfológicas, sobretudo diminuição na arborização dendrítica, no número de contatos sinápticos e diminuição da neurogênese hipocampal (MARAGIÑOS et al., 1997; DUMAN, 2005). Estas alterações sinápticas estão associadas ao déficit cognitivo e aos sintomas psiquiátricos observados tanto em pacientes deprimidos quanto em modelos animais de depressão e são mimetizadas pelo tratamento crônico com glicocorticóides (MCEWEN, 2007).

Nos últimos anos as doenças psiquiátricas foram as doenças que mais aumentaram na população mundial (ANDLIN-SOBOCKI et al., 2005). Estima-se que os transtornos de humor serão o grupo de doenças com maior custo absoluto nos próximos anos, conjuntamente com as patologias demenciais (ANDLIN-SOBOCKI et al., 2005). Apesar dos recentes progressos alcançados, as bases etiológicas dos transtornos de humor permanecem pouco elucidadas e a terapia não tem sido totalmente eficaz, com apenas 60% dos pacientes sendo responsivos aos fármacos existentes no mercado (GARERI et al., 2000). Além disso, o diagnóstico dos transtornos de humor é feito basicamente pela observação clínica do paciente, sendo muitas vezes falho e ineficaz. Desta maneira, a identificação de marcadores biológicos preditivos ou com valor diagnóstico para estas doenças pode representar um importante avanço no diagnóstico e tratamento dos transtornos de humor.

2.3. Objetivos

2.3.1. Objetivo geral

Avaliar se existem alterações nos níveis periféricos do hormônio liberador de corticotropina (CRH) e na interleucina-1 β (IL-1 β) em pacientes com transtorno bipolar, com ou sem risco de suicídio comparando com indivíduos sem transtornos de humor.

2.3.2. Objetivos específicos

1. Avaliar os níveis séricos de CRH e IL-1 β em pacientes com diagnóstico de transtorno bipolar comparando com controles sem transtornos de humor;
2. Comparar os níveis séricos de CRH e IL-1 β em pacientes com diagnóstico de transtorno bipolar com e sem risco de suicídio, e controles sem transtornos de humor;
3. Investigar se existe algum efeito da diferença de gênero, idade, atividade física, índice de massa corporal e fatores sócio- demográficos com os níveis de CRH e IL-1 β em pacientes bipolares com e sem risco de suicídio e controles.
4. Verificar se existem alterações nos níveis periféricos de CRH e IL-1 β durante os episódios atuais de humor dentro do transtorno bipolar.
5. Verificar se existem uma correlação entre os níveis periféricos de CRH e IL-1 β .

2.4. Hipóteses

1. Os níveis séricos de CRH estão reduzidos e os de IL-1 β estão aumentados em indivíduos bipolares quando comparada com bipolares sem risco de suicídio e controles.

2. Os níveis séricos de CRH estão reduzidos e os níveis de IL-1 β estão aumentados em indivíduos bipolares com risco de suicídio quando comparada com bipolares sem risco de suicídio.
3. Variáveis físicas e sócio-demográficas não estão relacionadas a alterações nos níveis periféricos destes marcadores.
4. Os níveis séricos de CRH e IL-1 β não estão alterados comparando os diferentes episódios de humor atual.
5. Existe uma correlação negativa entre níveis periféricos de CRH e IL-1 β .

III. ESTRATÉGIAS DE BUSCA

TABELA 1.

BASE DE DADOS	DESCRITORES	ARTIGOS ENCONTRADOS	INCLUIDOS NO ESTUDO
PUBMED	BIPOLAR DISORDERS AND CORTICOTROPIN	158	6
	DEPRESSION AND BIPOLAR DISORDERS AND STRESS AND CORTICOTROPIN	20	5
	DEPRESSION AND CORTICOTROPIN (ÚLTIMOS 5 ANOS)	488	8
LILACS	TRANSTORNO BIPOLAR ESTRESS	5	0

	CORTICOTROPIN RELEASING HORMONE DEPRESSION	7	3
ARTIGOS RELACIONADOS		42	26

IV. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Os transtornos de humor são doenças comuns, severas e crônicas. Eles incluem transtornos unipolares e transtornos bipolares (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994). A depressão é considerada uma condição frequente, em grande parte das vezes recorrente, estando ligada a altos níveis de incapacidade funcional, além de comprometimento da saúde física (FLECK et AL., 2003). Esta pode atingir grande parte da população independente de idade, sexo ou etnia, além de estar associada a elevados custos sociais e risco de suicídio (CUNHA & GANDINI, 2009; HEXSEL, 2004).

O transtorno bipolar é caracterizado por alterações nos estados de humor, e divide-se em transtorno bipolar tipo I (depressão e mania) e bipolar tipo II (depressão e hipomania) (ALDA, 1999). Atualmente, tem-se conhecimento de que o transtorno bipolar tipo I atinge em média de 1,0 a 1,6% da população (BARBOSA et al., 2009; LAFER et al., 2004), enquanto o transtorno bipolar tipo II afeta cerca de 5% da população (BARBOSA et al., 2009). Observa-se que este transtorno é de início precoce e acarreta maior incapacidade aos pacientes, além de apresentar uma elevada taxa de recorrência e cronicidade. Os problemas diretamente associados como diagnóstico e tratamento, bem como os indiretamente associados, como perda da produtividade no trabalho e mortalidade por suicídio, são imensos, além do sofrimento gerado nos indivíduos e suas famílias (LAFER et al., 2004).

O estresse crônico é definido como uma condição mental ou emocional desordenada que ocorre em resposta a influências externas adversas bem como a um estímulo ou circunstância causadora desta condição. O estresse psicológico é determinado por eventos negativos na vida, frequentemente de ocorrência precoce (MELLO et al., 2003). O eixo hipófise-pituitária-adrenal (HPA) é um sistema envolvido na resposta ao estresse. Ao responder a um agente estressor, neurônios hipotalâmicos aumentam a síntese e a liberação de hormônio liberador de corticotropina (CRH), o que

age na pituitária promovendo a secreção de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). O ACTH estimulam a porção cortical das glândulas adrenais a secretarem glicocorticóides, entre eles o cortisol. O glicocorticóides são hormônios esteróides secretados pelas glândulas adrenais durante situações de estresse. Estes hormônios agem em receptores localizados em inúmeros tecidos, incluindo o cérebro e suas numerosas ações são indispensáveis para resposta ao estresse. As ações dos glicocorticóides estão relacionadas com a redistribuição dos recursos energéticos, inibição do processo inflamatório e recuperação da homeostasia após o estímulo estressor. No entanto, a ativação exacerbada destes receptores que ocorre frente a um estresse crônico, está relacionada a ocorrência de um estado apoptótico nas células (LUCASSEN et al., 2006), redução da arborização dendrítica e volume hipocampal (SHELLINE et al., 2003). O excesso de glicocorticóides pode ser resultante da falha dos mecanismos de retroinibição que controlam a síntese e liberação destes esteróides, podendo resultar em um aumento da neurotoxicidade através de diferentes mecanismos, incluindo modificações no metabolismo energético da célula, excitotoxicidade e estresse oxidativo (SCALCO, 2005).

O eixo HPA tem sido muito estudado, uma vez que anormalidades no seu funcionamento são descritas em pacientes que experimentam transtornos psiquiátricos. Além disso, indivíduos predispostos a terem transtornos psiquiátricos apresentam o estresse como principal desencadeante (JURUENA et al., 2004; JURUENA & CLEARE, 2007). Durante e após a exposição a fatores estressantes, a produção e liberação do cortisol aumenta em grande quantidade (SOARES & ALVES, 2006). Já no final da década de 50 observou-se que o nível basal do cortisol plasmático em pacientes deprimidos era maior do que em controles saudáveis. Somando-se a isto verificou-se que os níveis plasmáticos de cortisol durante a remissão de um episódio depressivo eram menores do que durante a fase aguda da doença (JURUENA & CLEARE, 2007). Além disso, um dos maiores achados da psiquiatria é a hiperatividade do eixo HPA na depressão maior, onde um grande percentual de pacientes apresenta concentrações elevadas de cortisol no plasma, na urina e no fluido cerebrospinal (JURUENA, CLEARE & PARIANTE, 2004; JURUENA & CLEARE, 2007).

O CRH faz parte de uma família de peptídeos, sintetizado na forma de um precursor de 91 aminoácidos chamados de pré-pró-CRH que posteriormente é processado a um peptídeo ativo de 41 aminoácidos (AYLA, 2002). Os receptores de CRH estão presentes no sistema nervoso central. Estes pertencem à família dos

receptores de neuropeptídios e predominam em regiões responsáveis pelas funções cognitivas, assim como nas que regulam as funções autonômicas e no sistema límbico. Têm sido descritas duas variantes de receptores para o CRH, o CRH1 e o CRH2, sendo ambos receptores de membrana, acoplados a proteína G. O CRH1 predomina no sistema nervoso central e o rCRH2 na periferia (AYLA, 2002). Periféricamente, alguns estudos, demonstram a presença do CRH e dos seus receptores em células do sistema imune, como linfócitos, sugerindo um meio de comunicação entre a resposta imune e endócrina (EKMAN et al, 1993; KARALIS, 1996).

Alguns estudos fornecem evidências da participação do CRH nos sinais e sintomas comportamentais dos transtornos de humor, como na diminuição da libido, apetite e nas alterações psicomotoras e distúrbios do sono. Na depressão os níveis de CRH hipotalâmicos são considerados com relacionados a alterações nos mecanismos de retroinibição promovidos pelos glicocorticóides endógenos (JURUENA, CLEARE & PARIANTE, 2004). O CRH desempenha um papel fundamental na regulação do eixo HPA e modula a resposta do sistema endócrino ao estresse, sendo o principal estimulador da secreção de ACTH pela hipófise. Sua transcrição eleva-se de forma significativa durante os períodos de estresse e estudos clínicos e pré-clínicos demonstram envolvimento do CRH na fisiopatologia dos transtornos de ansiedade e na depressão maior (EKMAN et al, 1993; AYLA,2002). Níveis elevados de CRH foram encontrados no líquido de pacientes com diagnóstico de depressão melancólica (NEMEROFF, 1984) e no córtex cerebral de vítimas de suicídio (NEMEROFF, 1988). Citocinas são moléculas do sistema imunológico que são secretadas em resposta a um estímulo inflamatório (DANTZER et al., 2011). Essas moléculas podem ser produzidas periféricamente e podem penetrar no sistema nervoso central (SNC) pela barreira hematoencefálica ou por transportadores específicos, ou podem ser diretamente produzidas no SNC por neurônios e por células da glia (CATENA-DELL'OSSO et al., 2011). Nos últimos 20 anos uma série de trabalhos têm relatado uma associação entre a ativação do sistema imunológico e os sintomas psiquiátricos (MIKOVA et al 2001; TUGLU et al., 2003; DOWLATI et al., 2010). Observou-se que a terapia com citocinas pro-inflamatórias, utilizada no tratamento de certos tipos de câncer, hepatite e de algumas infecções virais é capaz de produzir sintomas semelhantes aos sintomas depressivos (PAPANICOLAOU et al., 1998; SCHIEPERS et al., 2005). Além disso, alterações nos níveis de citocinas pró-inflamatórias foram encontrados no plasma de pacientes com transtornos de humor (FROMMBERGER et al., 1997; KAESTNER et

al., 2005; PACE et al., 2006; MAES et al., 1995; O'BRIEN et al., 2006; HUNG et al., 2007; ORTIZ-DOMINGUEZ et al., 2007). Em função destes achados, diversas teorias têm implicado os transtornos de humor como doenças de cunho inflamatório. Essas teorias baseiam-se na idéia de que as citocinas pró-inflamatórias atuariam mediando alguns dos aspectos neuroquímicos, neuroendócrinos e comportamentais desses transtornos (DANTZER, 2009).

Vários mecanismos têm sido propostos para explicar a influência das citocinas pró-inflamatórias na etiologia dos transtornos de humor. As citocinas podem afetar o metabolismo dos sistemas noradrenérgico, serotoninérgico e dopaminérgico (DUNN et al., 2005, DANTZER et al., 2011), podem regular o crescimento e a proliferação das células gliais, modular a atividade dos peptídeos opióides endógenos e ativar o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) (SILVERMAN et al., 2005). Especificamente, existe uma forte relação entre a IL-1 β e o eixo HPA, tanto no SNC quanto na periferia. A IL-1 β é uma das principais moléculas capazes de ativar o eixo HPA e estimular a secreção de CRH pelos neurônios hipotalâmicos. Além disso, na periferia o CRH também é capaz de modular a liberação de IL-1 β , contribuindo para a resposta inflamatória. Foi demonstrado em culturas de monócitos humanos, a administração de CRH é capaz de inibir a síntese de IL-1 β quando as células estão ativadas mas estimula sua produção e liberação em monócitos em estado não ativado, sugerindo que os níveis de toxicidade sistêmica podem influenciar na comunicação em a resposta ao estresse e a inflamação (VAUGHAN et al., 1995; JONES E CHALLIS, 1989)

V. METODOLOGIA

5.1. Delineamento do estudo

O estudo foi desenvolvido a partir de um estudo transversal de base populacional em andamento intitulado “Estudo do temperamento e transtornos psiquiátricos na interface entre psiquiatria, psicologia e neurociências” (projeto aprovado pelo comitê da Universidade Católica de Pelotas, protocolo 2010/15). Foram selecionados todos os indivíduos com transtorno de humor bipolar e risco de suicídio do estudo populacional e a partir deste grupo, indivíduos bipolares sem risco de suicídio e controles sem transtorno de humor pareados por gênero e idade foram aleatoriamente selecionados. Todos os indivíduos aceitaram participar do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Foram excluídos do estudo indivíduos incapazes de responderem a entrevista diagnóstica, por problemas físicos ou cognitivos.

5.2. Amostra

A seleção da amostra do estudo transversal de base populacional encontra-se em andamento, sendo realizada por conglomerados, considerando a população de aproximadamente 97 mil adultos de 18 a 35 anos de idade e a divisão censitária atual de 448 setores da cidade de Pelotas-RS, de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). O tamanho amostral com parâmetros de confiabilidade de 95%, poder de 80%, prevalência do desfecho de 10% e menor prevalência esperada de 8% é de 1714 adultos, a serem avaliados em 68 setores censitários. O diagnóstico de transtorno bipolar ou depressão será feito pelo Mini Internacional Neuropsychiatric Interview 5.0 (MINI) (Sheehan et al., 1998). Para o presente estudo selecionaremos todos os pacientes com transtorno bipolar e risco de suicídio do estudo populacional. Adicionalmente, dois grupos serão recrutados, indivíduos bipolares sem risco de suicídio e indivíduos sem transtornos de humor (grupo controle). Os grupos serão selecionados aleatoriamente e pareados por sexo e idade. Baseado no tamanho da amostra inicial e na prevalência de 8% de episódios maníacos e hipomaniacos na população (Jansen et al., 2011), espera-se encontrar 137 pacientes com transtorno bipolar.

5.3. Instrumentos

Os instrumentos utilizados serão: um questionário composto por variáveis referentes a condições econômicas, escolaridade e dados sobre a saúde dos pacientes. O diagnóstico dos transtornos de humor será feito através da aplicação do MINI 5.0, em anexo.

5.4. Avaliação bioquímica

A coleta do sangue foi realizada por um técnico especializado após o devido consentimento do paciente e aplicação dos instrumentos. Foram coletados 15 ml de sangue total, sendo 5ml em tubos com EDTA e 10 ml de sangue total em tubos sem anticoagulantes. O soro foi armazenado a -80°C para as análises bioquímicas. Os níveis séricos de CRH e IL-1 β serão avaliados utilizando kits comerciais (Uscn Life Sciences Inc.) em um leitor de microplacas (Molecular Devices Max 190), usando um método de ELISA que possui anticorpo marcado com streptavidina- HRP.

5.5. Análises estatísticas

Os dados serão analisados através do programa SPSS 13.0. Será realizada análise univariada para obter frequências das variáveis de interesse e examinar suas distribuições por categorias. Os testes estatísticos qui-quadrado e ANOVA serão utilizados na análise bivariada dos dados visando descrever associações na amostra.

VI. CRONOGRAMA

Início do projeto: março 2012

Término do projeto: dezembro 2013

	1° semestre	2° semestre	3° semestre	4° semestre
Seleção dos pacientes a partir do banco de dados e aquisição de material de consumo				
Compra dos kit e análises bioquímicas				
Análise dos resultados				
Redação de artigo científico				

VII. ORÇAMENO

Item	Quantidade	Custo Unitário (R\$)	Custo Total (R\$)
MATERIAL DE CONSUMO			
Ponteiras 1000µl sem filtro (pacote 1000U)	10	45,00	450,00
Ponteiras 10µl sem filtro (pacote 1000U)	10	41,00	410,00
Ponteiras 200µl sem filtros (pacote 1000U)	10	40,00	400,00
Kits ELISA para dosagem de CRH	6	2.600,00	13.000,00
Total em materiais de consumo	-	-	14.260,00

VIII. REFERÊNCIAS

1. ALDA, MARTIN. *Transtorno bipolar*. Rev. Bras. Psiquiatr. [em linha]. 1999, vol. 21, suppl. 2, pp. 14- 17.
2. AMERICAN PSYCHIATRY ASSOCIATION. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Washington, DC. 4° ed.,1994.
3. AYLA, ALEJANDRO R. *Antagonistas do hormônio liberador da corticotrofina: Atualizações e perspectivas*. Arq Bras Endocrinol Metab vol 46 N° 6 Dezembro 2002.
4. ADLIN- SOBOCKI, P., JONSSON, B., WITTCHEN, H.U., OLESEN, J. *Cost of the Disorders of the Brain in Europe*. Eur J Neurol 12: 1- 27, 2005.
5. BARBOSA, IZABELA GUIMARÃES et al. *Imunologia do transtorno bipolar*. J. bras psiquiatr. [online]. 2009, vol. 58, n.1, pp.52-59.
6. CATENA-DELL'OSSO M, BELLANTUONO C, CONSOLI G, BARONI S, ROTELLA F, MARAZZITI D. *Inflammatory and neurodegenerative pathways in depression: a new avenue for antidepressant development?* Curr Med Chem. 18:245-55, 2011.
7. CUNHA, MARINES F.; GANDINI, RITA C.; *Adesão e não- adesão ao tratamento farmacológico para depressão*. PSIC.; Teor. Pesq.; Brasília; jul- set 2009; VOL.25 n.3, PP. 409- 418.
8. DANTZER R. *Cytokine, sickness behavior, and depression*. Immunol Allergy Clin North Am. 29:247-64, 2009.
9. DANTZER R, O'CONNOR JC, LAWSON MA, KELLEY KW. *Inflammation-associated depression: from serotonin to kynurenine*. Psychoneuroendocrinology. 36:426-36, 2011.
10. DOWLATI Y, HERRMANN N, SWARDFAGER W, LIU H, SHAM L, REIM E.K, AND LANCTÔT K.L. *A Meta-Analysis of Cytokines in Major Depression*. Biol Psychiatry. Páginas 446-457.2010

11. DUNN AJ, SWIERGIEL AH, DE BEAUREPAIRE R. *Cytokines as mediators of depression: what can we learn from animal studies?* Neurosci Biobehav Rev. 29:891-909, 2005.
12. DUMAN, R. S. *Neurotrophic Factors and Regulation of Mood: Role of Exercise, Diet and Metabolism*. Neurobiology of Ageing 26: 88-93, 2005.
13. EKMAN R, ET AL. *Biosynthesis of Corticotropin- Releasing Hormoni in Human T- Lymphocytes*. JOURNAL OF NEUROIMMUNOLOGY, 44(1993) 7- 14.
14. FLECK, M. P. A., BENY, L., SOUGEY, E. B., DEL PORTO, J. A., BRASIL, M. A., & JURUENA, M. F. (2003). *Diretrizes da Associação Médica Brasileira para o tratamento da depressão* (versão integral). *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 25, 114-122.
15. FROMMBERGER UH, BAUER J, HASELBAUER P, FRÄULIN A, RIEMANN D, BERGER M. *Interleukin-6 (IL-6) plasma levels in depression and schizophrenia: comparison between the acute state and after remission*. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 247:228-33, 1997.
16. GARERI, P. FALCONI, U., DE FAZIO, P. E., DE SARRO, G. *Conventional and New Antidepressant Drugs in the Elderly*. Prog Neurobiol. 61: 353- 396, 2000.
17. HEIM C, NEMEROFF CB. *The impact of early adverse experiences on brain systems involved in the pathophysiology of anxiety and affective disorders*. Biol Psychiatry 1999;46(11):1509-22.
18. HEXSEL, A. M. *Resposta antidepressiva aguda ao metilfenidato na depressão maior: ensaio clínico randomizado duplo-cego*. 2004. Dissertação de Mestrado em Ciências Médicas. Programa de Pós Graduação em Medicina. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul.
19. HUNG YL, HSIEH CH, CHEN YJ, PEI D, KUO SW, SHEN DC, SHEU WH, CHEN YC. *Insulin sensitivity, proinflammatory markers and adiponectin in young males with different subtypes of depressive disorder*. Clinical Endocrinology. 784-789, 2007.

20. JURUENA, MARIO FRANCISCO E CLEARE, ANTHONY JAMES. *Superposição entre depressão tí, doença afetiva sazonal e síndrome da fadiga crônica*. Rev. Bras. Psiquiatr. [em linha]. 2007, vol.29, suppl.1, pp. s19-s26.
21. JURUEMA, MARIO FRANCISCO; CLEARE, ANTHONY JAMES E PARIANTE, CARMINE M. *O eixo hipotálamo- pituitária- adrenal, a função dos receptores de glicocorticóides e sua importância na depressão*. Rev. Bras. Psiquiatr. 2004, vol. 26(3): 189- 201.
22. JANSEN K, ORES LDA C, CARDOSO TDE A, LIMA RDA C, SOUZA LD, MAGALHÃES PV, PINHEIRO RT, DA SILVA RA. *Prevalence of episodes of mania and hypomania and associated comorbidities among young adults*. J Affect Disord. 2011, vol.130, pp. 328-333.
23. JONES SA, CHALLIS JR. *Local stimulation of prostaglandin production by corticotropin-releasing hormone in human fetal membranes and placenta*. Biochem Biophys Res Commun. 1989; 159:192-9.
24. KAESTNER F, HETTICH M, PETERS M, SIBROWSKI W, HETZEL G, PONATH G, AROLT V, CASSENS U, ROTHERMUNDT M. *Different activation patterns of proinflammatory cytokines in melancholic and non-melancholic major depression are associated with HPA axis activity*. J Affect Disord. 87:305-11, 2005.
25. KARALIS, K, MUGLIA LJ, BAE D, HILDERBRAND H, MAJZOUB JA. *CRH and the immune system*. Journal of neuroimmunology, 72 (1997) 131- 136.
26. KLOET, E.P., JOELS, M., HOLSBOER, F. *Stress and the Brain: From Adaptation to Disease*. Nature Reviews/ Volume 6, June 2005.
27. LAFER, BENY; SOARES, JAIR C; SANCHES, MARSAL E DEL PORTO, JOSÉ ALBERTO. *Apresentação- Transtorno Bipolar: da Genética á Reabilitação Junto*. Rev. Bras. Psiquiatr. [em linha]. 2004, vol.26, suppl.3, pp. 1-2.
28. Y. LECRUBIER, E. WEILLER, T. HERGUETA, P. AMORIM, L.I. BONORA, J.P. LÉPINE Hôpital de la Salpêtrière – Paris – França. D. SHEEHAN, J. JANAVS, R. BAKER, K.H. SHEEHAN, E. KNAPP, M. SHEEHAN University of South Florida – Tampa – E.U.A. **M.I.N.I (Mini International Neuropsychiatric Interview) DSM IV.**

29. LUCASSEN PJ, HEINE VM, MULLER MB, VAN DER BEEK EM, WIEGANT VM, DE KLOET ER, JOELS M, FUCHS E, SWAAB DF, CZECH B. ***Stress, Depression and Hippocampal Apoptosis.*** CNS Neurol Disord Drug Targets. 2006 Oct;5(5):531-46.
30. MAES M, VANDOOOLAEGHE E, RANJAN R, BOSMANS E, BERGMANS R, DESNYDER R. ***Increased serum interleukin-1-receptor-antagonist concentrations in major depression.*** Dec 24;36(1-2):29-36, 1995.
31. MAGARIÑOS, A.M., VERDUGO, J.M., MCEWEN, B.S. ***Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus.*** Proc Natl Acad Sci USA 94: 14002-14008, 1997.
32. MCEWEN BS. ***Psychophysiology and Neurobiology of Stress and Adaptation: Central Role of Brain.*** Physiol Rev. 2007 Jul;87(3):873-904.
33. MELLO, ANDREA DE ABREU FEIJÓ DE; MELLO, MARCELO FEIJÓ DE; CARPENTER, LINDA L AND PRICE, LAWRENCE H. ***Update on stress and depression: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis.*** Rev. Bras. Psiquiatr. [online]. 2003, vol.25, n.4, pp. 231-238.
34. MIKOVA O, YAKIMOVA R, BOSMANS E, KENIS G, MAES M. ***Increased serum tumor necrosis factor alpha concentrations in major depression and multiple sclerosis.*** Eur Neuropsychopharmacol. 11:203-8, 2001.
35. NEMEROFF CB, ET AL. ***Elevated Concentrations of csf Corticotropin- Releasing Factor-Like Immunoreactivity in Depression Patients.*** SCIENCE 1984; 226 (4680): 1342- 4.
36. NEMEROFF CB, ET AL. ***Reduced Corticotropin Releasing Factor Binding Sites in the Frontal Cortex of Suicide Victims.*** ARCH GEN PSYCHIATRY 1988; 45(6): 577- 9.
37. O'BRIEN, SM, SCULLY P, SCOTT LV, DINAN TG. ***Cytokine profiles in bipolar affective disorder: Focus on acutely ill patients.*** Journal of affective Disorders. 263-267,2006.

38. ORTIZ-DOMÍNGUEZ A, HERNÁNDEZ ME, BERLANGA C, GUTIÉRREZ-MORA D, MORENO J, HEINZE G, PAVÓN L. *Immune variations in bipolar disorder: phasic differences*. Bipolar Disord. 9 (6): 596-602, 2007
39. PACE TW, MLETZKO TC, ALAGBE O, MUSSELMAN DL, NEMEROFF CB, MILLER AH, HEIM CM. *Increased stress-induced inflammatory responses in male patients with major depression and increased early life stress*. Am J Psychiatry. 163:1630-3, 2006.
40. PAPANICOLAOU DA, WILDER RL, MANOLAGAS SC, CHROUSOS GP. *The pathophysiologic roles of interleukin-6 in human disease*. Ann Intern Med. 128:127-37, 1998.
41. SOARES, ANTÓNIO JOSE DE ALMEIDA; ALVES, MARIA DA GRAÇA PEREIRA. *Cortisol como variável em psicologia da saúde*. Psicologia, Saúde & Doenças. 2006, vol.7(2): 165- 177.
42. SCALCO, ANDREIA ZAVALONI. *Avaliação do Sistema Nervoso Simpático em Pacientes Deprimidos*. 2005. F. 99. DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIENCIAS. FACULDADE DE MEDICINA. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. SÃO PAULO.
43. SCHIEPERS OJ, WICHERS MC, MAES M. *Cytokines and major depression*. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 29:201-17, 2005.
44. SHELINE, Y. I., GADO, M. H. KRAEMER, H.C., 2003. *Untreated Depression and Hippocampal Volume Loss*. Am. J. Psychiatry 160, 1516- 1518.
45. SILVERMAN MN, PEARCE BD, BIRON CA, MILLER AH. *Immune modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis during viral infection*. Viral Immunol. 18:41-78, 2005.
46. TUGLU C, KARA SH, CALIYURT O, VARDAR E, ABAY E. *Increased serum tumor necrosis factor-alpha levels and treatment response in major depressive disorder*. Psychopharmacology 170:429-33, 2003.

47. WESTRIN, A., EKMAN, R., BENDZ, L.T. *Alterations of corticotropin releasing hormone (CRH) and neuropeptide Y (NPY) plasma levels in mood disorder patients with a recent suicide attempt.* European Neuropsychopharmacology 9 (1999) 205–211.
48. VAUGHAN J, DONALDSON C, BITTENCOURT J, PERRIN MH, LEWIS K, SUTTON S, et al., 1995. *Urocortin, a mammalian neuropeptide related to fish urotensin I and to corticotropin-releasing factor.* Nature 378, 287-92.

July 3, 2013

Immune dysfunction in bipolar disorder and suicide risk: Is there an association between peripheral corticotropin release hormone and interleukin-1 β ?

Xênia Monfrim¹, Marta Gazal¹, Pâmela B. De Leon¹, Luciana Quevedo¹, Luciano D. Souza¹, Karen Jansen¹, Jean P. Oses¹, Ricardo T. Pinheiro¹, Ricardo A. Silva¹, Diogo R. Lara², Gabriele Ghisleni¹, Barbara Spessato¹, Manuella P. Kaster^{1*}

Running head: CRH and IL-1 β in bipolar disorder and suicide risk

¹ Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento – Universidade Católica de Pelotas

² Biologia Celular e Molecular – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

*Corresponding Author

Manuella P. Kaster (manu.kaster@gmail.com)

Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento, Centro de Ciências da Vida e da Saúde, Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, Brasil.

Rua Gonçalves Chaves 373

96015560

Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil

Phone: +55 53 2128 8031/ FAX: +55 53 2128 8229

Abstract

Objective: To investigate the relationship between peripheral levels of corticotropin releasing hormone (CRH) and interleukin-1 β (IL-1 β) in BD individuals with and without suicide risk (SR) and controls.

Methods: 120 young adults (40 controls, 40 BD subjects without SR and 40 BD subjects with SR) were enrolled from a population-based study carried out in the city of Pelotas, (Brazil). BD and SR were assessed with MINI 5.0 and peripheral markers were evaluated by ELISA.

Results: Levels of CRH were significantly lower both in BD subjects without SR ($p = 0.04$) or with SR ($p = 0.02$) when compared to control. However, levels of IL-1 β were increased in BD subjects with SR ($p = 0.05$) when compared to control. Socio-demographic and clinical variables, current mood episode and use of psychiatry medication were not associated with changes in these markers. No correlation was found between peripheral levels of CRH and IL-1 β ($p = 0.60$) in the population or in BD with SR group ($p = 0.88$)

Conclusions: These results suggest that peripheral mechanisms linking stress hormones and the immune system might be critical patterns involved in suicidal behavior associated with BD.

Keywords: corticotropin releasing hormone; interleukin-1 β ; bipolar disorder; suicide risk.

Introduction

Suicide is one of the ten primary causes of death worldwide (1, 2). Suicide attempts and ideation are even more common constituting a major public health concern (3). Suicidal behavior emerges from a complex relationship among psychosocial, environmental and genetic factors (4). Psychiatry disorders are considered primary risk factors for suicide and 90%

of suicide attempters suffer from at least one psychiatry illness (2, 5, 6). Bipolar disorder (BD) carries the highest suicide risk and around 15–20% of BD patients die by suicide (7, 8). The high prevalence of suicide behaviors in BD patients underscore the importance of identifying biological factors associated with this condition.

Chronic stress is a key environmental factor in the etiology and progression of psychiatric disorders, such as BD and suicide risk (SR) (9). The hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis, via release of corticotropin-releasing hormone (CRH), is a major mediator of stress response (10-12). The HPA axis and the immune system communicate at multiple levels: (a) immune system-derived substances, such as cytokines, can induce HPA activation; (b) HPA axis-derived substances, like glucocorticoids, can modulate the immune response; (c) immune cells also expressed CRH, previously thought to be restricted to the HPA axis.

In the early 1990s, CRH was found at peripheral cells such as lymphocytes and other mononuclear blood cells (13,14). Moreover, administration of CRH antiserum significantly decreased acute inflammation in vivo (15), suggesting an influence of this peptide in the inflammatory response. In fact, abnormalities in peripherally derived inflammatory molecules account for several behavioral, endocrine and neurochemical alterations observed in psychiatry patients (16). Two case reports described an association between immunomodulating interferon therapies and suicidal behavior (17,18). Other studies found increased expression of pro-inflammatory molecules in suicidal postmortem brain, suggesting inflammation as a possible trigger for suicidal behavior (19,20).

Interleukin-1 β (IL-1 β) is a cytokine released by activated macrophages and monocytes during the acute phase of inflammatory response (21). IL-1 β potently stimulates HPA axis by releasing CRH, adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and glucocorticoids (22,23). Although there is strong evidence supporting the influence of altered neuroendocrine and immune response in mood disorders, the neurobiological factors involved in suicide behavior are

scarcely researched. The purpose of this study was to investigate the relationship between peripheral levels of corticotropin releasing hormone (CRH) and interleukin-1 β (IL-1 β) in BD individuals with and without suicide risk (SR) and controls without history of psychiatry disorder.

Participants and Methods

The sample consisted of 120 participants (18-34 years old), enrolled from a population-based study recently carried out in the city of Pelotas, (Brazil). Sample selection was performed by clusters, in the period of June 2011 to October 2012. In the present study, we recruit every person from the population-based study with a lifetime clinical diagnosis of BD, characterized by past or current history of mania/hypomania, meeting the instrument criteria (BD group). Additionally, control subjects, without any history of mood disorder were randomly selected and balanced for gender and ethnicity.

The subjects were evaluated with a structured diagnostic interview – Mini International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I. 5.0). The study was approved by the Ethics Committee of our University (2010/15) and all participants signed the informed consent and answered to a questionnaire that collected socio-demographic data. Using this strategy, we were able to obtain data on 120 subjects (40 controls, 40 BD subjects without SR and 40 BD subjects with SR).

Determination of serum CRH and IL-1 β levels

Ten milliliters of blood were withdrawn from each subject by venipuncture into a free-anticoagulant vacuum tube after the interview. The blood was immediately centrifuged at

4,000 x *g* for 15 min, and serum was kept frozen at -80°C until analysis. Peripheral markers were measured using commercial available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit for IL-1 β (R&D Systems, Inc., USA) and for CRH (Uscn Life Sciences Inc., China).

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using the Statistical Program for Social Sciences (SPSS) 20.0. Descriptive analyses are presented as %, mean and standard deviation (S.D.) or median and interquartile range (25-75%). Socio-demographic and clinical characteristics were compared using Analysis of Variance (ANOVA) or Chi-square, as appropriate. CRH and IL-1 β levels had a non-Gaussian distribution and were compared using nonparametric tests. We analyze group differences using Kruskal–Wallis followed by Dunnetts *post hoc* test or Mann–Whitney U test when appropriated. In order to explore the relationship between CRH and IL-1 β , we used Spearman rank correlation. A linear regression analyses was performed with log-transformed values for CRH and IL-1 β in order to rule out the use of psychiatric medication and the levels of these markers. Results with *p* values < 0.05 were considered statistically significant.

Results

The final sample of this study consisted of 120 subjects, 40 BD patients with suicide risk, 40 BD without suicide risk and 40 control patients, with no history of mood disorders. The socio-demographics and clinical information according to diagnosis are summarized in Table 1. The sample was balanced by gender (*p* = 0.68) and ethnicity (*p* = 0.10). The three groups were significantly different in terms of age (*p* = 0.001), socioeconomic status (*p* = 0.05) and school

years ($p = 0.03$). In regard to the biological variables we found no significant differences among groups in BMI ($p = 0.08$). Considering current episodes we found significant differences among groups ($p = 0.001$), 40% of SR participants were in mixed episode compared to 12.5% of participants without SR (see Table 1). In our sample we had an arguably low use of medication, only 14%. Participants with SR presented significantly higher usage of medication 30%, compared to subjects without SR 10% and control 2.5% ($p = 0.007$). We found no statistically significant associations between the markers and socioeconomic status, age, gender, ethnicity and BMI ($ps > 0.05$). We also found no differences in the levels of CHR and IL-1 β in regard to the current mood episode and psychiatry medication ($ps > 0.05$) (Table 2).

According to the diagnosis, we found a significant decrease in CRH levels in BD subjects when compared to control group, [median = 24.47 (16.35-29.93) for control group] and [(median = 19.79 (8.68-26.55) for BD group, $p = 0.01$)]. In addition, no differences were found in IL-1 β levels between control and BD group [median = 4.11 (2.59-6.33) for control group] and [(median = 2.96 (0.55-6.46) for BD group, $p = 0.31$)] (Figure 1).

The results presented in Figure 2 show significant differences for CRH levels among control subjects and BD with or without SR groups ($p = 0.03$). Dunnett *post hoc* tests showed that participants SR [median = 18.93 (7.18-28.83)] and without SR [(median = 19.94 (10.56-26.20))] had significant lower CRH levels ($p = 0.04$ and $p = 0.02$ respectively) than control group [median = 24.47, (16.35- 29.93)]. IL-1 β levels were also significantly different among groups ($p = 0.02$). Nonetheless, Dunnett *post hoc* tests showed that participants SR had significant higher levels of IL-1 β [$p = 0.05$ (median = 4.22 (1.28-7.07))] when compared to both participants without SR [median = 1.84 (0 – 4.68)] and control group [(median = 4.11 (2.59-6.33))]. We also conducted an adjusted analysis for psychiatric medication in general and we found that it does not significantly explain the variance of IL-1 β ($\beta = 0.13$; $p = 0.15$) and CRH levels ($\beta = -0.14$; $p = 0.11$). In addition, we found no correlation between peripheral levels of CRH and IL-1 β neither in the role sample ($r = - .047$, $p = 0.60$) nor in the BD with SR group ($r = - .0244$, $p = 0.88$, data not shown).

Discussion

This report tries to establish a connection between peripheral CRH and IL-1 β in a group of BD patients with SR. In the present study we show that peripheral levels of CRH are decreased in BD subjects when compared to controls, regardless of the SR. On the other hand, peripheral IL-1 β increased only in the SR group, suggesting that these markers have different roles in the BD.

Research demonstrated that the highest prevalence of suicide occurs in the depressive and mixed phase of BD (24). Our work supports this evidence by showing that most of the SR individuals are in current depressive and mixed episodes. Few people in the sample were using psychiatry medication; however, it is noteworthy that the use of psychiatry medication was higher in the SR group. The advantage of selecting a population-based sample lies on the possibility of having subjects unaware of their condition and relatively free of psychiatry intervention. It is important to mention that we had one subject in the control group using carbamazepine to treat epilepsy. However, after the linear regression analysis we found that the use of psychiatric medication was not a main factor associated with peripheral changes in CRH or IL-1 β . In addition, the socio-demographic variables analyzed here were not associated with the changes observed in CRH or IL-1 β levels.

Evidence points to dysfunction of the CRH system in several of psychiatric disorders. Cerebrospinal fluid (CSF) levels of CRH are elevated in subjects with depression, obsessive-compulsive disorder, posttraumatic stress disorder (25-27). Evidence showed that altered functioning of the HPA axis is associated with BD (27). However, the literature is still limited on the role of peripheral peptides as potential markers of BD and SR.

Despite the fact that determinations of CRH concentrations in the CSF of psychiatric patients with previous suicide attempts are somewhat inconsistent, most studies support our

findings (28-32). It is important to mention, however, that fewer studies found decreased CSF and plasma CRH levels in suicide attempters (33-35). Our comparisons to those studies are relatively limited since they did not investigate specific psychiatric disorder associated with SR. In the present research, the reduction on CRH levels were related to BD diagnosis regardless of SR. Serum CRH concentrations presented here were higher than the previously described for CSF and plasma. Geraciotti et al. (1992, 1997) demonstrated that CRH levels in the CSF did not correlate with plasma CRH, ACTH or cortisol concentrations (36,37). Thus, we can speculate that the CRH level found might be derived from peripheral sources, including the immune system. Nevertheless, further studies are needed in order to clarify the effects of peripheral CRH in BD.

There is no novelty in the argument that psychiatry disorders are associated with immune activation. Despite the growing body of evidence, the clinical relevance of these findings is still limited, yet it provides a glimpse of the mechanism involved in mood disorders, like BD. We did not find significant alterations in IL-1 β levels in BD subjects when compared to control. Indeed, only a small number of studies investigated changes in peripheral levels of IL-1 β in BD patients and these data is somehow contradictory. Increased IL-1 β levels were found during the depressive phase of BD in the serum (38), or during the euthymic phase in the CSF (39). Our study focused on the diagnosis of BD and not in the current mood episode. However, it is possible that IL-1 β levels might be trait specific marker in different phases of the disease.

It is not clear whether the inflammatory changes in psychiatric patients contribute directly to the suicide risk. Polymorphisms in the IL1- β gene were associated with increased susceptibility to suicidal behavior (40). However, most of the literature failed to find association between peripheral and cerebrospinal levels of IL1- β and suicide risk (41-43). In addition, no differences in IL1- β mRNA were found in the postmortem brain of suicide patients (44). This report is the first showing that differences in IL-1 β concentration might be a specific

marker for subjects with SR associated with BD.

In the central nervous system there is a strong relationship between CRH and IL-1 β . Activation of CRH neurons by IL-1 β triggers HPA axis (45). In the periphery, CRH also modulate IL-1 β system, contributing to peripheral inflammatory response (46). In human monocytes, CRH exerts an inhibitory control of IL-1 β synthesis in activated cells and a stimulatory control in resting monocytes (47). These results suggest that in disorders characterized by systemic toxicity, like BD, the decrease in peripheral CRH might contribute to an exacerbation of the inflammatory response. We hypothesized that the reciprocal interaction between these two molecules might underlie some of the stress-immune dysfunction associated with BD and SR. However, the present work did not find a correlation between levels of CRH and IL-1 β in BD subjects with SR, suggesting that these molecules are likely to be distinct biochemical markers associated with these conditions.

Our findings should be considered in light of some limiting factors: data on symptoms severity using scales such as the Young mania scale would help to better clarify the involvement of CRH and IL-1 β in BD. In addition, a larger patient pool should help to get a better understanding of the peripheral interaction between stress and immune system. However, one of the major strengths of our study is using a well-balanced population-based sample with a very low use of psychiatric medications, limiting possible confounders. Although at this time our results have limited clinical implication, this is the first study conducted to unravel the relationship between peripheral CRH and IL-1 β in mood disorders. Taken together, the results suggest that peripheral CRH might be a useful marker associated with the diagnosis of BD while IL-1 β might identify the presence of suicide risk in BD patients.

Acknowledgements

This work was supported by CNPq, CAPES and FAPERGS.

Disclosures

The authors do not have any conflicts of interest to report in connection with this manuscript.

References:

1. Levi F, La Vecchia C, Saraceno B. Global suicide rates. *Eur J Public Health*. 2003;13:97-8.
2. Rihmer Z, Akiskal H. Do antidepressants threaten depressives? Toward a clinically judicious formulation of the antidepressant-suicidality FDA advisory in light of declining national suicide statistics from many countries. *J Affect Disord*. 2006; 94:3-13.
3. Tondo L, Lepri B, Baldessarini RJ. Suicidal risks among 2826 Sardinian major affective disorder patients. *Acta Psychiatr Scand*. 2007; 116:419-28.
4. Correa H, Campi-Azevedo AC, De Marco L, et al. Familial suicide behaviour: association with probands suicide attempt characteristics and 5-HTTLPR polymorphism. *Acta Psychiatr Scand*. 2004; 110:459-64.
5. Carroll-Ghosh T, Victor BS, Bourgeois JA. Suicide. In: Hales REYS, editor. *Textbook of Clinical Psychiatry*. American Psychiatric Publishing Inc; Washington: 2003.
6. Manchia M, Hajek T, O'Donovan C, et al. Genetic risk of suicidal behavior in bipolar spectrum disorder: analysis of 737 pedigrees. *Bipolar Disord*. 2013, in press.
7. Baldessarini RJ, Pompili M, Tondo L. Suicide in bipolar disorder: Risks and management. *CNS Spectr*. 2006; 11:465-71.
8. Pompili M, Gonda X, Serafini G, et al. Epidemiology of suicide in bipolar disorders: a systematic review of the literature. *Bipolar Disorders*. 2013.
9. de Kloet ER, Joels M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci*. 2005; 6:463-75.

10. Vale W, Spiess J, Rivier C, et al. Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and β -endorphin. *Science*. 1981; 213:1394-7.
11. Chrousos GP, Gold PW. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA*. 1992; 267:1244-52.
12. Valentino RJ, Foote SL, Page ME. The locus coeruleus as a site for integrating corticotropin-releasing factor and noradrenergic mediation of stress responses. *Ann N Y Acad Sci*. 1993; 697:173-88.
13. Stephanou A, Jessop DS, Knight RA, et al. Corticotrophin-releasing factor-like immunoreactivity and mRNA in human leukocytes. *Brain Behav Immun*. 1990; 4:67-73.
14. Ekman R, Serenius B, Castro MG, et al. Biosynthesis of corticotropin-releasing hormone in human T-lymphocytes. *J Neuroimmunol*. 1993; 44:7-13.
15. Karalis K, Sano H, Redwine J, et al. Autocrine or paracrine inflammatory actions of corticotropin-releasing hormone in vivo. *Science*. 1991; 254:421-3.
16. Marques AH, Cizza G, Sternberg E. Brain-immune interactions and implications in psychiatric disorders. *Rev Bras Psiquiatr*. 2007; 29 Suppl 1:S27-32.
17. Rifflet H, Pol S, Vuillemin E, et al. Murderous impulses in two patients with chronic hepatitis C treated with interferon- α . *Gastroenterol Clin Biol*. 1998; 22:105-6.
18. Nickel T, Sonntag A, Backmund M, et al. Depression during therapy with interferon alpha--how long should an antidepressant treatment last? *Pharmacopsychiatry*. 2005; 38:102-4.
19. Steiner J, Biela H, Brisch R, et al. Immunological aspects in the neurobiology of suicide: elevated microglial density in schizophrenia and depression is associated with suicide. *J Psychiatr Res*. 2008; 42:151-7.
20. Tonelli LH, Stiller J, Rujescu D, et al. Elevated cytokine expression in the orbitofrontal cortex of victims of suicide. *Acta Psychiatr Scand*. 2008; 117:198-206.
21. Lopez-Castejon G, Brough D. Understanding the mechanism of IL-1 β secretion. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2011; 22:189-95.
22. Dermitzaki E, Tsatsanis C, Gravanis A, et al. Corticotropin-releasing hormone induces Fas ligand production and apoptosis in PC12 cells via activation of p38 mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem*. 2002; 277:12280-7.

23. Park J, Choi HM, Yang HI, et al. Increased expression of IL-1 receptors in response to IL-1 β may produce more IL-6, IL-8, VEGF, and PGE₂ in senescent synovial cells induced in vitro than in presenescent cells. *Rheumatol Int.* 2005; 32:2005-10.
24. Oquendo MA, Waternaux C, Brodsky B, et al. Suicidal behavior in bipolar mood disorder: clinical characteristics of attempters and nonattempters. *J Affect Disord.* 2000; 59:107-17.
25. Arborelius L, Owens MJ, Plotsky PM, et al. The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders. *J Endocrinol.* 1999; 160:1-12.
26. Mitchell AJ. The role of corticotropin releasing factor in depressive illness: a critical review. *Neurosci Biobehav Rev.* 1998; 22:635-51.
27. Daban C, Vieta E, Mackin P, et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and bipolar disorder. *Psychiatr Clin North Am.* 2005; 28:469-80.
28. Berrettini WH, Nurnberger JI, Jr., Narrow W, et al. Cerebrospinal fluid studies of bipolar patients with and without a history of suicide attempts. *Ann N Y Acad Sci.* 1986; 487:197-201.
29. Banki CM, Bissette G, Arato M, et al. CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depression and schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 1987; 144:873-7.
30. Banki CM, Karmacs L, Bissette G, et al. CSF corticotropin-releasing hormone and somatostatin in major depression: response to antidepressant treatment and relapse. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1992; 2:107-13.
31. Roy A. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and suicidal behavior in depression. *Biol Psychiatry.* 1992; 32:812-6.
32. Roy A. Neuropeptides in relation to suicidal behavior in depression. *Neuropsychobiology.* 1993; 28:184-6.
33. Arato M, Banki CM, Bissette G, et al. Elevated CSF CRF in suicide victims. *Biol Psychiatry.* 1989; 25:355-9.
34. Westrin A, Ekman R, Traskman-Bendz L. Alterations of corticotropin releasing hormone (CRH) and neuropeptide Y (NPY) plasma levels in mood disorder patients with a recent suicide attempt. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1999;9:205-11.

35. Brunner J, Stalla GK, Stalla J, et al. Decreased corticotropin-releasing hormone (CRH) concentrations in the cerebrospinal fluid of eucortisolemic suicide attempters. *J Psychiatr Res.* 2001; 35:1-9.
36. Geraciotti TD, Jr., Orth DN, Ekhaton NN, et al. Serial cerebrospinal fluid corticotropin-releasing hormone concentrations in healthy and depressed humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992; 74:1325-30.
37. Geraciotti TD, Jr., Loosen PT, Orth DN. Low cerebrospinal fluid corticotropin-releasing hormone concentrations in eucortisolemic depression. *Biol Psychiatry.* 1997; 42:165-74.
38. Remlinger-Molenda A, Wojciak P, Michalak M, et al. Activity of selected cytokines in bipolar patients during manic and depressive episodes. *Psychiatr Pol.* 2012; 46:599-611.
39. Soderlund J, Olsson SK, Samuelsson M, et al. Elevation of cerebrospinal fluid interleukin-1 α in bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci.* 2011; 36:114-8.
40. Sáiz PA, García-Portilla P, Paredes B, et al. Association study of the interleukin-1 gene complex and tumor necrosis factor alpha gene with suicide attempts. *Psychiatr Genet.* 2008; 18:147-50.
41. Huang TL, Lee CT. T-helper 1/T-helper 2 cytokine imbalance and clinical phenotypes of acute-phase major depression. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2007; 61:415-20.
42. Lindqvist D, Janelidze S, Hagell P, et al. Interleukin-6 is elevated in the cerebrospinal fluid of suicide attempters and related to symptom severity. *Biol Psychiatry.* 2009; 66:287-92.
43. Isung J, Mobarrez F, Nordström P, et al. Low plasma vascular endothelial growth factor (VEGF) associated with completed suicide. *World J Biol Psychiatry.* 2012; 13:468-73.
44. Tonelli LH, Stiller J, Rujescu D, et al. Elevated cytokine expression in the orbitofrontal cortex of victims of suicide. *Acta Psychiatr Scand.* 2008; 117:198-206.
45. Vaughan J, Donaldson C, Bittencourt J, et al. Urocortin, a mammalian neuropeptide related to fish urotensin I and to corticotropin-releasing factor. *Nature.* 1995; 378:287-92.
46. Jones SA, Challis JR. Local stimulation of prostaglandin production by corticotropin-releasing hormone in human fetal membranes and placenta. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989; 159:192-9.

47. Paez Pereda M, Sauer J, Perez Castro C, et al. Corticotropin-releasing hormone differentially modulates the interleukin-1 system according to the level of monocyte activation by endotoxin. *Endocrinology*. 1995; 136:5504-10.

Table 1: Socio-demographic and clinical characteristics according to the diagnosis

Variables	Bipolar Disorder			P-value
	Control	Suicide risk	No suicide risk	
Age (years)	28.5±4.8	28.6±4.8	25±5.1	0.001
Gender				
Female	29(72.5%)	28(70%)	27(67.5%)	0.68
Male	11(27.5%)	12(30%)	13(32.5%)	
Socioeconomic class				
High	9 (22.5%)	16(40.0%)	15(37.5%)	0.05
Intermediate	14(35.0%)	16(40.0%)	10(25.0%)	
Low	17(42.5%)	8 (20.0%)	15(37.5%)	
Ethnicity				
Caucasian	35(87.5%)	29(72.5%)	31(77.5%)	0.10
Non-Caucasian	5 (12.5%)	11(27.5%)	9 (22.5%)	
School years	11.9±3.3	9.7±4.1	10.9±3.4	0.03
BMI	25.4±5.5	28.1±7.8	25.4±4.8	0.08
Current Episode				
Euthymic	40(100%)	5 (12.5%)	14(35.0%)	0.001
Mania/hipomania	--	4 (10.0%)	8 (20.0%)	
Depression	--	15(37.5%)	13(32.5%)	
Mixed episode	--	16(40.0%)	5 (12.5%)	

Psychiatry medication

Yes	1 (2.5%)	12(30.0%)	4 (10.0%)	0.007
No	39(97.5%)	28(70.0%)	36(90.0%)	
Total				
	40	40	40	

Displayed as number and % or mean \pm standard deviation of the mean. BMI, body mass index.

Table 2: Peripheral levels of CRH and IL-1 β (pg/mL) according to the clinical information and use of psychiatry medication.

Variables	Peripheral markers		
	CRH	IL-1 β	n (%)
Control	24.47 (16.35- 29.93)	4.11 (2.59- 6.33)	40 (100)
Bipolar disorder			
Euthymic	18.68 (7.68- 28.27)	2.08 (0- 6.32)	19 (23.7)
Mania/hipomania	17.93 (6.97- 26.06)	3.75 (1.35- 6.06)	12 (15)
Depression	19.79 (10.76- 26.25)	2.49 (0.11- 6.51)	28 (35)
Mixed episode	20.69 (8.33- 28.73)	4.44 (0.49- 6.92)	21 (26.2)
<i>p</i> -value	0.824	0.757	
Psychiatry medication			
No medication 102(85)	20.99 (13.98 – 29.48)	3.46 (0.85 – 6.33)	102 (85)
Antidepressants 3 (2.5)	25.82 (19.70 – 25.82)	7.27 (4.55 – 7.27)	3 (2.5)
Mood stabilizers 5 (4.2)	15.74 (12.84 – 28.40)	5.18 (0.63 – 7.21)	5 (4.2)
Combination 10 (8.3)	10.48 (4.31 – 21.13)	4.17 (2.14 – 6.66)	10 (8.3)
<i>p</i> -value	0.126	0.198	

Displayed as median and (25-75 percentile). *p*-values using Kruskal-Wallis test.

Figura 1

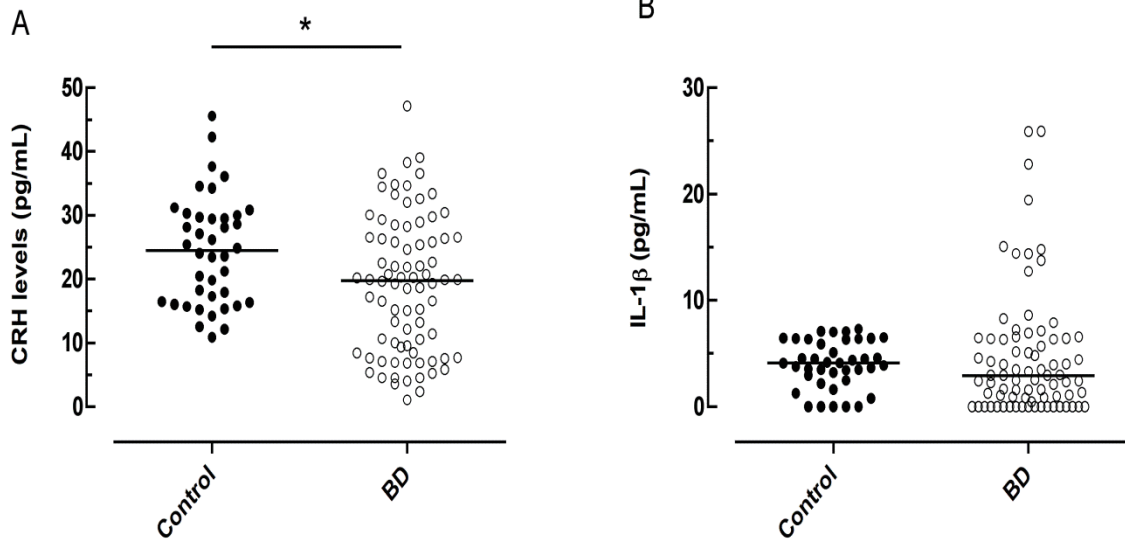
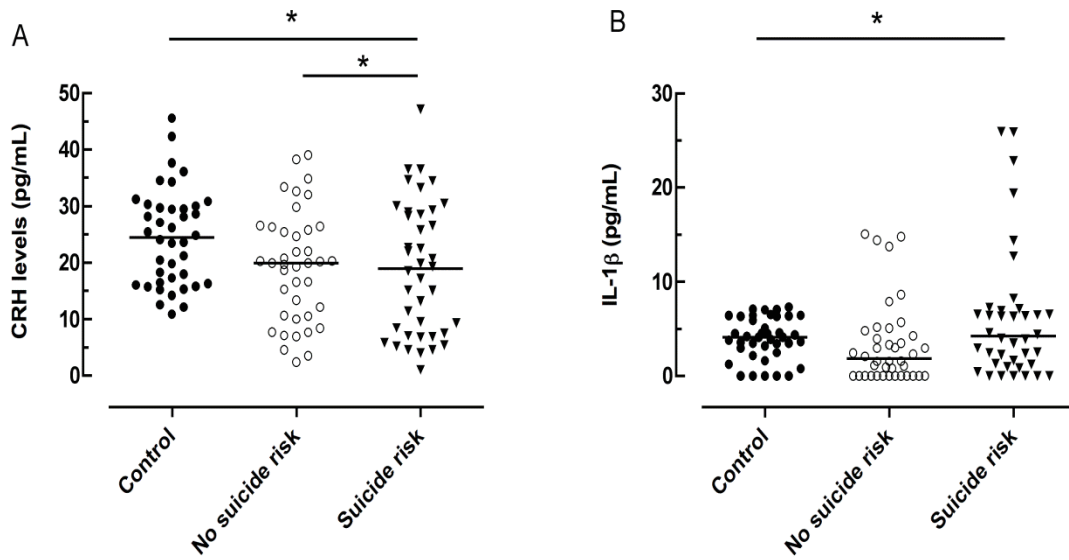


Figura 2



ANEXOS

MINI

CONSENTIMENTO