

**Luana Pereira Leite**

**A PSICONEUROIMUNOLOGIA NO ESTUDO DE PACIENTES  
FIBROMIÁLGICOS, CATEGORIZADOS DE ACORDO COM O  
GENÓTIPO DO 5-HTTLPR**

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte – MG

2011

**Luana Pereira Leite**

**A PSICONEUROIMUNOLOGIA NO ESTUDO DE PACIENTES  
FIBROMIÁLGICOS, CATEGORIZADOS DE ACORDO COM O  
GENÓTIPO DO 5-HTTLPR**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia Celular. Projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa UFMG (COEP no 100 / 01) e IPSEMG (201 / 06)

**Orientadora:** Dra. Débora d'Avila Reis,  
Departamento de Morfologia ICB-UFMG

**Co-orientadora:** Dra. Luciana de Souza  
Cotta Carvalho - UNIFENAS

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte – MG

2011

Este trabalho contou com a colaboração dos seguintes pesquisadores:

- Dr. Humberto Correia da Silva Filho , Departamento de Morfologia, ICB
- Dr. Fábio Ribeiro Baião, médico ortopedista, Hospital da Baleia
- Dr. Luiz Severiano Ribeiro, médico reumatologista, IPSEMG

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a **Deus**, pela vida e por nos dotar de sentidos, razão e intelecto o que permite a realização de um trabalho como este.

Aos **fibromiálgicos** e aos **controles** que consentiram em participar deste estudo.

À Dr<sup>a</sup> **Débora**, minha orientadora, por estar ao meu lado, contribuindo com suas idéias, correções, críticas e elogios, os quais contribuíram imensamente para meu aprendizado.

À Dr<sup>a</sup> **Luciana**, minha co-orientadora, por suas sugestões, por me proporcionar ajuda em diversas áreas do conhecimento e por disponibilizar seu tempo me auxiliando sempre que necessitei.

Aos professores do curso de Biologia Celular, por seus ensinamentos e grande contribuição teórica.

Aos colegas da pesquisa, **Andrei, Patrícia, Rodolfo, Ciro, André e Camila**. Muito obrigada por suas contribuições, por estarem ao meu lado passando pelas mesmas dificuldades e êxitos e por se fazerem amigos de verdade.

Às amigas **Cristiane** e **Onésia**, pela contribuição na estatística e pela simples amizade. À Thalita, pela amizade e apoio.

Aos colegas da Biologia Celular, em especial os alunos do Laboratório do Tecido Linfóide e Regeneração e do Laboratório de Neurobiologia. Ao **Geraldo** por ter me encaminhado até a professora Débora.

Às professoras Dr<sup>a</sup> **Cláudia** e Dr<sup>a</sup> **Valéria**, pela disposição em ajudar e tirar dúvidas.

As secretárias do curso de Biologia Celular, **Sibele** e **Diana**, muito obrigada pelo apoio durante o curso.

Aos meus familiares pela confiança sempre. À minha mãe **Inês**, por sempre permitir a realização de meus sonhos mesmo em momentos difíceis e por ser a pessoa a qual me espelho. Aos meus irmãos, **Gabriela, Raoni** e **Milena** pelo amor incondicional, por nos disponibilizarmos a estar um ao lado do outro em qualquer situação e por torcerem e me apoiarem. Ao meu noivo **Marco Antônio** por acreditar em meu sucesso, assim como pela compreensão nos diversos momentos. À tia **Gilma**, tio **Gilmar**, **Mãe Ita** e **Pai João**, por seu apoio e ajuda em todos os momentos de minha vida. E também à **tia Consu**, pelo amor sempre.

E a todos que por acaso não tenham sido mencionados, mas que contribuíram para o sucesso deste trabalho.

“A mim mesmo pareço ser um menino que brinca à beira da praia, ora achando uma pedra mais polida ou uma concha mais formosa, enquanto o grande oceano da verdade se estende, ignoto, diante de mim.”

ISAAC NEWTON

## RESUMO

A fibromialgia (FM) é uma entidade clínica muito heterogênea. Os pacientes se diferenciam nos sintomas clínicos e nos parâmetros endócrinos e imunológicos. No presente estudo, nos propusemos avaliar alterações endócrinas e imunológicas em grupos de pacientes com fibromialgia subdivididos segundo o genótipo do polimorfismo da região promotora do gene do transportador de serotonina denominado 5HTTLPR. Participaram deste estudo dezoito pacientes selecionados de acordo com os critérios diagnósticos do Colégio Americano de Reumatologia e dezessete indivíduos saudáveis da mesma faixa etária. Os pacientes fibromiálgicos foram alocados no grupo L quando expressavam apenas o alelo longo e no grupo S quando contiam pelo menos um alelo curto. Estes dezoito pacientes e os indivíduos do grupo controle foram submetidos à avaliação do nível salivar de cortisol, porcentagem de subpopulações de leucócitos, incluindo monócitos, neutrófilos e linfócitos B e T além de avaliação neuropsicológica. Os pacientes do grupo L apresentaram redução dos níveis de cortisol, aumento na porcentagem de monócitos “macrófagos like” CD16<sup>+</sup> e maior expressão de CD86<sup>+</sup> monócitos CD14<sup>+</sup>. Com relação a análise de linfócitos, foi observada maior expressão de CD80 e CD86 em linfócitos B CD19<sup>+</sup>, aumento na porcentagem de linfócitos B CD19<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup> e maior expressão de CD28 em linfócitos T CD4<sup>+</sup>. Ambos os grupos apresentaram aumento na porcentagem de neutrófilos CD23<sup>+</sup> assim como elevados escores de neuroticismo e impulsividade. Foi encontrado ainda, uma forte correlação negativa entre IMF de linfócitos B CD19<sup>+</sup>CD80<sup>+</sup> e Abertura à Experiência (OT) do questionário NEO-PI-R e uma forte correlação positiva entre neuroticismo e monócitos CD14<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup>. Deste modo, nós pudemos observar que a estratégia de subdivisão segundo o genótipo do 5HTTLPR pode ser uma importante ferramenta de categorização dos pacientes, diferenciando-os em dois grupos com alterações endócrinas e imunológicas distintas, conferindo um caráter mais inflamatório aos pacientes do grupo L além de demonstramos associações entre fatores psicológicos e o sistema imunológico.

## ABSTRACT

The fibromyalgia (FM) is a very heterogeneous entity. Patients differ in their clinical symptoms, endocrine and immune parameters. In this study we propose to evaluate endocrine and immune feature in groups of fibromyalgics patients subdivided according to the genotype of the polymorphic promoter region of the serotonin transporter, named 5-HTTLPR. The study included eighteen patients selected according to the diagnostic criteria of the American College of Rheumatology and seventeen healthy subjects of similar age. The fibromyalgia patients were allocated to L group when expressed only the long allele and S when the group contains at least one short allele. These eighteen patients and control subjects underwent assessment of the level of salivary cortisol, the percentage of leukocyte subpopulations, including monocytes, neutrophils and B and T lymphocytes and neuropsychological assessment. Patients in L group presented reduced levels of cortisol, increased of the percentage of monocytes "macrophage like" CD16 and higher expression of CD86<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup> monocytes. About to analysis of lymphocytes, was observed higher expression of CD80 and CD86 on CD19<sup>+</sup> B lymphocytes, increased in the percentage of B lymphocytes CD19<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup> and higher expression of CD28 on CD4<sup>+</sup> T lymphocytes. Both groups presented increase in the percentage of CD23<sup>+</sup> neutrophils as well as higher scores for neuroticism and impulsiveness. It was found also a strong negative correlation between IMF of CD19<sup>+</sup>CD80<sup>+</sup> B lymphocytes and Openness (OT) of the questionnaire NEO-PI-R and a strong positive correlation between neuroticism and CD14<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup> monocytes. Thus, we demonstrated that strategy of the subdivision 5HTTLPR genotype may be an important tool for classification of patients, differentiating them in two groups with distinct immunological and endocrine disorders, giving a character more inflammatory to the patients in L group and demonstrated associations between psychological factors and immune system.

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

- 5HT – 5 - hidroxitriptamina – serotonina
- 5HTT – transportador de serotonina
- 5HTTLPR – *Serotonin Transporter Linked Polymorphic Region*
- ACTH – *Adrenocorticotropic Hormone*
- AVP – *arginine ou vasopressin*
- BIS 11 – *Barratt Impulsiveness Scale – version 11*
- BSA – *Bovine Serum Albumine*
- CD – *Cluster Differentiation*
- CRH - *Corticotropin Releasing Hormone*
- CRF - *Corticotropin Releasing Factor*
- CRP – *C-reactive protein*
- CTLA-4 - *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*
- DEX – dexametasona
- DSM – IV – *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Health – version IV*
- EDTA - *ethylenediaminetetraacetic acid*
- FAN – fator anti-nuclear
- FITC – *fluorescein isothiocyanate*
- FL-1 – fluorescência 1
- FL-2 – fluorescência 2
- FM - fibromialgia
- FSC - *Foward Scatter*
- GH – *Growth Hormone*
- GM-CSF - *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*
- HLA-DR – *Human Leucocyte Antigen - DR*
- HPA – Hipotálamo – Pituitária - Adrenal
- IFN – Interferon
- IgG – Imunoglobulina G
- IL-1 – Interleucina 1
- IL-2 – Interleucina 2
- IL-4 – Interleucina 4
- IL-6 – Interleucina 6
- IL-8 – Interleucina 8

IL-10 – Interleucina 10

LPS – *Lipopolysaccharide*

MCP-1 – *Monocyte chemotactic protein-1*

NEO - *NEO Personality Inventory – Revised*

NGF – *Neuron Growth Factor*

NK – *Natural Killer*

PBS - *Phosphate-buffered saline*

PCR - *Polymerase Chain Reaction*

PE – *Phycoerythrin*

PVN - Núcleo paraventricular

RT-PCR – *Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction*

SNC – Sistema Nervoso Central

SSC – *Side Scatter*

TNF $\alpha$  – *Tumor Necrose Factor*

VEGF – Vascular endothelial growth factor

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - "Tender Points" .....	01
Figura 2 - Mapa do promotor do gene do transportador 5-HT humano (5-HTTP)....	12
Figura 3 - Seqüência de procedimentos para avaliação do percentual de neutrófilos CD23 <sup>+</sup> no sangue periférico.....	23
Figura 4 - Seqüência de procedimentos para quantificar o percentual de monócitos CD16 <sup>+</sup> no sangue periférico.....	23
Figura 5 - Seqüência de procedimentos para quantificar a IMF de HLA-DR em monócitos no sangue periférico.....	24
Figura 6 - Seqüência de procedimentos para análise da porcentagem e IMF CD80 e CD86 em monócitos do sangue periférico.....	25
Figura 7 - Seqüência de procedimentos para análise da porcentagem e IMF CD80 e CD86 em linfócitos B do sangue periférico.....	26
Figura 8 - Sequência de procedimentos para análise da IMF CD28 em linfócitos T do sangue periférico.....	27
Figura 9 - Percentual de monócitos CD16 <sup>+</sup> no sangue periférico de indivíduos do grupo controle e pacientes fibromiálgicos dos grupos L e S.....	30
Figura 10 - Análise da média de intensidade de fluorescência da molécula HLA-DR na superfície de monócitos (CD4 <sup>low</sup> ) no sangue periférico de indivíduos do grupo controle e pacientes fibromiálgicos dos grupos L e S.....	30
Figura 11 - Porcentagem de células expressando CD80 ou CD86 na população de monócitos CD14 <sup>+</sup> no sangue periférico de indivíduos do grupo controle e pacientes fibromiálgicos dos grupos L e S.....	31
Figura 12 - Intensidade média de fluorescência de CD80 e CD86 em monócitos CD14 <sup>+</sup> do sangue periférico de indivíduos do grupo controle e fibromiálgicos do grupo L e S.....	32

Figura 13 - Porcentagem de células expressando CD80 ou CD86 na população de linfócitos CD19 <sup>+</sup> do sangue periférico de indivíduos do grupo controle e fibromiálgicos do grupo L e S.....	33
Figura 14 - Intensidade média de fluorescência de CD80 e CD68 em linfócitos CD19 <sup>+</sup> do sangue periférico de indivíduos do grupo controle e fibromiálgicos do grupo L e S.....	34
Figura 15 - Análise da média de intensidade de fluorescência da molécula co-estimulatória CD28 na superfície de linfócitos T (CD4 <sup>+</sup> ) do sangue periférico dos indivíduos do grupo controle e em fibromiálgicos do grupo L e grupo S.....	35
Figura 16 - Percentual de neutrófilos CD23 <sup>+</sup> no sangue periférico de indivíduos do grupo controle e pacientes fibromiálgicos dos grupos L e S.....	35
Figura 17 - Concentrações de cortisol salivar em indivíduos do grupo controle e em pacientes dos grupo L e S.....	36
Figura 18 - Correlação entre o escore de abertura à experiência e IMF de linfócitos B CD19 <sup>+</sup> CD80 <sup>+</sup> e entre o escore de neuroticismo e IMF de monócitos CD14 <sup>+</sup> CD86 <sup>+</sup> ..	40

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Critérios do Colégio Norte Americano de Reumatologia para diagnóstico de fibromialgia .....	03
Tabela 2 - Anticorpos monoclonais marcados com flurocromos utilizados para análise de populações e subpopulações celulares.....	22
Tabela 3 - Tabela explicativa das moléculas e células estudadas.....	28
Tabela 4 - Variáveis clínicas em indivíduos do grupo controle e pacientes fibromiálgicos .....	29
Tabela 5 - Avaliação da impulsividade realizada pelo questionário BIS em indivíduos do grupo controle e fibromiálgicos.....	37
Tabela 6 - Avaliação da personalidade através do Inventário de personalidade NEO revisado em indivíduos do grupo controle e pacientes fibromiálgicos.....	38
Tabela 7 - Resumo dos resultados: fibromiálgicos do grupo L e grupo S.....	39

## SUMÁRIO

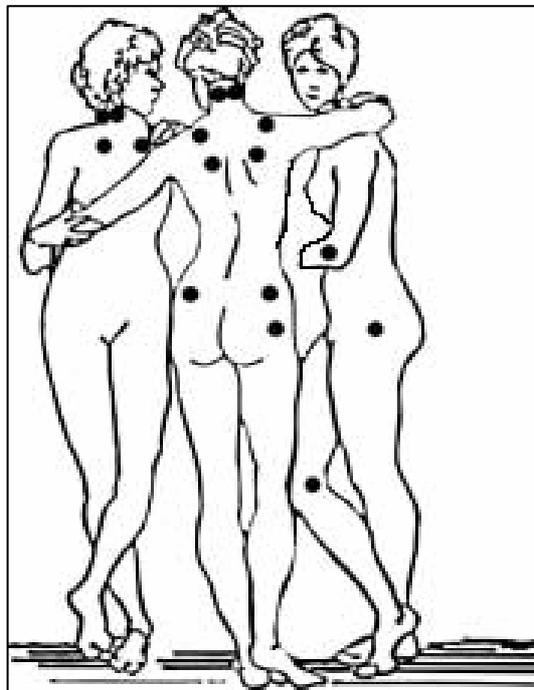
1	INTRODUÇÃO.....	01
1.1	Fibromialgia.....	01
1.2	Psiconeuroimunologia .....	04
1.3	Fibromialgia e psiconeuroimunologia:.....	07
1.4	Fibromialgia e o gene do transportador de serotonina .....	11
2	JUSTIFICATIVA.....	15
3	OBJETIVOS .....	17
3.1	Objetivo geral: .....	17
3.2	Objetivos específicos:.....	17
4	METODOLOGIA.....	18
4.1	Pacientes e Controles:.....	18
4.2	Avaliação psicológica e neuropsicológica dos pacientes .....	18
4.2.1	Inventário de Personalidade NEO – Revisada (NEO PI-R).....	19
4.2.2	Escala de Impulsividade de Barratt versão 11 – BIS 11.....	19
4.3	Análise do polimorfismo da região promotora do gene do transportador da serotonina – 5HTTLPR.....	19
4.4	Dosagem de Cortisol: .....	20
4.5	Imunofenotipagem de leucócitos do sangue periférico por citometria de fluxo:.....	21
4.5.1	Procedimento experimental: .....	21
4.5.2	Estratégia de análise dos resultados: .....	22
4.6	Análise estatística.....	28
5	RESULTADOS. ....	29
5.1	Aspectos fenotípicos de leucócitos circulantes: .....	29
5.2	Análise de monócitos inflamatórios:.....	29
5.2.1	Freqüência de “macrófagos-like” (monócitos CD16 <sup>+</sup> ):.....	29
5.2.2	Análise da IMF de monócitos HLA-DR <sup>+</sup> .....	30
5.3	Análise da expressão de moléculas coestimulatórias em monócitos, linfócitos B e T circulantes:.....	30

5.4	Análise de neutrófilos CD23 <sup>+</sup> : .....	35
5.5	Níveis de cortisol salivar: .....	35
5.6	Avaliação psicológica e neuropsicológica das fibromiálgicas: .....	36
5.7	Correlações .....	39
6	DISCUSSÃO .....	41
7	CONCLUSÃO .....	53
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	54
9	ANEXO 1 .....	67
10	ANEXO 2 .....	69
11	ANEXO 3 .....	70
12	ANEXO 4 .....	71
13	ANEXO 5 .....	78

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Fibromialgia

A fibromialgia (FM) é uma síndrome clínica caracterizada pela presença de dor crônica generalizada especialmente sobre a região cervical, trapézios, região lombar, terço proximal dos membros superiores e inferiores e com certa frequência também nas mãos, joelhos e tornozelo (**FIG. 1**). É freqüentemente associada a outros sintomas, como fadiga, cefaléia, rigidez matinal, distúrbios do sono, queixas autonômicas, como síndrome de bexiga e intestino irritável, ansiedade, depressão e alterações cognitivas (WOLFE *et al.*, 1990).



**FIGURA 1.** “*Tender points*” - Representa de forma esquemática os 18 pontos sensíveis estabelecidos para diagnóstico em fibromialgia segundo o Colégio Norte Americano de Reumatologia.

Fonte: Wolfe *et al.*, 1990.

A fibromialgia tem como uma de suas principais características a heterogeneidade clínica entre os sintomas apresentados pelos pacientes. Devido a esta heterogeneidade sempre existiu uma grande dificuldade em se diagnosticar os pacientes como fibromiálgicos (WOLFE *et al.*, 1990). A dificuldade de diagnóstico é descrita desde os primeiros relatos na literatura que datam de 1824 e 1841. Pesquisadores daquela época puderam descrever a presença de sintomas como: pontos musculares hipersensíveis a palpação e passíveis de desencadear dor

irradiada (BALFOUR, 1824 & VALLEIX, 1841). No do início do século XX, Stokman (1904) detectou nesses pacientes áreas musculares específicas e sensíveis a dígito-pressão, realizou biópsias dessas regiões e encontrou um processo inflamatório do tecido conectivo. A partir daí, a fibromialgia começou a ser considerada como uma patologia reumática não-articular, ou reumatismo muscular. Esta condição foi inicialmente denominada fibrosite, devido à presença da inflamação aguda ou crônica das estruturas fibrosas da fáscia corporal, aponeuroses, camadas intermuscular, ligamentos, tendões, bainhas e tecidos subcutâneos.

A designação fibrosite, no entanto, era usada para uma ampla variedade de condições clínicas que envolvessem as partes moles (dor ciática, lombalgias, neurite braquial) o que resultava em diagnósticos abrangentes, porém imprecisos (STOKMAN, 1904). Um maior interesse no estudo da patologia surgiu pelo alto índice de acometimento entre os trabalhadores, resultando em perda econômica principalmente para indústrias (EDGECOMBE, 1925). Como a fibrosite englobava uma variedade de patologias, Smythe & Moldosfsky (1977), restringiram o uso da palavra fibrosite à sintomatologia de pacientes que apresentavam dores musculoesqueléticas difusas acompanhadas de pontos dolorosos a dígito-pressão, fadiga e distúrbios do sono. Dentro desta nova classificação, os pacientes não apresentavam presença de inflamação tecidual e foi neste sentido que Yunus (1981) propôs a substituição do termo fibrosite para fibromialgia, relevando a importância do processo algico e não do inflamatório.

Em 1990, o Colégio Americano de Reumatologia, tentando estabelecer uma padronização da técnica de diagnóstico, criou os critérios adotados atualmente (WOLFE *et al.*, 1990). Esses critérios para o diagnóstico da síndrome consistem na combinação de pelo menos três meses de dor ampla pelo corpo (definida como bilateral, acima e abaixo da linha da cintura pélvica, envolvendo também o esqueleto axial) e pela presença de pelo menos 11 dos 18 pontos dolorosos estabelecidos durante a palpação digital realizada com uma pressão aproximada de 4 kg/cm<sup>2</sup> (**TAB.1**), os 18 pontos sensíveis devem ser testados bilateralmente (WOLFE *et al.*, 1990). Esses critérios apresentam sensibilidade de 90% e especificidade de 78% no diagnóstico da fibromialgia (GRACELY *et al.*, 2003).

## TABELA 1

Critérios do Colégio Norte Americano de Reumatologia para o diagnóstico de fibromialgia.

---

1 -	História de dor ampla
	<i>Definição.</i> A dor é considerada ampla quando todos os seguintes estão presentes: dor à esquerda e a direita do corpo, acima e abaixo da cintura e pelo menos um componente do esqueleto axial.

---

2 -	Dor em 11 dos 18 pontos durante a palpação digital com força de 4 Kg:
	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Occipital: na inserção do músculo suboccipital</li> <li>✓ Cervical baixo: entre C5 e C7</li> <li>✓ Trapézio: no ponto medial da borda superior</li> <li>✓ Supra-espinhoso: acima da espinha escapular, próximo a borda medial</li> <li>✓ Segunda junção costochondral</li> <li>✓ Epicôndilo lateral</li> <li>✓ Glúteo</li> <li>✓ Trocânter maior</li> <li>✓ Região medial do joelho (abaixo da linha articular)</li> </ul>

---

Segundo Wolfe *et al.*, 1990, a prevalência média da FM é 2% para a população geral, sendo 3,4% mulheres e 0,5% homens. Esses valores possuem pequenas alterações de acordo com o país estudado. A prevalência da população feminina dos Estados Unidos da América é de 5% (LAWRENCE *et al.*, 2008) e na Europa é de 4,7% (BRANCO *et al.*, 2009). Valores mais elevados são encontrados entre as norueguesas (10,5%) (FORSETH *et al.*, 1992) e alemãs (11,5%) (SCHOCHAT *et al.*, 2003). No Brasil, a prevalência dessa doença é de 2,5% da população adulta, o que a coloca entre as doenças reumáticas como a segunda mais prevalente, ficando atrás somente da artrite reumatóide (SENNA *et al.*, 2004). Em sua maioria a FM atinge mulheres (7:1) de meia idade e melhor nível educacional e financeiro (WOLFE *et al.*, 1990), mas tem sido também encontrada em jovens com idade abaixo de 35 anos (GUR *et al.*, 2004).

A etiopatologia da fibromialgia ainda não está completamente elucidada, contudo, alguns fatores parecem estar envolvidos. Pesquisas têm apontado o envolvimento de fatores genéticos, endócrinos, imunológicos, neurológicos e comportamentais na fisiopatologia desta síndrome (BONDY *et al.*, 1999; CARVALHO *et al.*, 2008; GUR *et al.*, 2004; WALLACE *et al.*, 2001; YUNUS *et al.*, 1999; MAZZA *et al.*, 2009). Alguns estudos já atestaram alterações no sistema imune, desregulação

do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e do sistema nervoso simpático (MACEDO *et al.*, 2007; TORPY *et al.*, 2000; CARVALHO *et al.*, 2009; GUR *et al.*, 2004; ÁLVAREZ *et al.*, 2009; ORTEGA *et al.*, 2009). Também já foram demonstradas alterações nos níveis plasmáticos de citocinas, número de leucócitos, concentração plasmática de auto-anticorpos e moléculas de adesão nos fibromiálgicos (CARVALHO *et al.*, 2008; WALLACE *et al.*, 2001; KASHIPAZ *et al.*, 2003). Os resultados dessas pesquisas, no entanto, muitas vezes são contraditórios.

Apesar das discordâncias existentes na literatura acerca do desenvolvimento da fibromialgia, parece não haver dúvidas de que ela está associada a distúrbios no sistema de resposta ao estresse, os quais, por sua vez, culminam em alterações mensuráveis laboratorialmente, tanto endócrinas como imunológicas. Diante desse pressuposto, a fibromialgia tem sido estudada, principalmente, através de abordagens que contemplam discussões no campo da psiconeuroimunologia.

## **1.2 Psiconeuroimunologia**

A psiconeuroimunologia é uma ciência relativamente nova, dado que as pesquisas nesta área iniciaram-se em 1940 e apenas na década de 90 houve um aumento significativo de publicações (KIECOLT-GLASER, *et al.*, 2002). É definida como o estudo da comunicação entre o sistema nervoso, imunológico e endócrino, o qual analisa mecanismos sistêmicos e psicopatológicos a partir de uma abordagem integrada dos efeitos combinados destes três sistemas. (SWITANKOWSKY, 2000).

As primeiras observações da possibilidade de comunicação entre os sistemas supracitados advêm da curiosidade de se estabelecer respostas para algumas questões. Uma delas seria como explicar a influência de processos mentais sobre as reações corporais, sendo que existem demonstrações de que vários estados psicológicos, estresse crônico e comportamento induzem alterações no sistema imunológico (revisado por BLUME, DOUGLAS and EVANS, 2011). Da mesma maneira, através desta comunicação bidirecional entre o sistema nervoso e imune outra questão emergente é a de como o sistema imunológico pode ser capaz de induzir alterações profundas no afeto e comportamento. (DANTZER, 2006; KERN and ZIEMSEN, 2008). Com isto, várias pesquisas tem sido realizadas objetivando-se buscar comprovações científicas para observações feitas na clínica, nas quais evidenciam-se conexões diretas entre o sistema nervoso, endócrino e imunológico (O'CONNELL *et al.*, 2006; RAINER *et al.*, 1999; TARCIC *et al.*, 1998; MARCHAND *et*

*al.*, 2005; DE JONGH *et al.*, 2003, STERNBERG *et al.*, 2006; MAES *et al.*, 1999, KIM *et al.*, 2002).

O circuito neuro-imuno-endócrino melhor caracterizado é o eixo responsável pela comunicação entre o hipotálamo, a pituitária e a adrenal (eixo HPA). Ele é de extrema importância quando um organismo é exposto a um agente estressor, seja psicológico, químico ou físico. Quando isto ocorre, vários mecanismos são ativados para restabelecer a homeostase. O estresse, entretanto, resulta da hiper-ativação das células do núcleo paraventricular (PVN) do hipotálamo. Quando esta região cerebral é estimulada, ela libera o hormônio liberador de corticotropina (CRH) e a arginina vasopressina (AVP). Ambos alcançam a glândula pituitária anterior através do sistema porta-hipofisário, estimulando a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na circulação sistêmica. Ao nível da glândula adrenal, o ACTH estimula as células produtoras de glicocorticóides a liberarem o cortisol (humanos) e corticosterona (roedores) no sangue (PALKOVITS, 1987). Esses hormônios, os corticosteróides, exercem numerosas ações nos órgãos periféricos assim como no sistema nervoso central (SNC).

Nos órgãos periféricos, os corticosteróides estão envolvidos com a mobilização de energia (gliconeogênese), crescimento ósseo e muscular, crescimento das células epiteliais, produção de células eritróides, além de efeito modulador sobre o sistema imunológico (McEWEN and STELLAR, 1993; TRONCHE *et al.*, 1998). Por outro lado, citocinas produzidas por células imunes ativadas, como IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  e IL-6 se ligam a neurônios do núcleo paraventricular do hipotálamo, ativando o eixo HPA e culminando com a liberação de cortisol pela adrenal (BESEDOVSKY and DEL REY, 2000; DEL REY and BESEDOVSKY, 2000; MARCHAND *et al.*, 2005; DE JONGH *et al.*, 2003, STERNBERG *et al.*, 2006).

Outro circuito importante na comunicação entre o sistema imune e neuroendócrino é o sistema serotoninérgico. Uma evidência disso pode ser extraída de observações de pacientes que possuem distúrbios neuropsiquiátricos como depressão maior, esquizofrenia e transtorno bipolar e que também possuem respostas inflamatórias exacerbadas. Entretanto, ainda não se sabe dentro destas situações, o que é causa e o que é efeito, ou seja, se o aumento da resposta inflamatória leva a distúrbios neurológicos ou se distúrbios neurológicos levam a alterações imunológicas. O que se sabe até o momento é que essa interação é

verdadeira e ocorre constantemente em nosso organismo (MAES *et al*, 1999, KIM *et al*, 2002).

O'Connell *et al.* (2006) estudaram a função da serotonina (5-HT) na comunicação entre as células T e células dendríticas na sinapse imunológica. As células dendríticas captam a serotonina do microambiente ou das células T através do transportador da serotonina (5-HTT) na sua membrana celular e a sua recaptação é inibida com o uso de fluoxetina. As células dendríticas, por sua vez, armazenam a serotonina em vesículas, que quando excitadas produzem efeito modulatório sobre a ativação das células T. Percebeu-se desta maneira que algumas substâncias que fazem parte do funcionamento do sistema nervoso podem também ser utilizadas para a regulação do funcionamento do sistema imunológico.

Efeito não menos interessante é observado com a utilização de antidepressivos. Eles causam diminuição da liberação de citocinas pró-inflamatórias por parte de monócitos e macrófagos ativados, além de aumentar a produção de citocinas antiinflamatórias (MAES *et al*, 1999, KIM *et al*, 2002). A fluoxetina, por exemplo, um inibidor seletivo de recaptação de serotonina, foi estudado no modelo da inflamação induzida por carragenina, produzindo uma diminuição significativa do edema em pata de ratos (ABDEL-SALAM *et al.*, 2004). Em outro estudo, a administração de fluoxetina reduziu o edema em patas de ratos e tal efeito foi bloqueado por adrenalectomia e hipofisectomia, sugerindo, mais uma vez, haver uma conexão entre o eixo HPA e o sistema serotoninérgico e demonstrando uma interação entre os sistemas neuroendócrino e imunológico (BIANCHI *et al*, 1994).

A conexão entre o eixo HPA e o sistema serotoninérgico pode ser evidenciada também nos trabalhos que demonstram, em neurônios serotoninérgicos, tanto o mRNA quanto a proteína do receptor de glicocorticóide. Esses trabalhos sugerem, para os glicocorticóides circulantes, um papel regulador da expressão gênica nos neurônios 5-HT dos núcleos dorsais da rafe (HARFSTRAND *et al.*, 1986; FUXE *et al.*, 1987; MORIMOTO *et al.*, 1996).

Várias patologias estão sendo recentemente abordadas no campo da psiconeuroimunologia. Como exemplo tem-se transtorno do estresse pós-traumático (PACE and HEIM, 2011), autismo (PATTERSON, 2008) e modelo experimental da doença de Parkinson (ENGLER *et al.*, 2009). A abordagem destas doenças na interface neuro-imuno-endócrina teve início através da verificação de alterações no sistema imunológico destes pacientes. No entanto, o significado das associações

que ocorrem entre os sistemas nestas patologias ainda não está claro, mas eles sugerem que a condição do sistema imunológico seja altamente relevante para esses transtornos mentais. Por outro lado, algumas doenças inflamatórias crônicas parecem ter como uma das causas distúrbios neuroendócrinos. Como exemplo dessas tem-se a esclerose múltipla (MOHR *et al.*, 2004), artrite reumatóide (STRAUB *et al.*, 2002; ZAUTRA *et al.*, 2004), artrite experimental (DEL REY *et al.*, 2008) e a fibromialgia (CARVALHO *et al.*, 2008).

### **1.3 Fibromialgia e psiconeuroimunologia:**

Vários estudos têm demonstrado que a fibromialgia está associada a alterações neuroendócrinas, imunológicas, além de diversos distúrbios comportamentais (BONDY *et al.*, 1999; CARVALHO *et al.*, 2008; GUR *et al.*, 2004; WALLACE *et al.*, 2001; YUNUS *et al.*, 1999; MAZZA *et al.*, 2009). São evidenciadas altas taxas de depressão, ansiedade e angústia nos portadores de fibromialgia (CARVALHO *et al.*, 2008; LANDIS *et al.*, 2004; OFFENBAECHER *et al.*, 1998; WOLFE E HAWLEY, 1998). Além destes, também podem ser observados distúrbios de personalidade e transtorno bipolar nas pacientes (MAZZA *et al.*, 2009; WILKE, GOTA E MUZINA, 2010).

Dados emergentes sugerem que os pacientes apresentam aumento de ativação das vias de processamento de dor central. Esta hipótese é baseada principalmente em análises de neuroimagem demonstrando que pacientes fibromiálgicos apresentam ativação neuronal aumentada tanto a estímulos inócuos quanto a estímulos dolorosos (GRACELEY, 2003; COOK, 2004). Alterações nos níveis de neurotransmissores como endorfinas (VAEROY, *et al.*, 1991), substância P, serotonina, noradrenalina, glutamato, dopamina (HOUVENAGEL *et al.*, 1990; PERES, 2004; RUSSELL *et al.*, 1992) e de NGF (GIOVENGO *et al.*, 1999) têm sido demonstradas em pacientes com fibromialgia, sugerindo um comprometimento dos sistema nervoso central e periférico.

No que se refere às alterações endócrinas são evidenciadas alterações relacionadas principalmente ao eixo HPA (ALVAREZ *et al.*, 2009; CARVALHO *et al.*, 2008; CHROUSOS and GOLD, 1992; GUR *et al.*, 2004; MACEDO *et al.*, 2008; TORPY *et al.*, 2000; WINGENFELD *et al.*, 2008) e pesquisas vêm atribuindo a agentes estressores físicos e psicológicos a responsabilidade pelo início das

manifestações clínicas presentes nesta síndrome (DESSEIN *et al.*, 1997; CLAUW and CHROUSOS, 1997).

Vários testes tem sido utilizados para se avaliar a alça de feedback do eixo HPA em pacientes com diagnóstico de fibromialgia (ALVAREZ *et al.*, 2009; CARVALHO *et al.*, 2008; GUR *et al.*, 2004; MACEDO *et al.*, 2008; TORPY *et al.*, 2000; WINGENFELD *et al.* 2008), como medidas dos níveis basais de CRH, ACTH ou cortisol ou ainda análise da resposta do eixo após diferentes estímulos. Estudos na literatura demonstram que pacientes fibromiálgicas apresentam uma hipotividade do eixo HPA, quando este é desafiado através de injeção de ACTH, indução de hipoglicemia ou submissão do paciente a tarefas psicossociais estressantes (KIRNAP *et al.*, 2001). Em outro estudo, os autores se propuseram a avaliar a resposta do eixo HPA após administração de IL-6 em pacientes com fibromialgia e observaram que os fibromiálgicos tiveram um atraso no pico de resposta de ACTH em relação ao grupo controle (TORPY *et al.*, 2000).

A tentativa de se analisar a atividade do eixo HPA através da medida do cortisol salivar ou plasmático, tem levado a resultados bastante contraditórios (KIRNAP *et al.*, 2001; TORPY *et al.*, 2000; WINGENFELD *et al.*, 2008). Alguns estudos evidenciaram, em pacientes fibromiálgicos, um quadro de hipocortisolemia (CARVALHO *et al.*, 2008; GUR *et al.*, 2004; MACEDO *et al.*, 2008), enquanto outros sugerem não haver diferenças significativas entre portadores dessa síndrome e controles saudáveis (KLERMAN *et al.*, 2001). Há ainda estudos que demonstram até mesmo elevação, tanto nos níveis de cortisol quanto de ACTH em pacientes fibromiálgicos quando comparados a grupos controles (McLEAN *et al.*, 2005; RIEDEL, LAYKA and NEECK 1998).

Com relação às análises de parâmetros imunológicos em pacientes fibromiálgicos, o que se observa na literatura é também a presença de uma discrepância muito grande nos achados (KAUFMANN *et al.*, 2008; MACEDO *et al.*, 2007; ORTEGA *et al.*, 2009; PAMUK *et al.*, 2007; NISHIKAI, *et al.* 2000; HERNANZ *et al.*, 1994; RUSSEL *et al.* 1999). Estudos do fenótipo de populações e subpopulações de leucócitos sanguíneos em pacientes com fibromialgia através de citometria de fluxo relatam uma diminuição de linfócitos B em pacientes portadores desta síndrome (WALLACE, *et al.*, 1989; WALLACE, *et al.*, 1988), no entanto, a maioria dos estudos não encontrou alteração significativa na porcentagem de linfócitos T ou B totais em pacientes fibromiálgicos (HADER, *et al.*, 1991; HERNANZ,

*et al.*, 1994; KAUFMANN, *et al.*, 2008; LANDIS, *et al.*, 2004; SAMBORSKI, *et al.*, 1996) a não ser no trabalho de Carvalho, *et al.* (2008) com aumento de linfócitos B totais. Existe também muita controvérsia no que diz respeito às análises das duas grandes populações de linfócitos T circulantes. Wallace *et al.* (1989 e 1988) relataram aumento significativo de linfócitos CD8<sup>+</sup> e redução de células CD4<sup>+</sup>, com conseqüente diminuição da razão CD4/CD8 (WALLACE, *et al.*, 1989; WALLACE, *et al.*, 1988), enquanto a maioria dos trabalhos não encontraram alteração destes subtipos celulares nem da razão CD4/CD8 (HADER, *et al.*, 1991; HERNANZ, *et al.*, 1994; SAMBORSKI, *et al.*, 1996). Mais recentemente, Kaufmann *et al.* (2007) encontraram redução significativa de linfócitos T citotóxicos CD8<sup>+</sup> em pacientes fibromiálgicos (KAUFMANN, *et al.*, 2008).

Tem sido estudada a ativação de linfócitos em pacientes portadores de fibromialgia, e com marcadores de linfócitos recém ativados (CD25 e CD69) e de ativação tardia (HLA-DR) Hernanz *et al.* (1994) encontraram uma diminuição das subpopulações CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> e CD3<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup> nos fibromiálgicos quando comparados com indivíduos controles. Em outro estudo com a utilização dos mesmos marcadores de ativação linfocitária, não foram encontradas alterações nos fibromiálgicos avaliados (LANDIS *et al.*, 2004). Russel *et al.* (1999) observaram aumento de linfócitos T CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>. Já em relação à ativação tardia, autores relatam não haver alterações na porcentagem de linfócitos CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> entre fibromiálgicos e indivíduos do grupo controle (HERNANZ, *et al.*, 1994; SAMBORSKI, *et al.*, 1996).

A porcentagem de células Natural Killer (NK) de pacientes fibromiálgicos foi avaliada por apenas dois grupos de pesquisadores. Enquanto um estudo relatou diminuição significativa de células NK CD16<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup> e CD56<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup> nesses pacientes (LANDIS, *et al.*, 2004), o outro não observou alterações significativas neste subtipo celular (HERNANZ, *et al.*, 1994).

Um achado interessante é que a associação dessa síndrome com concentrações séricas elevadas de autoanticorpos tem sido relatada por diversos pesquisadores sugerindo que a fibromialgia seja uma doença de caráter auto-imune. Concentrações séricas elevadas de fator anti-nuclear (FAN) foram relatadas em cerca de 12 a 30% dos pacientes (DINERMAN, *et al.*, 1986; NISHIKAI, *et al.*, 2001; SMART, *et al.*, 1997; YUNUS, *et al.*, 1993). Elevação nos níveis de anticorpos anti-tireoidianos também foi observada e descrita em estudos mais recentes sobre

fibromialgia (BAZZICHI, *et al.*, 2007; PAMUK and CAKIR, 2007; RIBEIRO and PROIETTI, 2004). Mais recentemente, Carvalho *et al.* (2008) observaram aumento de linfócitos B1 CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>, e diminuição de linfócitos T regulatórios CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>, o que reforça a hipótese da associação da fibromialgia com mecanismos auto-imunes.

Estudos demonstram ainda alterações nos níveis de citocinas as quais poderiam estar envolvidas no processo algico das fibromiálgicas (MACEDO *et al.*, 2003; ORTEGA *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2009), no entanto, assim como ocorrem contradições nos resultados de avaliações das medidas referentes aos outros parâmetros imunológicos e endócrinos já descritos, os estudos acerca dos níveis de interleucinas em fibromiálgicas também são contraditórios, (KASHIPAZ *et al.*, 2003, MACEDO *et al.*, 2007; ORTEGA *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2009). Ortega *et al.* (2009) avaliaram os níveis de marcadores inflamatórios circulantes (IL-1 $\beta$ , IL-2, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-8, IL-6, IL-4, IL-10 e CRP) em pacientes FM em comparação com os indivíduos do grupo controle. Pacientes FM apresentaram níveis circulantes elevados apenas de IL-8, IFN $\gamma$  e CRP. Em concordância com o autor supracitado, Wang *et al.* (2009) observaram níveis significativamente aumentados de IL-8 em pacientes fibromiálgicos quando esses são comparados com controles saudáveis. Zhang *et al.* (2008) verificaram aumento de eotaxina e proteína quimiotática de monócito – 1 (MCP-1) em fibromiálgicos quando comparados aos indivíduos saudáveis suportando a hipótese de que a fibromialgia possa ser uma patologia relacionada a um aumento de citocinas inflamatórias. Já em estudo feito por Ulceylar *et al.* (2006) foram observadas diminuição tanto do mRNA quanto da proteína de citocinas anti-inflamatórias como IL-10 e IL-4 em fibromiálgicos. E em Carvalho *et al.* (2008b) foram evidenciados aumento nos níveis de IL-6 sérica em fibromiálgicas.

Kashipaz *et al.* (2003) estudaram células polimorfonucleares CD14<sup>+</sup> e CD14<sup>-</sup> em cultura, estimuladas ou não com INF $\gamma$ , e não observaram alterações significativas nos níveis de IL-1 $\alpha$ , IL-6, TNF $\alpha$  e IL-10 produzidas por pacientes com fibromialgia e síndrome da fadiga crônica, quando comparadas com controles saudáveis. Mais recentemente, Macedo *et al.* (2007) quantificaram os níveis das citocinas IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , e fator de crescimento endotelial e vascular (VEGF) em culturas de células mononucleares do sangue periférico de pacientes FM e encontraram a associação da fibromialgia com níveis séricos elevados apenas de IL-2. Quando esses mesmos pacientes

receberam dexametasona (DEX), os níveis de IL-2 tiveram uma queda mais pronunciada no grupo de pacientes do que os indivíduos do grupo controle.

Como pode ser observado pelo que foi aqui relatado, é certo que pacientes fibromiálgicas apresentam alterações neuroendócrinas e imunológicas, no entanto os distúrbios observados nesses parâmetros são extremamente variáveis e até mesmo contraditórios, o que torna seu estudo bastante complexo. Alguns autores sugerem que, diante dessa complexidade, a fibromialgia deveria ser estudada como “síndrome”, como um quadro multi-fatorial, resultante da interação de vários fatores etiológicos. De fato, estudos na literatura sugerem ser a fibromialgia associada a infecções virais, violências e abusos infantis e também a fatores genéticos, uma vez que tem sido demonstrado alta prevalência de FM entre os membros de uma mesma família (BUSKILA *et al.*, 1996). A partir desse pressuposto, o estudo da associação de polimorfismos genéticos com o desenvolvimento da fibromialgia torna-se bastante relevante, (BONDY *et al.*, 1999; BUSKILA *et al.*, 2007; OFFENBAECHER *et al.*, 1999).

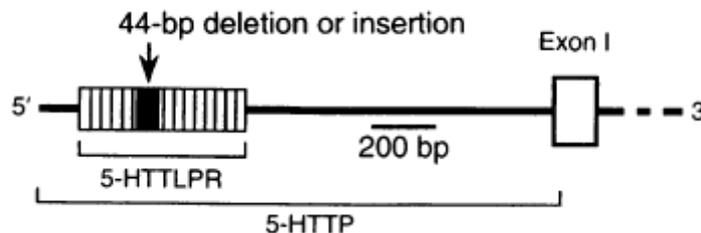
#### **1.4 Fibromialgia e o gene do transportador de serotonina**

A associação da fibromialgia com polimorfismos em genes envolvidos na regulação dos sistemas serotoninérgico, dopaminérgico, catecolaminérgico e opioidérgico tem sido relatada na literatura (BAZZICHI *et al.*, 2007; CARVALHO *et al.*, 200; FILLINGIM *et al.*, 2005; FINAN *et al.*, 2010; GURSOY, 2001; GURSOY *et al.*, 2008; OFFENBACHER *et al.*, 1999; TANDER, 2008). Esses polimorfismos possivelmente afetam o metabolismo ou o transporte de monoaminas, as quais possuem importância fundamental no mecanismo sensorial e no sistema de resposta ao estresse. (BONDY *et al.*, 1999; BUSKILA *et al.*, 2007; OFFENBAECHER *et al.*, 1999).

O sistema serotoninérgico merece atenção especial na fibromialgia, pois possui importante papel na modulação do sono, da dor e do eixo HPA (BIRDSALL, 1998; KLAASSEN *et al.*, 2002; OFFENBACHER *et al.*, 1999; WETZLER *et al.*, 1996). Além disso, algumas pacientes fibromiálgicas apresentam alterações nos níveis séricos de serotonina, além de ocorrer melhora de sintomas com o uso de inibidores da recaptação da serotonina (BONDY *et al.*, 1999; CORDERO *et al.*, 2010; MAZZA *et al.*, 2009).

No sistema nervoso central, a serotonina é produzida principalmente no núcleo dorsal da rafe (LOZEVA-THOMAS, 2004). Após o metabolismo, a serotonina fica armazenada em vesículas nos terminais sinápticos e durante o estímulo nervoso, é liberada na fenda sináptica se ligando aos receptores pós-sinápticos. Após a interação, o neurotransmissor sofre degradação pela monoaminoxidase ou é recaptado pelo transportador de serotonina (SERT ou 5-HTT) (BIRDSALL, 1998).

O transportador da serotonina é codificado por um único gene (SLC6A4) no cromossomo 17q12. O polimorfismo da região promotora do gene do transportador da serotonina (5HTTLPR) foi descrito por LESCH, *et al.* (1996) onde observaram que a presença ou ausência de 44 pares de bases determina a forma longa (L) ou curta (S) dos alelos (**FIG.2**).



**FIGURA 2.** Mapa do promotor do gene do transportador 5-HT humano (5-HTTP) (EMBL-GenBank número de acesso X76753). O 5-HTTLPR compreende uma sequência repetitiva com a inserção ou deleção da variação indicada pelo box em negro.  
Fonte: LESCH, *et al.* (1996)

Existe uma diferença funcional entre indivíduos que apresentam diferenças no número de pares de base nesta região promotora do gene. É observado que a presença do alelo curto (S) torna a atividade basal do transportador cerca de duas vezes menor que a da variante longa homozigota (L). No entanto, é também comprovado que indivíduos com a forma longa homozigota possuem maior atividade de transcrição e de tradução do 5HTT (LESCH, *et al.*, 1996). A análise do 5HTTLPR de 505 indivíduos foi capaz de demonstrar uma associação positiva entre o alelo curto e neuroticismo, o qual é composto principalmente por fatores como depressão e ansiedade (LESCH, *et al* 1996).

Da mesma forma, estudos realizados com camundongos *knockout* (5-HTT +/-) para o transportador heterozigoto da serotonina demonstraram que eles produzem cerca de 50% menos mRNA do transportador da serotonina que o do tipo selvagem os quais podem ser comparáveis ao alelo S em humanos que possuem cerca de 30 a 50% de redução do mRNA do transportador de serotonina. Foi, contudo,

observado que, quando estes camundongos knockout foram expostos ao estresse, possuem diminuição da locomoção e maior restrição social quando comparados aos camundongos do tipo selvagem (CASPI *et al.*, 2003). Esta diminuída interação social também se relaciona com o aumento da ansiedade (BARTOLOMUCCI, *et al.*, 2010).

O polimorfismo do gene do transportador da serotonina tem sido estudado em pacientes com FM por alguns autores (BAZZICHI *et al.*, 2006; CARVALHO *et al.*, 2008; OFFENBACHER *et al.*, 1999). O estudo desta região em fibromiálgicos torna-se importante devido à presença de quadros de depressão e ansiedade nestes pacientes (CARVALHO *et al.*, 2008, OFFENBAECHER *et al.*, 1998). Estudos recentes apontam para uma maior frequência do genótipo SS ou LS na população de portadoras de fibromialgia, quando comparada ao grupo controle, além da associação desses genótipos com maior prevalência de depressão, angústia e ansiedade (BAZZICHI *et al.*, 2006; CARVALHO *et al.*, 2008; OFFENBACHER *et al.*, 1999).

Carvalho *et al.* (2008b), encontraram uma maior frequência do alelo curto entre os fibromiálgicos em relação ao grupo controle. De acordo com a avaliação psiquiátrica e neuropsicológica, o grupo S apresentou maior percentual de indivíduos deprimidos que o grupo L (65% versus 29% respectivamente). Com esta divisão de grupos também foi possível caracterizar pacientes com distintos perfis imunológicos e endócrinos sendo o grupo L caracterizado por hipocortisolismo, alteração da imunidade inata com aumento do número de neutrófilos circulantes e ainda elevação da porcentagem de linfócitos T recém-ativados  $CD4^+CD25^{low}$ ; e o grupo S por aumento de linfócitos T cronicamente ativados  $CD4^+HLA-DR^+$ , redução dos níveis de células Natural Killer e depressão (CARVALHO *et al.*, 2008). Finalmente, pode-se observar pelo que foi aqui relatado, que a fibromialgia é provavelmente influenciada pela genética do transportador de serotonina, determinando grupos distintos de pacientes, tanto clínica como laboratorialmente. O presente trabalho pretende dar continuidade a esses estudos, visando assim contribuir para a compreensão dessa síndrome ainda tão pouco compreendida.

Diante da presença de evidências da comunicação entre os sistemas neuro-comportamental, imunológico e endócrino, (revisado por STERNBERG *et al.*, 2006), e da tendência de estudá-los de maneira independente é que se propôs a realização deste estudo na tentativa de elucidar a interação entre tais sistemas na síndrome da fibromialgia. Acreditamos que a existência de uma interação complexa entre fatores

neuroendócrinos e imunológicos possa responder a questões ainda não elucidadas no que se refere à etiopatogenia da fibromialgia além da categorização destes indivíduos em grupos mais homogêneos.

## 2 JUSTIFICATIVA

A fibromialgia é uma das patologias mais estudadas na clínica reumatológica, porém é ainda pouco compreendida. Vários trabalhos a cerca da doença demonstraram existir alterações imunológicas, neuroendócrinas e comportamentais (BONDY *et al.*, 1999; CARVALHO *et al.*, 2008; GUR *et al.*, 2004; WALLACE *et al.*, 2001; YUNUS *et al.*, 1999; MAZZA *et al.*, 2009). No entanto, esses três sistemas foram, na maioria das vezes, analisados separadamente e os resultados obtidos foram contraditórios. Diante disso e considerando as evidências de associação da fibromialgia com fatores genéticos (BONDY *et al.*, 1999; BUSKILA *et al.*, 2007; OFFENBAECHER *et al.*, 1999), adotamos no presente trabalho a mesma estratégia metodológica que já vem sendo seguida pelo nosso grupo de pesquisa na tentativa de diminuir a variabilidade dos resultados. As pacientes fibromiálgicas foram divididas em grupos, de acordo com o polimorfismo da região promotora do gene codificador da proteína transportadora de serotonina (5HTTLPR) para então se proceder a análise de parâmetros imunológicos nos diferentes grupos.

Tal escolha justifica-se pela prevalência significativa de depressão na população fibromiálgica (CARVALHO *et al.*, 2008; LANDIS *et al.*, 2003; OFFENBAECHER *et al.* 1998) assim como pelas evidências de um envolvimento do sistema serotoninérgico na fisiopatologia da doença (ERNBERG *et al.*, 2000; RIERING *et al.*, 2004; WOLFE *et al.* 1997). Como já explicitado, existe uma inter-relação entre o sistema serotoninérgico e o sistema imune (O'CONNELL *et al.*, 2006) e o neuroendócrino (FUXE *et al.*, 1987; MORIMOTO *et al.*, 1996) Além disso, um meio razoável de se avaliar a função serotoninérgica é o estudo do 5HTTLPR, pois o transportador de serotonina desempenha papel ímpar na regulação de sua função (LESCH, *et al.*, 1996; LESCH, *et al.*, 1993).

Em estudo feito em nosso laboratório por Carvalho *et al.* (2008); no qual se realizou a categorização em grupos distintos de fibromiálgicos baseados no 5HTTLPR, foi possível verificar algumas características interessantes uma vez que parâmetros imunológicos e endócrinos foram avaliados. Tomando-se esses dados, observou-se que os pacientes do grupo L apresentaram hipocortisolismo, alteração da imunidade inata com aumento de neutrófilos e aumento de linfócitos T recém-ativados CD4<sup>+</sup>CD25<sup>low</sup>. Por outro lado, o grupo S demonstrou aumento de linfócitos T cronicamente ativados CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, redução de células Natural Killer e

depressão. Nesse mesmo trabalho foi possível demonstrar a presença de um perfil auto-imune, no qual ambos os grupos de pacientes apresentaram aumento de linfócitos B totais (CD19<sup>+</sup>CD5<sup>-</sup>), linfócitos B1 (CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>) e diminuição de linfócitos T regulatórios CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>.

Diante da observação da presença de ativação de linfócitos T (CARVALHO *et al.*, 2008), julgamos necessário o estudo de moléculas co-estimulatórias CD80 e CD86 em linfócitos B e monócitos assim como CD28 em linfócitos T CD4<sup>+</sup>, as primeiras são células apresentadoras de antígeno e seus sinais são essenciais para que ocorra a ativação dos linfócitos T.

Nos propusemos ainda a avaliar os níveis de “macrófagos like” CD16<sup>+</sup> e com alta expressão de HLA-DR, células normalmente associadas a processos inflamatórios crônicos, inclusive a doenças auto-imunes, como artrite reumatóide (KAWANAKA *et al.*, 2002).

Analizamos também a expressão de CD23 em neutrófilos, o que se justifica pela associação dessa célula com doenças autoimunes (VELLA, *et al.*, 1999) e também por já se ter observado, em pacientes fibromiálgicas, aumento do número de neutrófilos circulantes e da expressão de moléculas de adesão por essas células (CARVALHO *et al.*, 2008; KAUFMANN *et al.*, 2008; MACEDO *et al.*, 2007).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral:

- Analisar alguns parâmetros imunológicos em portadores de fibromialgia categorizados de acordo com o genótipo do 5-HTTLPR visando levantar evidências adicionais da existência de quadros nosológicos distintos em fibromialgia.
- Investigar a correlação entre os achados imunológicos e as alterações comportamentais e endócrinas, com o objetivo de levantar dados que contribuam para a compreensão da participação das interações psiconeuroimuno-endócrinas no desenvolvimento da doença.

#### 3.2 Objetivos específicos:

Em leucócitos sanguíneos de pacientes fibromiálgicas, categorizadas de acordo com o polimorfismo 5-HTTLPR, analisar os seguintes parâmetros:

- Níveis de sub-populações de monócitos: monócitos macrófagos-like CD16<sup>+</sup> e monócitos inflamatórios CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>++</sup>,
- Expressão de moléculas co-estimuladoras (CD80 e CD86) em monócitos e linfócitos B circulantes e ainda de CD28 em linfócitos T.
- Porcentagem de neutrófilos CD23<sup>+</sup>
- Subtipos da personalidade (neuroticismo, extroversão, abertura, socialização e realização) através da Escala NEO PI-R.
- Impulsividade através da *Barratt Impulsiveness Scale* versão 11 – BIS 11
- Níveis de cortisol salivar em três horários distintos.
- Correlacionar os achados imunológicos com os parâmetros comportamentais e endócrinos.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Pacientes e Controles:**

Foram convidados a participar deste estudo, 75 pacientes fibromiálgicos dos ambulatórios do Hospital da Baleia e do Instituto de Previdência dos Servidores do Estado de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. O critério diagnóstico seguiu as recomendações publicadas pelo Colégio Americano de Reumatologia (**TAB. 1**) (Wolfe, *et al.*, 1990).

Dentre os 75 pacientes, foram selecionados 18 para avaliação imunológica, endócrina (dosagem de cortisol salivar) e aplicação de questionários. Foram selecionados 17 indivíduos saudáveis, pareados aos fibromiálgicos quanto ao gênero e idade, para comporem o grupo controle, os quais seguiram a avaliação dos mesmos parâmetros citados acima. Os fibromiálgicos se abstiveram dos medicamentos prescritos por pelo menos 15 dias. Para análise estatística dos resultados, estes 18 pacientes foram subdivididos em dois grupos, de acordo com o genótipo do 5HTTLPR: grupo L para os pacientes com genótipo LL e grupo S para aqueles que apresentavam pelo menos um alelo S, dando um total de 10 pacientes compondo o grupo S e 08 compondo o grupo L.

Observamos na literatura que alguns trabalhos referem-se à alta prevalência de fibromialgia em pacientes infectados pelo vírus hepatite C (GOULDING, *et al.*, 2001; KOZANOGLU, *et al.*, 2003; PALAZZI, *et al.*, 2008; RIVERA, *et al.*, 1997; THOMPSON and BARKHUIZEN, 2003). Por se tratar de infecção com alta prevalência em nosso meio, rastreamos nossos pacientes através do ensaio imunoenzimático de micropartículas (MEIA; AXSYM® HCV version 3.0, Abbott Laboratories, USA) para evitar viés nas avaliações imunológicas. Todos os pacientes foram considerados negativos.

Pacientes e controles leram e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (anexo 1). Esse projeto foi aprovado pelos Comitês de Ética da UFMG (COEP nº 100/01) e do Instituto de Previdência dos Servidores do Estado de Minas Gerais (COEP nº 201 / 06).

### **4.2 Avaliação psicológica e neuropsicológica dos pacientes**

Todos os pacientes e controles foram submetidos a avaliação psiquiátrica utilizando para a entrevista o MINI-PLUS (anexo 2) e os diagnósticos foram

estabelecidos segundo os critérios do DSM-IV (anexo 3). A avaliação foi feita na admissão do paciente na pesquisa, portanto o entrevistador desconhecia os resultados neuroendócrinos e imunológicos. Para avaliação da personalidade e da impulsividade foram utilizadas a Escala de Impulsividade de Barratt versão 11 (Anexo C) e o Inventário de Personalidade NEO – revisado (anexo B), respectivamente.

#### **4.2.1 Inventário de Personalidade NEO – Revisada (NEO PI-R)**

Originalmente desenvolvido por Costa e McCrae (1984) a escala Neo PI-R é mundialmente reconhecida como padrão ouro na avaliação dos tipos de personalidade. É um questionário do tipo auto-preenchido composto por 240 perguntas que abordam os cinco domínios da personalidade (neuroceticismo, extroversão, abertura, socialização e realização) bem como as seis facetas de cada um destes, perfazendo um total de 30 facetas da personalidade (anexo 4).

#### **4.2.2 Escala de Impulsividade de Barratt versão 11 – BIS 11**

A BIS é uma escala de auto-preenchimento com trinta questões que descrevem formas habituais de agir. Oficialmente foi revisada 11 vezes entre os anos 1965 e 1995. A versão utilizada neste trabalho foi a décima primeira. A BIS 11 fornece um escore mínimo de 30 e máximo de 120. As opções de resposta são: nunca, às vezes, freqüentemente e quase sempre (PATTON *et al.*, 1995) (anexo 5).

Subdivide-se em três esferas de impulsividade:

- a) Impulsividade atencional (ou por falta de atenção) – pensar, decidir e agir apressadamente. (escore de 10 a 40)  
Ex: “Eu faço coisas sem pensar”.
- b) Impulsividade motora – agir sem pensar (escore de 8 a 32)  
Ex: “Eu tenho pensamentos rápidos”.
- c) Impulsividade por falta de planejamento – comportamento voltado para o imediato, sem prever conseqüências futuras (escore de 12 a 48).  
Ex: “Eu sou mais interessado no presente do que no futuro”.

#### **4.3 Análise do polimorfismo da região promotora do gene do transportador da serotonina – 5HTTLPR**

Para a realização dessa etapa, tivemos a colaboração do Professor Humberto Correa, do Departamento de Psiquiatria da UFMG e do aluno de Iniciação Científica Gabriel de Campos Silva.

O DNA genômico foi extraído do sangue periférico através do kit GenomicPrep Blood DNA Isolation Kit (Amersham Pharmacia Biotech Inc., Piscataway, NJ). A região promotora do gene do transportador de serotonina, onde se localiza o polimorfismo em estudo, foi amplificada usando a reação em cadeia da polimerase (PCR) com os primers 5'-CCGCTCTGAATGCCAGCACCTAAC-3' e 5'-AGAGGGACTGAGCTGGACAACCAC-3'. O PCR foi realizado em 25 µL de volume final contendo aproximadamente 100 ng de DNA, 1,25 pM de cada primer, 0,1 mM dNTP, 1,6 mM MgSO<sub>4</sub> e 2 unidades de Taq polimerase. Após uma desnaturação inicial a 94°C por 2 minutos, a amplificação foi feita em 30 ciclos (94°C por 15 segundos, 65°C por 30 segundos e 72°C por 45 segundos) e, então, uma extensão final por 72°C durante 5 minutos. O produto do PCR foi então analisado por eletroforese em gel poliacrilamida 8% corado pela prata para determinação do tamanho dos produtos amplificados (EBSTEIN, *et al.*, 1997).

#### **4.4 Dosagem de Cortisol:**

Para avaliação dos níveis de cortisol salivar foram coletadas três amostras nos horários 8, 17 e 22 horas no dia anterior à coleta sangue. Pacientes e controles foram orientados a não alimentar nem escovar os dentes 30 minutos antes do horário da coleta para evitar contaminação das amostras por alimentos e eventualmente por sangue. Os participantes foram orientados a manter a amostra coletada em geladeira. No dia seguinte, o material foi recolhido pela equipe da pesquisa, centrifugado, aspirado o sobrenadante e estocado em freezer a -20°C.

Posteriormente, o material foi descongelado e a fração livre de cortisol foi mensurada através de kit de ensaio imunoenzimático segundo instruções do fabricante (DSL-10 67100 Diagnostic Systems Laboratories, Webster, TX, USA). A sensibilidade do teste foi de 0,30 nmol/L. O coeficiente de variação intra-ensaio e inter-ensaio foram respectivamente 3,5% e 5%.

Utilizamos como estratégia a medida do cortisol na saliva, porque o estresse da punção venosa é capaz de elevar agudamente seu nível sérico resultando em erros. Ademais, trabalhos já demonstraram que o cortisol salivar dá uma estimativa confiável do cortisol plasmático (KIRSCHBAUM and HELLHAMMER, 1994).

## **4.5 Imunofenotipagem de leucócitos do sangue periférico por citometria de fluxo:**

### **4.5.1 Procedimento experimental:**

O fenótipo dos leucócitos do sangue periférico foi analisado segundo protocolo de imunofenotipagem proposto pelo fabricante (Becton Dickison- Mountain View, CA, USA) com algumas modificações conforme descrito a seguir. Alíquotas de 50 µl de sangue periférico total em EDTA foram incubadas com 10 µl de anticorpo monoclonal marcado com fluorocromo (isoticianato de fluoresceína – FITC, ficoeritrina - PE). Combinações específicas de anticorpos monoclonais marcados com fluorocromos distintos foram utilizadas para a análise simultânea de marcadores de superfície celular necessários para caracterização de subpopulações celulares de interesse. Nestas análises foram utilizados os anticorpos monoclonais especificados na **(TAB. 2)** (Pharmingen, San Diego, CA, USA). Os anticorpos foram diluídos em PBS contendo 1% de BSA (Sigma, Saint Louis, USA). Como controle, anticorpos não relacionados IgG1 ou IgG2, ligados a PE ou FITC foram usados para medidas de ligações inespecíficas. O material permaneceu em incubação por 30 minutos, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após a marcação, o preparado foi lisado com solução de lise (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) por 10 minutos e lavada com PBS. Este procedimento elimina quase todas as hemácias, otimizando assim a aquisição de dados. As células foram então fixadas em 200 µl de paraformaldeído 1% e cacodilato de sódio 1%. A leitura da imunofluorescência foi feita em um citômetro FACScan da Becton Dickinson (San Jose, CA, USA) sendo coletados 10.000 eventos para cada tubo. A leitura foi realizada em programa CELLQuest™. A aquisição dos dados foi feita através do programa Flowjo 7.6.1 empregando-se diferentes estratégias dependendo do fenótipo celular analisado.

**TABELA 2**

Anticorpos monoclonais marcados com fluorocromo utilizados para análise de populações e subpopulações celulares.

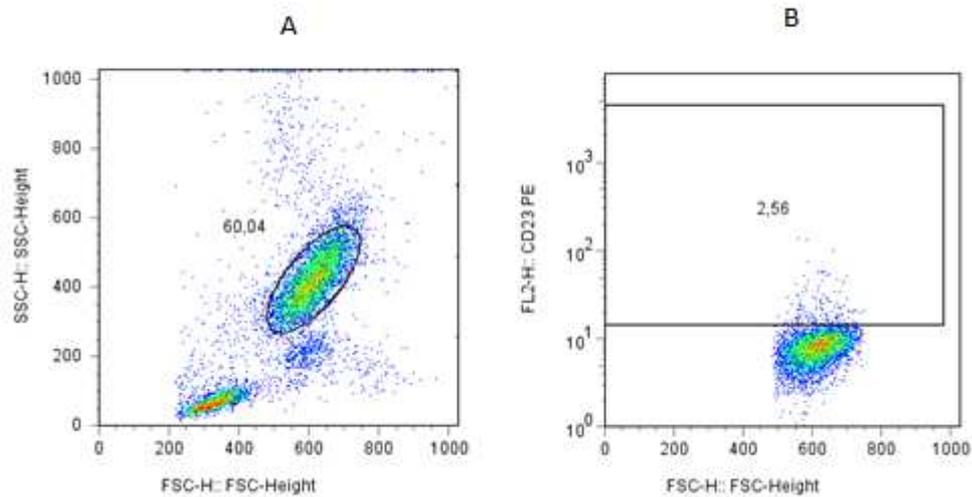
Anticorpo	Fluorocromo	Fenótipo alvo
Anti-IgG1	FITC ou PE	Medida de ligações inespecíficas
Anti-IgG2	FITC ou PE	Medida de ligações inespecíficas
Anti-CD4	FITC ou PE	Linfócitos T auxiliares
Anti-CD16	FITC	Neutrófilos, monócitos
Anti-CD14	FITC	Monócitos
Anti-CD23	PE	Neutrófilos, linfócitos
Anti-HLA-DR	PE	Neutrófilo, Monócitos
Anti-CD28	PE	Linfócitos, Neutrófilos
Anti-CD19	FITC	Linfócitos B
Anti-CD80	PE	Linfócitos, monócitos
Anti-CD86	PE	Linfócitos, monócitos

#### 4.5.2 Estratégia de análise dos resultados:

Os dados obtidos pela imunofenotipagem foram analisados utilizando-se diferentes estratégias dependendo do fenótipo celular avaliado.

##### 4.5.2.1 Análise da frequência de neutrófilos CD23:

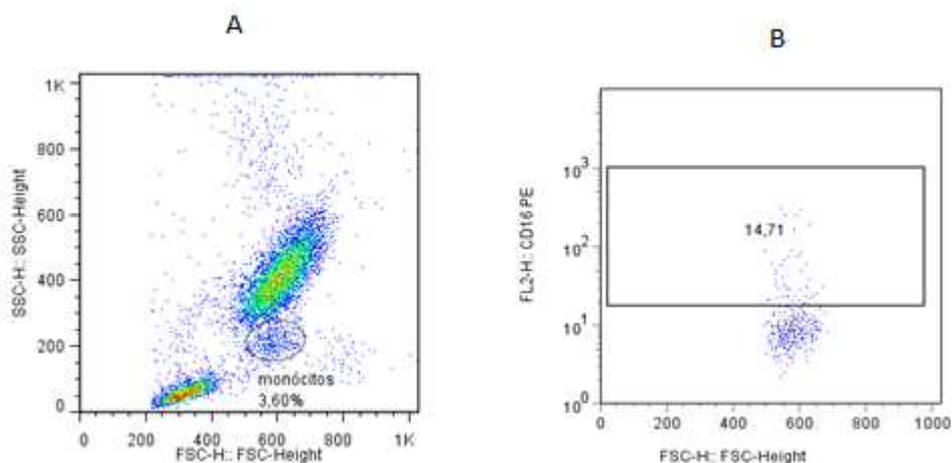
As análises de neutrófilos CD23<sup>+</sup> foi realizada através de um gráfico pseudocolor do tipo tamanho (FSC) versus granulosidade (SSC) (**FIG. 3A**) e selecionada a população de neutrófilos segundo os parâmetros morfométricos. Foi feito, então, novo gráfico pseudocolor com a fluorescência FL2/CD23 versus tamanho (FSC) para quantificar o percentual de células CD23<sup>+</sup> dentro da população de neutrófilos previamente selecionados (**FIG. 3B**).



**FIGURA 3.** Seqüência de procedimentos para avaliação do percentual de neutrófilos CD23<sup>+</sup> no sangue periférico. A) Gráfico pseudocolor de FSC versus SSC utilizado para a seleção da população de neutrófilos. B) Gráfico pseudocolor de FSC versus FL2/CD23 empregado para quantificar o percentual de neutrófilos CD23<sup>+</sup>.

#### 4.5.2.2 Análise da frequência de “macrófagos-like” (CD16<sup>+</sup>):

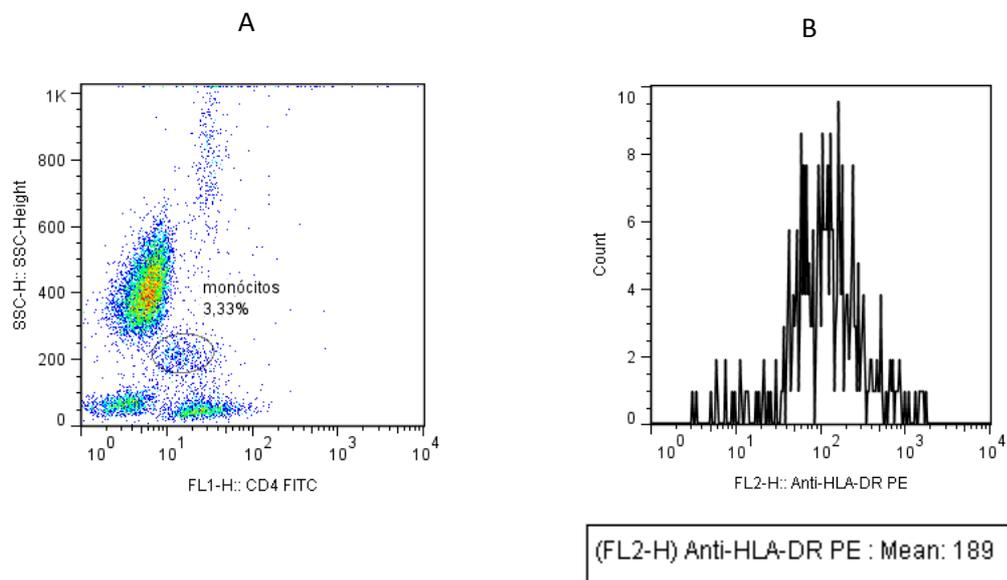
Foi feito um gráfico pseudocolor do tipo tamanho (FSC) versus granulosidade (SSC) (**FIG. 4A**) e selecionada população monócitos segundo os parâmetros morfométricos. Foi feito, então, novo gráfico pseudocolor segundo as fluorescências FL2/CD16 versus tamanho (FSC) (**FIG. 4B**) para quantificar o percentual de células CD16<sup>+</sup> dentro da população de monócitos previamente selecionados.



**FIGURA 4.** Seqüência de procedimentos para quantificar o percentual de monócitos CD16<sup>+</sup> no sangue periférico. A) Gráfico pseudocolor FSC versus SSC utilizado para a seleção da população de monócitos. B) Gráfico pseudocolor de FSC versus FL2/CD16 empregado para quantificar o percentual de monócitos CD16<sup>+</sup>.

#### 4.5.2.3 Análise da intensidade de fluorescência de HLA-DR em monócitos CD4<sup>low</sup>

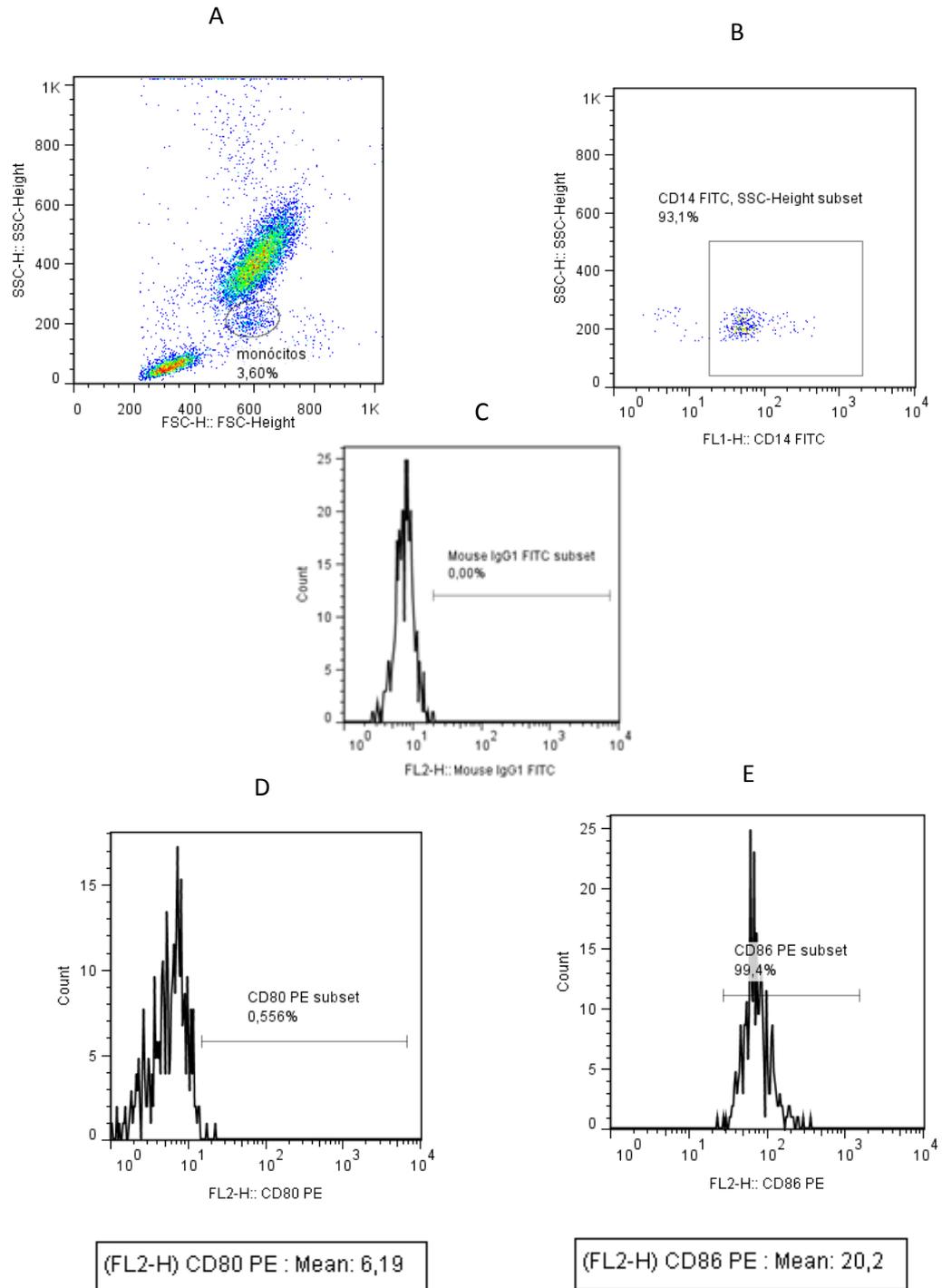
A análise da IMF de monócitos foi feita através de um gráfico pseudocolor de SSC versus FL1/CD4 (FIG. 5A) para a identificação da população de monócitos como células CD4<sup>low</sup> e de granulosidade intermediária entre linfócitos e neutrófilos. Após foi construído um histograma para medir a intensidade média de fluorescência (IMF) de HLA-DR dentro da população previamente selecionada (FIG. 5B).



**FIGURA 5.** Seqüência de procedimentos para quantificar a IMF de HLA-DR em monócitos no sangue periférico. A) Gráfico pseudocolor SSC versus FL1/CD4FITC utilizado para a seleção da população de monócitos. B) Histograma unidimensional de fluorescência FL2/CDHLA-DR, contendo células selecionadas no primeiro gráfico, utilizado para determinar a intensidade média de fluorescência (IMF) de HLA-DR por monócitos CD4<sup>low</sup>.

#### 4.5.2.4 Análise da porcentagem e média de intensidade de fluorescência de monócitos CD14<sup>+</sup>CD80<sup>+</sup> e CD14<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup>

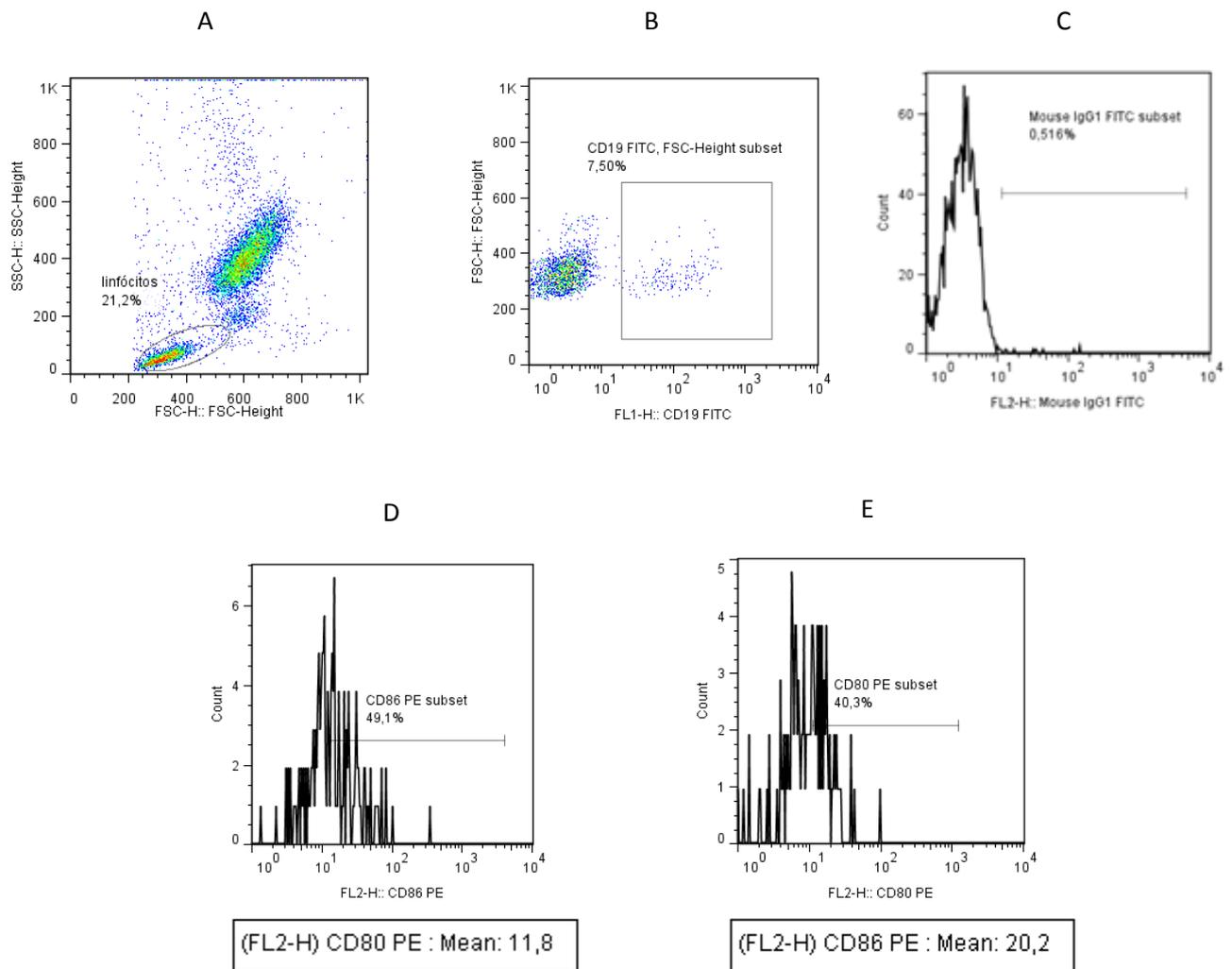
Foi realizado um gráfico pseudocolor SSC versus FSC (FIG. 6A) para seleção da população de interesse. Após novo gráfico pseudocolor SSC versus FL1/CD14 foi feito para a seleção da população CD14<sup>+</sup> (FIG. 6B) e em seguida foram feitos histogramas para seleção da porcentagem de células que expressam CD80 (FIG. 6D) e CD86 (FIG. 6E) assim como a IMF de cada uma destas moléculas.



**FIGURA 6.** Sequência de procedimentos para análise da porcentagem e IMF CD80 e CD86 em monócitos do sangue periférico. A) Gráfico pseudocolor do tipo tamanho e granulosidade para seleção da população de monócitos. B) Gráfico pseudocolor SSC versus FL1/CD14. C) Controle de isotipo. D) IMF e porcentagem de células CD80 na população CD14<sup>+</sup> selecionada no gráfico B. E) IMF e porcentagem de células CD86 na população CD14<sup>+</sup> selecionada no gráfico B.

#### 4.5.2.5 Análise da porcentagem e média de intensidade de fluorescência de monócitos CD19<sup>+</sup>CD80<sup>+</sup> e CD19<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup>

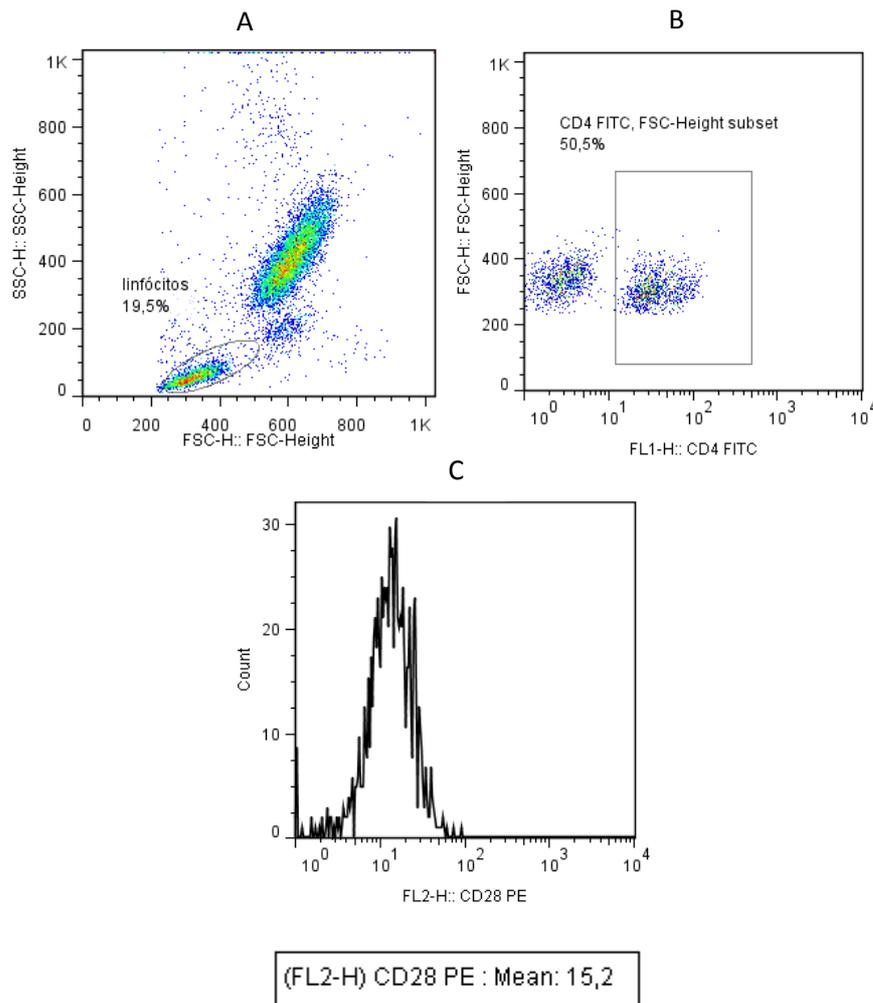
Foi realizado um gráfico pseudocolor SSC versus FSC (**FIG. 7A**) para seleção da população de interesse. Após novo gráfico pseudocolor FSC versus FL1/CD19 foi feito para a seleção da população CD19<sup>+</sup> (**FIG. 7B**) e em seguida foram feitos histogramas para seleção da porcentagem de células que expressam CD80 (**FIG. 7D**) e CD86 (**FIG. 7E**) assim como a IMF de destas moléculas.



**FIGURA 7.** Sequência de procedimentos para análise da porcentagem e IMF CD80 e CD86 em linfócitos B do sangue periférico. A) Gráfico pseudocolor do tipo tamanho e granulosidade para seleção da população de linfócitos. B) Gráfico pseudocolor SSC versus FL1/CD19. C) Controle de isotipo. D) IMF e porcentagem de células CD80 na população CD19<sup>+</sup> selecionada no gráfico B. E) IMF e porcentagem de células CD86 na população CD19<sup>+</sup> selecionada no gráfico B.

#### 4.5.2.6 Análise da média de intensidade de fluorescência de CD28<sup>+</sup> em linfócitos T CD4<sup>+</sup>

Foi realizado um gráfico pseudocolor SSC versus FSC (**FIG. 8A**) para seleção da população de interesse. Após novo gráfico pseudocolor FSC versus FL1/CD4 foi feito para a seleção da população CD4<sup>+</sup> (**FIG. 8B**) e em seguida foram feitos histogramas para a avaliação da IMF de CD28 (**FIG. 8C**).



**FIGURA 8.** Sequência de procedimentos para análise da IMF CD28 em linfócitos T do sangue periférico. A) Gráfico pseudocolor do tipo tamanho e granulosidade para seleção da população de linfócitos. B) Gráfico pseudocolor SSC versus FL1/CD4.C) IMF CD28 na população CD4+ selecionada no gráfico B.

**TABELA 3**

Tabela explicativa das moléculas e células estudadas

<b>Molécula</b>	<b>Célula estudada</b>	<b>Características e funções</b>
CD80	APCs (monócitos e linfócitos B)	Molécula co-estimulatória da família B7. Interagem com CD28 ou CTLA-4 em linfócitos T. Quando se liga ao CD28 induz ativação das células T e quando se liga ao CTLA-4 induz a anergia das células T.
CD86	APCs (monócitos e linfócitos B)	Molécula co-estimulatória da família B7. Interagem com CD28 ou CTLA-4 em linfócitos T. Quando se liga ao CD28 induz ativação das células T e quando se liga ao CTLA-4 induz a anergia das células T.
CD28	Linfócitos T	Interage com moléculas CD80 e CD86 em APCs
CD16	Monócitos não clássicos	Caracterizam monócitos inflamatórios com alta capacidade de produção de IL-1, IL-6 e TNF $\alpha$ . Possuem alta expressão de HLA-DR.
HLA-DR	Monócitos	Monócitos com alta capacidade de apresentação de antígenos.
CD23	Neutrófilos	Receptor de IgE e induzido por GM-CSF <i>in vitro</i> .

#### 4.6 Análise estatística

Foi realizada análise de variância através do teste Kruskal-Wallis e do pós-teste Comparação Múltipla de Dunn's para as diferenças na resposta entre diferentes grupos relacionados aos dados não paramétricos. A correlação entre os parâmetros estudados foi avaliada através do coeficiente de correlação de Spearman.

O teste de Mann-Whitney permitiu avaliar a validade de construto ao comparar os escores obtidos pelo grupo de fibromiálgicas não categorizadas segundo o polimorfismo do 5HTTLPR e grupo controle, em cada fator e subfacetar do questionário NEO e BIS.

Resultados foram considerados estatisticamente significativos quando valores de  $p < 0,05$ . Dados foram expressos em média  $\pm$  erro padrão. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o GRAPHPAD PRISM versão 5.1 (Graphpad Software Inc., San Diego, CA).

## 5 RESULTADOS:

### 5.1 Aspectos fenotípicos de leucócitos circulantes:

Participaram deste estudo 18 pacientes e 17 controles. A média de idade foi de  $40,9 \pm 2,0$  anos no grupo controle e  $40,9 \pm 1,7$  anos no grupo L e de  $46,3 \pm 2,0$  no grupo S. Todos os grupos analisados, inclusive grupo controle, apresentaram médias semelhantes de idade e índice de massa corporal (IMC), assim como não houve diferença em relação ao tempo de diagnóstico da doença entre o grupo L e grupo S (**TAB. 4**).

**TABELA 4**

Variáveis clínicas dos pacientes do grupo controle e pacientes fibromiálgicos

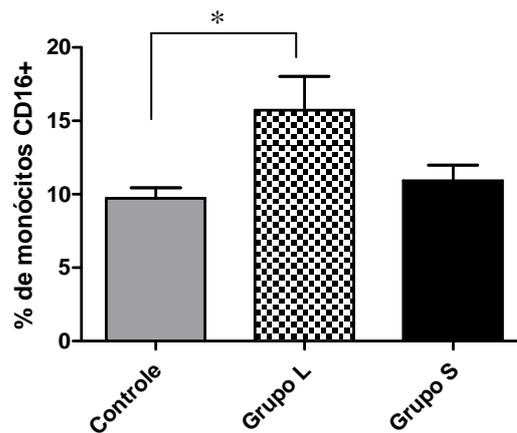
	Controle	Pacientes	
	N = 17	Grupo-L (n=08)	Grupo-S (n=10)
<b>Idade Anos</b>	$40,9 \pm 2,0$	$40,9 \pm 1,7$	$46,3 \pm 2,0$
<b>IMC (KG/m2)</b>	$23,8 \pm 0,4$	$23,0 \pm 2,4$	$27,0 \pm 1,5$
<b>Tempo de diagnóstico (anos)</b>	-	$3,7 \pm 2,0$	$4,4 \pm 1,2$

Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão

### 5.2 Análise de monócitos inflamatórios:

#### 5.2.1 Frequência de “macrófagos-like” (monócitos CD16<sup>+</sup>):

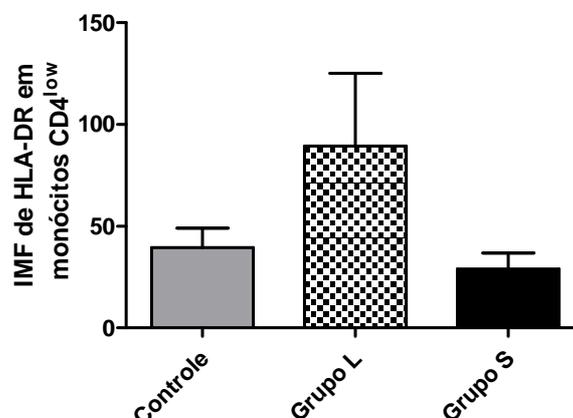
Na análise da frequência de “macrófagos like” os fibromiálgicos do grupo L apresentaram uma expressão significativamente maior na porcentagem de monócitos CD16<sup>+</sup> quando comparados aos indivíduos do grupo controle (**FIG. 9**).



**FIGURA 9.** Percentual de monócitos CD16<sup>+</sup> no sangue periférico de indivíduos do grupo controle (n = 17) e pacientes fibromiálgicos dos grupos L (n = 08) e S (n = 10). O \* representa diferença significativa entre grupo controle e pacientes do grupo L. Dados expressos em média ± erro padrão.

### 5.2.2 Análise da IMF de monócitos HLA-DR<sup>+</sup>

Não foram observadas diferenças na IMF de HLA-DR em monócitos CD4<sup>low</sup> entre os indivíduos do grupo controle e ambos os grupos de fibromiálgicos (**FIG. 10**).

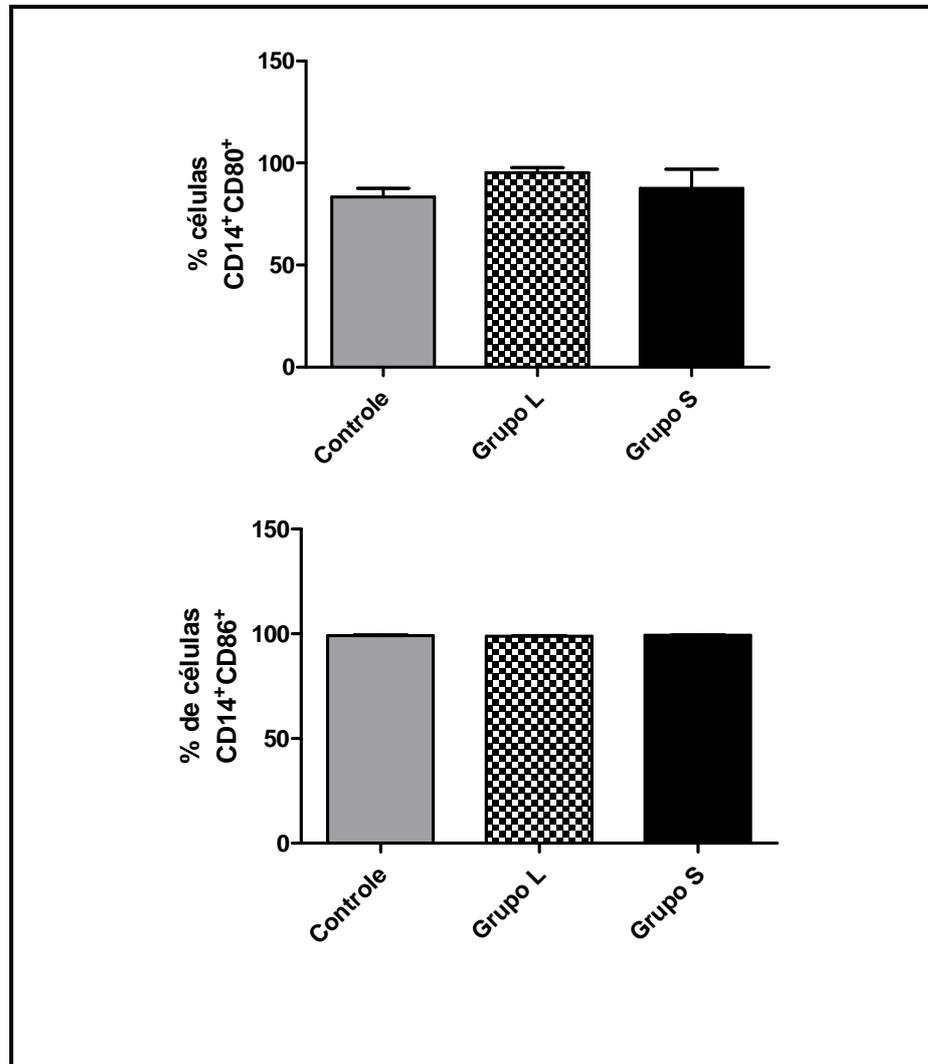


**FIGURA 10.** Análise da média de intensidade de fluorescência da molécula HLA-DR na superfície de monócitos (CD4<sup>low</sup>) do sangue periférico dos indivíduos do grupo controle (n = 17) e em fibromiálgicos do grupo L (n = 08) e grupo S (n = 10). Dados expressos em média ± erro padrão.

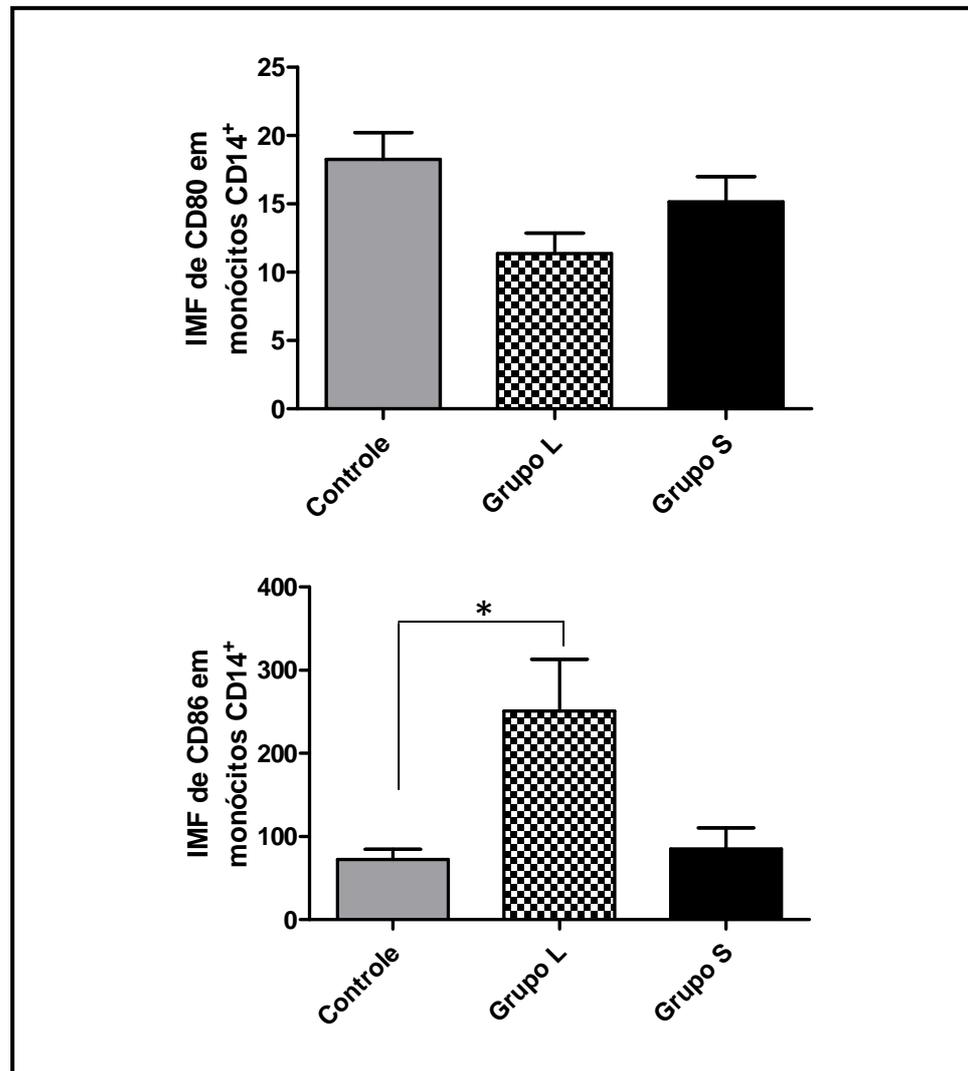
### 5.3 Análise da expressão de moléculas co-estimulatórias em monócitos, linfócitos B e T circulantes:

Na análise da porcentagem de células CD80<sup>+</sup> na subpopulação CD14<sup>+</sup>, da porcentagem de células CD86<sup>+</sup> na subpopulação CD14<sup>+</sup> e na média de intensidade de fluorescência da molécula CD80 na subpopulação CD14<sup>+</sup> não observamos diferenças entre os grupos de pacientes e os indivíduos do grupo controle. No entanto, evidenciamos um aumento na média de intensidade de fluorescência da

molécula CD86 na superfície de células CD14<sup>+</sup> do grupo L quando comparado aos indivíduos do grupo controle (**FIG.11 e 12**)

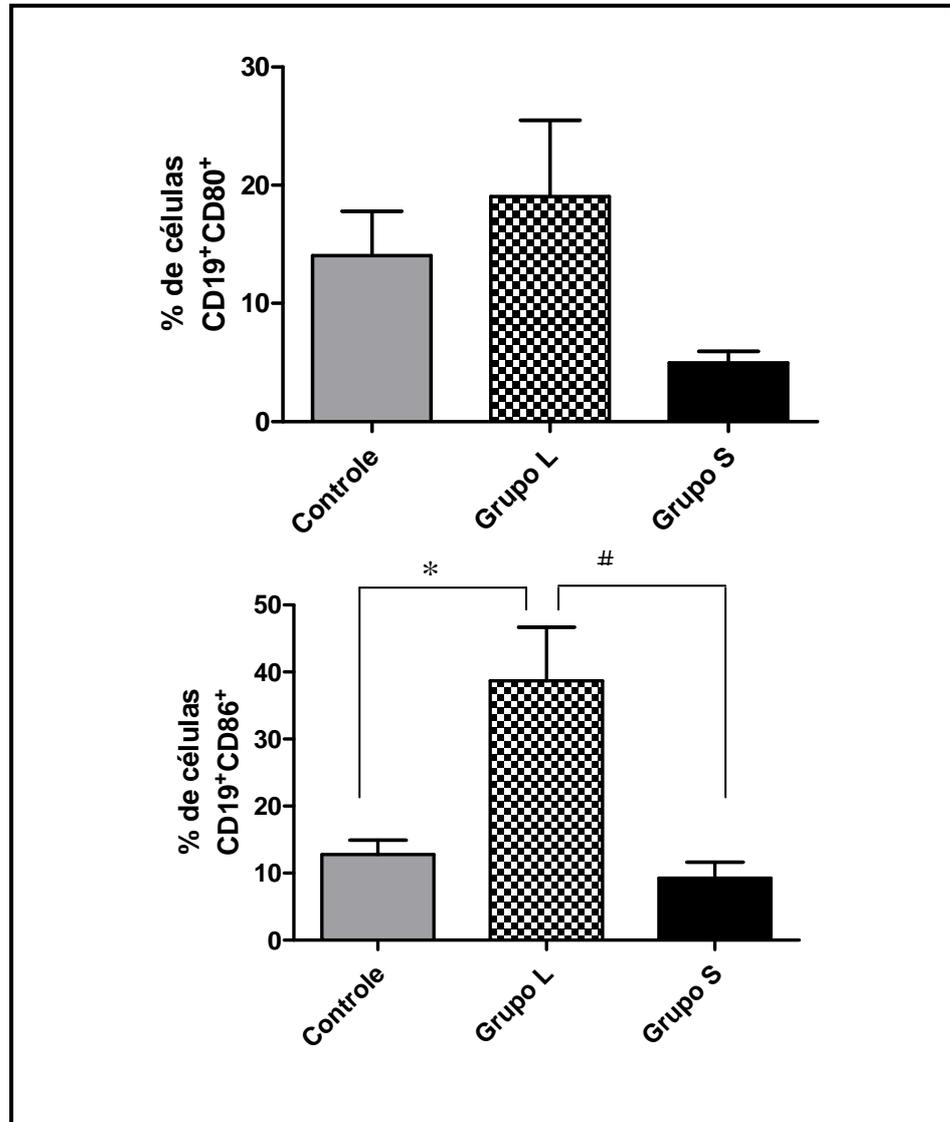


**FIGURA 11.** Percentual de células CD80<sup>+</sup> e CD86<sup>+</sup> em monócitos CD14<sup>+</sup> do sangue periférico de indivíduos do grupo controle (n = 17) e pacientes fibromiálgicos dos grupos L (n = 08) e S (n = 10). O \* representa diferença significativa entre grupo controle e pacientes do grupo L. Dados expressos em média ± erro padrão

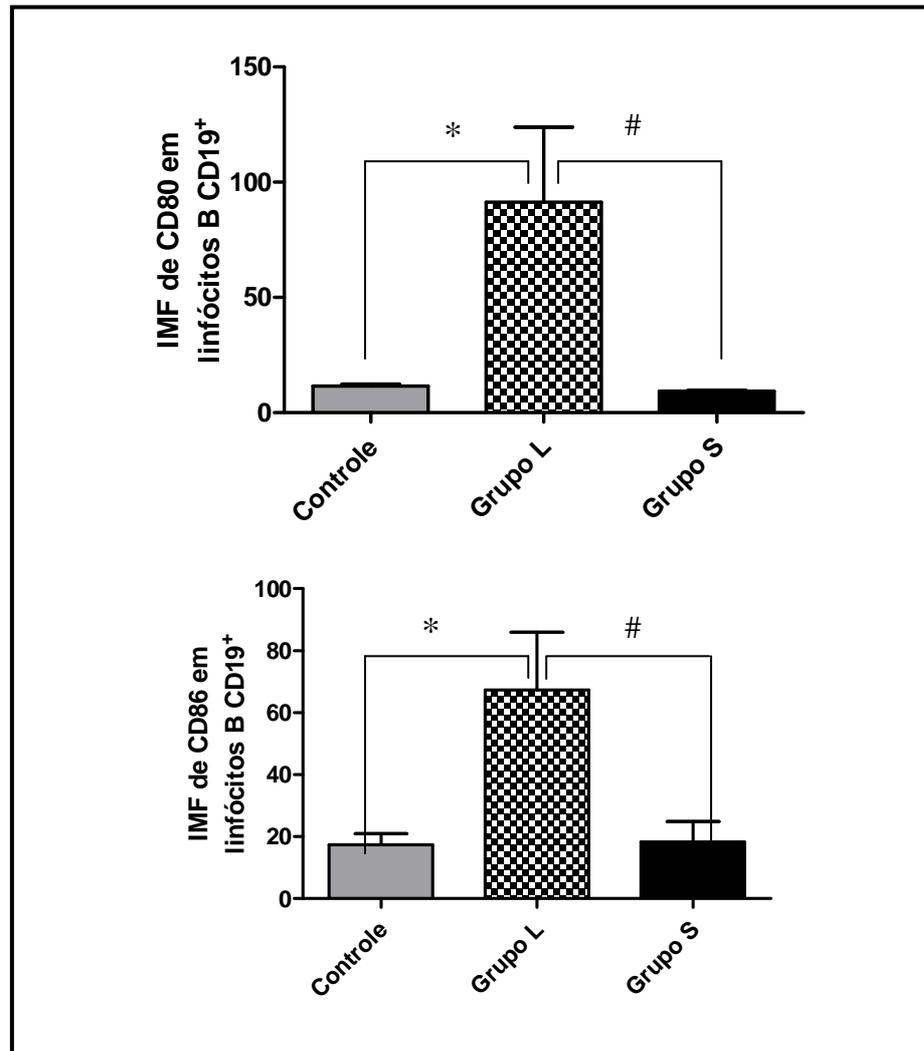


**FIGURA 12.** Intensidade média de fluorescência de CD80 e CD86 em monócitos CD14<sup>+</sup> do sangue periférico de indivíduos do grupo controle (n = 17) e pacientes fibromiálgicos dos grupos L (n = 08) e S (n = 10). O \* representa diferença significativa entre grupo L e grupo controle. Dados expressos em média ± erro padrão.

Na análise da porcentagem de células CD80<sup>+</sup> na subpopulação CD19<sup>+</sup> não foram observadas alterações entre todos os grupos. No entanto, foi evidenciado um aumento na média de intensidade de fluorescência tanto de CD80 quanto CD86 na subpopulação CD19<sup>+</sup> no grupo L quando comparado ao grupo controle e ao grupo S. O grupo L apresentou ainda, aumento na porcentagem de células CD86<sup>+</sup> na subpopulação CD19<sup>+</sup> quando comparado tanto ao grupo S quanto os indivíduos do grupo controle (**FIG.13 e 14**).

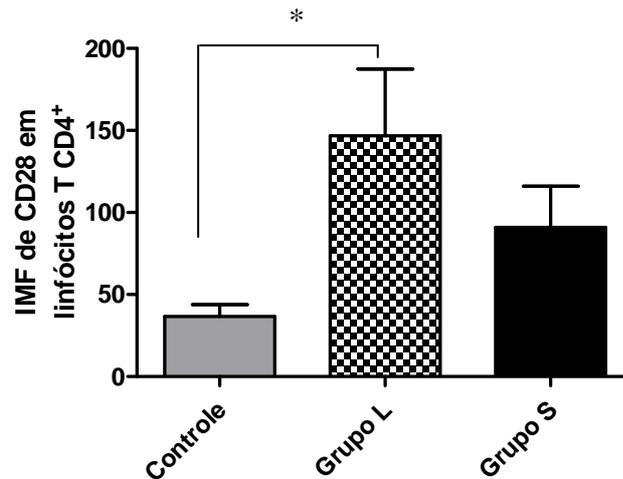


**FIGURA 13.** Porcentagem de células expressando CD80 ou CD86 na população de linfócitos CD19<sup>+</sup> do sangue periférico de indivíduos do grupo controle (n = 17) e pacientes fibromiálgicos dos grupos L (n = 08) e S (n = 10). O \* representa diferença significativa entre grupo L e grupo controle e o # representa diferença significativa entre grupo L e grupo S. Dados expressos em média ± erro padrão.



**FIGURA 14.** Intensidade média de fluorescência de CD80 e CD68 em linfócitos CD19<sup>+</sup> do sangue periférico de indivíduos do grupo controle (n = 17) e pacientes fibromiálgicos dos grupos L (n = 08) e S (n = 10). O \* representa diferença significativa entre grupo L e grupo controle e o # representa diferença significativa entre grupo L e grupo S. Dados expressos em média ± erro padrão.

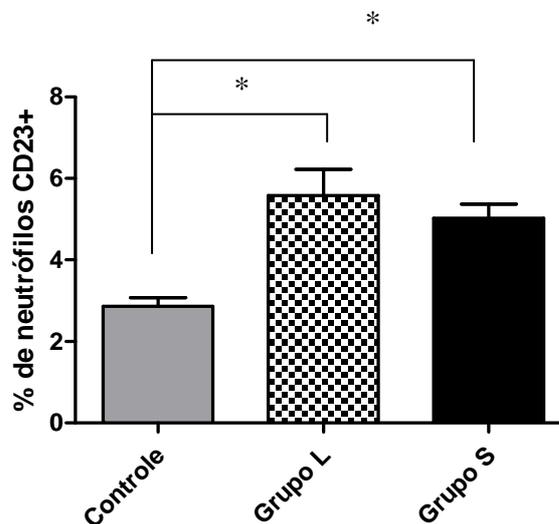
Evidenciamos ainda, um aumento na média de intensidade de fluorescência da molécula CD28 na subpopulação de linfócitos T CD4<sup>+</sup> no grupo L quando comparado aos indivíduos do grupo controle (**FIG.15**).



**FIGURA 15.** Análise da média de intensidade de fluorescência da molécula coestimulatória CD28 na superfície de linfócitos T ( $CD4^+$ ) do sangue periférico dos indivíduos do grupo controle ( $n = 17$ ) e pacientes fibromiálgicos dos grupos L ( $n = 08$ ) e S ( $n = 10$ ). O \* representa diferença significativa entre grupo L. Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão.

#### 5.4 Análise de neutrófilos $CD23^+$ :

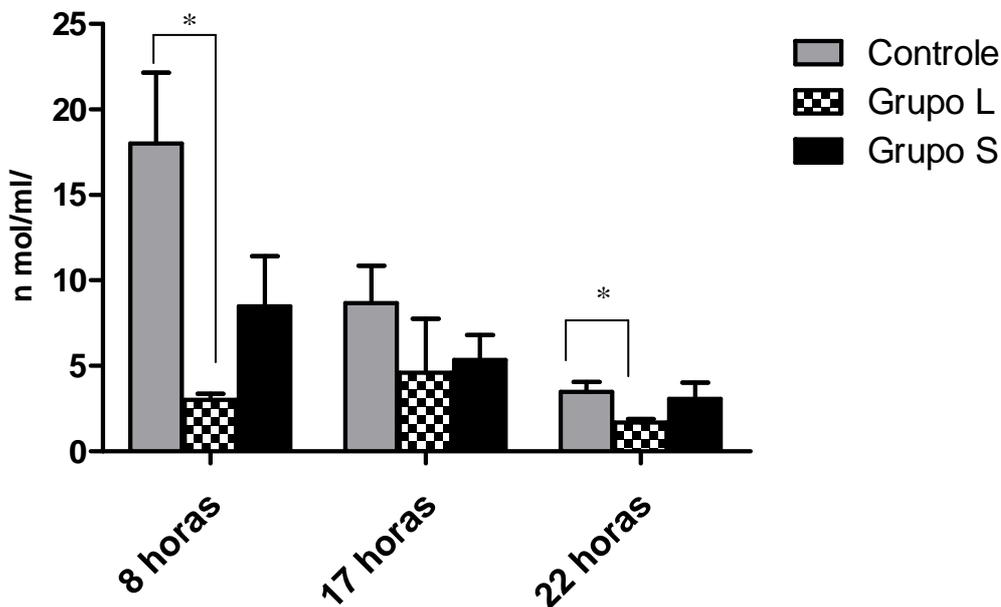
A análise dos dados demonstrou um percentual significativamente maior de neutrófilos  $CD23^+$  em ambos os grupos de pacientes fibromiálgicos em relação aos indivíduos do grupo controle (**FIG. 16**)



**FIGURA 16.** Percentual de neutrófilos  $CD23^+$  no sangue periférico de indivíduos do grupo controle ( $n = 17$ ) e pacientes fibromiálgicos dos grupos L ( $n = 08$ ) e S ( $n = 10$ ). As barras representam percentual médio de neutrófilos  $CD23^+$  na população de neutrófilos acompanhado do erro padrão. Os asteriscos representam diferença significativa entre indivíduos do grupo controle e os pacientes do grupo L e do grupo S. Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão.

### 5.5 Níveis de cortisol salivar:

A **FIG. 17** demonstra a média dos níveis salivares de cortisol de pacientes fibromiálgicos do grupo L, do grupo S e dos indivíduos do grupo controle, nos períodos de 08 horas, 17 horas e 22 horas respectivamente. Foi observada uma diminuição na concentração do cortisol salivar apenas do grupo L quando comparado com o grupo controle nos horários de 08 e 22 horas.



**FIGURA 17.** Concentrações de cortisol salivar em indivíduos do grupo controle (n = 17) e pacientes fibromiálgicos dos grupos L (n = 08) e S (n = 10). As amostras foram colhidas nos horários de 8, 17 e 22 horas. A diferença estatística está identificada pelo \* em comparação com o grupo controle. Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão

### 5.6 Avaliação psicológica e neuropsicológica das fibromiálgicas:

De acordo com a avaliação clínica psiquiátrica, 54% das fibromiálgicas apresentaram depressão.

Na avaliação da impulsividade pelo questionário BIS-11 observou-se um aumento na impulsividade atencional, motora e no índice total (BIS total) nas fibromiálgicas quando comparadas aos indivíduos do grupo controle. Porém em relação à impulsividade sem planejamento não encontrou-se diferença entre os grupos (**TAB. 5**).

Ao avaliar o perfil de personalidade através do questionário NEO-PI-R evidenciou-se alto índice de neuroticismo nas fibromiálgicas, nas subfacetas

hostilidade, impulsividade e vulnerabilidade, quando comparadas aos indivíduos do grupo controle. As subfacetas da personalidade estão especificadas na (TAB. 6).

Na avaliação dos questionários não foi possível subdividir os pacientes segundo o genótipo do 5HTTLPR, porque alguns pacientes não preencheram os questionários o que reduziu o número amostral dificultando a análise estatística dos subgrupos. Desta forma, foi realizada estratégia diferente comparando todos os pacientes como um único grupo aos indivíduos do grupo controle. Diante disto, foram analisados os questionários de 10 controles e 10 fibromiálgicas.

**TABELA 5**

Avaliação da impulsividade realizada pelo questionário BIS em indivíduos do grupo controle e fibromiálgicas.

	<b>Controles</b>	<b>Fibromiálgicas</b>
	<b>saudáveis (n = 10)</b>	<b>(n = 10)</b>
Impulsividade por falta de atenção	16,75 ± 0,75	<b>20,23 ± 0,53**</b>
Impulsividade Motora	19,25 ± 1,47	<b>25,31 ± 1,33*</b>
Impulsividade sem planejamento	21,58 ± 1,76	26,80 ± 2,15
BIS total	57,58 ± 3,59	<b>71,62 ± 3,13*</b>

Dados expressos em média ± erro padrão

\* p < 0,05 entre pacientes e grupo controle

\*\* p < 0,005 entre os grupos de pacientes

TABELA 6

Avaliação da personalidade através do questionário *NEO Personality Inventory – Revised* (Neo PI-R) em indivíduos do grupo controle e pacientes fibromiálgicos

NEO	Controles Saudáveis (n = 10)	Fibromiálgicas (n = 10)
Ansiedade (N1)	17,17 ± 1,10	20,78 ± 1,90
Hostilidade (N2)	10,92 ± 0,70	<b>16,00 ± 1,80*</b>
Depressão (N3)	12,75 ± 1,30	16,22 ± 2,60
Autoconsciência (N4)	16,25 ± 0,86	17,78 ± 1,26
Impulsividade (N5)	13,17 ± 0,82	<b>18,78 ± 0,74*</b>
Vulnerabilidade (N6)	11,83 ± 1,20	<b>17,56 ± 1,90*</b>
Confiança (A1)	19,83 ± 1,60	19,00 ± 1,63
Retidão (A2)	23,17 ± 0,94	25,67 ± 0,87
Altruísmo (A3)	23,75 ± 1,00	25,00 ± 1,30
Complacência (A4)	21,08 ± 0,86	21,22 ± 1,53
Modéstia (A5)	19,08 ± 0,83	19,89 ± 1,39
Sensibilidade (A6)	21,17 ± 1,00	21,11 ± 1,43
Acolhimento (E1)	23,08 ± 1,28	21,11 ± 1,91
Gregariedade (E2)	17,75 ± 1,58	15,22 ± 2,34
Assertividade (E3)	14,42 ± 0,93	13,11 ± 1,70
Atividade (E4)	18,42 ± 0,67	19,44 ± 1,50
Procura Excitação (E5)	14,33 ± 1,04	12,00 ± 1,10
Emoções Positivas (E6)	19,00 ± 1,67	14,89 ± 2,12
Fantasia (O1)	16,42 ± 1,71	12,56 ± 1,61
Estética (O2)	19,08 ± 1,64	14,33 ± 2,01
Sentimentos (O3)	17,25 ± 0,95	16,56 ± 1,40
Ações (O4)	15,67 ± 1,11	13,56 ± 1,00
Ideais (O5)	18,83 ± 1,28	<b>12,44 ± 1,56*</b>
Valores (O6)	18,67 ± 1,16	16,11 ± 1,30
Competência (C1)	20,58 ± 0,94	21,11 ± 0,75
Ordem (C2)	19,17 ± 1,20	15,78 ± 2,70
Obediência ao dever (C3)	25,17 ± 0,79	24,56 ± 0,95
Luta/realização (C4)	18,75 ± 0,97	20,78 ± 1,44
Autodisciplina (C5)	21,00 ± 1,09	21,22 ± 1,19
Deliberação (C6)	19,00 ± 1,18	17,56 ± 1,90
<b>Neuroticismo (NT)</b>	82,08 ± 4,50	<b>107,00 ± 7,93*</b>
<b>Extroversão (ET)</b>	107,00 ± 5,10	95,80 ± 7,00
<b>Abertura a experiência (OT)</b>	105,92 ± 5,98	85,56 ± 6,60
<b>Socialização (AT)</b>	128,08 ± 4,30	132,00 ± 5,72
<b>Realização (CT)</b>	123,67 ± 3,70	121,00 ± 5,70

Dados expressos em média ± desvio padrão

\* p < 0,05 entre pacientes e grupo controle

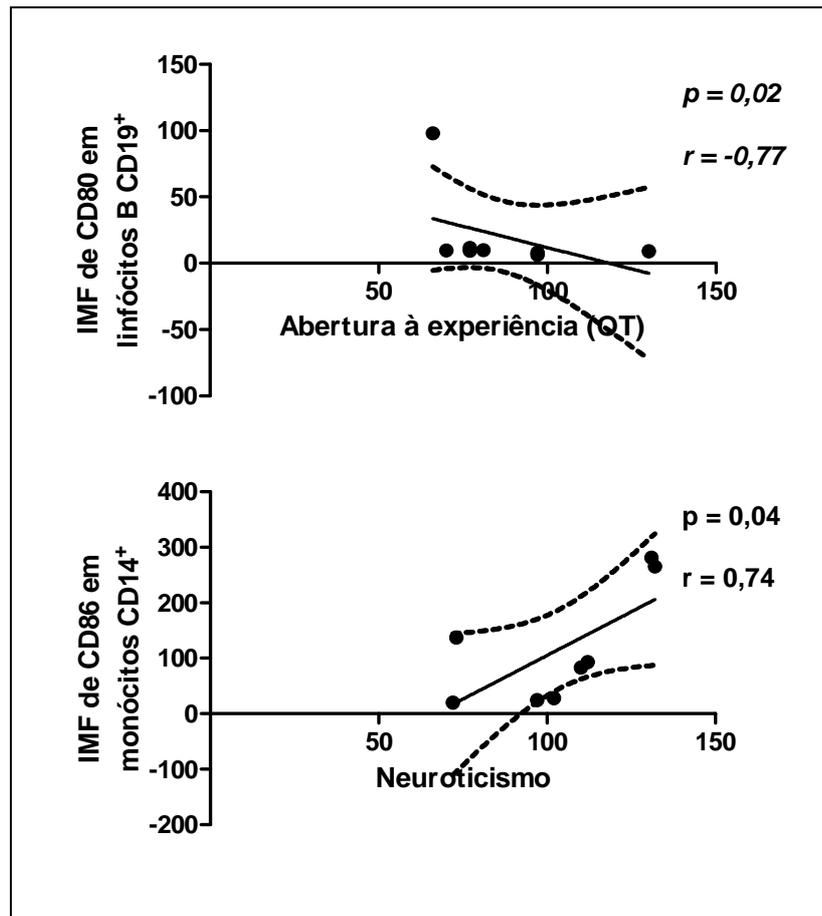
**TABELA 7**

Resumo dos resultados: fibromiálgicos do grupo L e grupo S

GRUPO L	GRUPO S
↑ % Neutrófilos CD23 <sup>+</sup>	↑ % Neutrófilos CD23 <sup>+</sup>
↑ % Monócitos CD16 <sup>+</sup>	↑ Neuroticismo
↑ IMF de CD86 em monócitos CD14 <sup>+</sup>	↑ Impulsividade
↑ IMF de CD86 em linfócitos B CD19 <sup>+</sup>	
↑ IMF de CD80 em linfócitos B CD19 <sup>+</sup>	
↑ IMF de CD28 em linfócitos T CD4 <sup>+</sup>	
↑ % de linfócitos B CD19 <sup>+</sup> CD86 <sup>+</sup>	
↓ Cortisol 8 horas e 22 horas	
↑ Neuroticismo	
↑ Impulsividade	

### 5.7 Correlações

Foram realizadas as análises de correlações entre os parâmetros imunológicos, endócrinos e comportamentais. Encontrou-se forte correlação negativa em Abertura à Experiência (OT) com IMF de linfócitos B CD19<sup>+</sup>CD80<sup>+</sup> e forte correlação positiva entre Neuroticismo (NT) e IMF de monócitos CD14<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup> como representados na **FIG. 18**. Não foram encontradas outras correlações significativas.



**FIGURA 18.** Correlação entre o escore de abertura à experiência e IMF de CD80 em linfócitos B CD19<sup>+</sup> e entre o escore de neuroticismo e IMF de CD86 e monócitos CD14<sup>+</sup>.

## 6 DISCUSSÃO

No presente estudo avaliamos alguns parâmetros imunológicos em pacientes fibromiálgicas, categorizadas de acordo com o polimorfismo da região promotora do gene do transportador da serotonina, que é um modelo metodológico já utilizado previamente por nosso grupo de pesquisa. Em trabalho prévio, realizado em nosso laboratório, observamos que pacientes com diferentes genótipos para o 5-HTTLPR possuem algumas variações endócrinas, imunológicas e comportamentais distintas. No que diz respeito às alterações imunológicas, percebeu-se que o grupo L é um grupo caracterizado por aumento no número absoluto de neutrófilos e com aumento de linfócitos T recém-ativados  $CD4^+CD25^{low}$ . Já o grupo S é caracterizado por aumento de linfócitos T cronicamente ativados  $CD4^+HLA-DR^+$  e redução de células Natural Killer (CARVALHO *et al.*, 2008). Diante dessa diferença entre os grupos, resolvemos avaliar outros parâmetros imunológicos, seguindo a mesma abordagem metodológica. Determinamos também, nessas pacientes, os níveis de cortisol salivar e avaliamos alguns parâmetros comportamentais.

Devido ao fato do cortisol ser um hormônio que é liberado em pulsos e influenciado pelo ritmo circadiano, foram determinados três horários para a sua coleta. A primeira coleta foi realizada no período da manhã, às 8h que é o horário que ocorre a maior liberação do hormônio. A outra às 17h, onde ocorre novo pico de liberação e a última às 22h associada com menor liberação do cortisol (HUCKLEBRIDGE, *et al.*, 2005).

Foi verificada no presente estudo, uma hipocortisolemia observada nos pacientes do grupo L quando comparados aos indivíduos do grupo controle, nos horários de 8 e 22 horas. Corroborando parcialmente com nossos dados, uma vez que não foram avaliados subgrupos de fibromiálgicos, outros estudos observaram que as concentrações de cortisol estavam abaixo do nível encontrado em sujeitos saudáveis (CARVALHO *et al.*, 2008; GUR *et al.*, 2004; MACEDO *et al.*, 2008). Em pesquisas com testes de estímulo para ativação do eixo HPA, associados à hipocortisolemia encontrada, confirmam uma falha deste eixo. Isto pode ser explicado por alterações em diversos pontos desta alça, ou seja, tanto na liberação de ACTH pela hipófise quanto na de cortisol pela adrenal (KIRNAP *et al.*, 2001; TORPY *et al.*, 2000; WINGENFELD *et al.*, 2008).

Alguns estudos contradizem estes resultados, no momento em que não foram encontradas diferenças significativas nos níveis de cortisol quando comparados fibromiálgicos e controles saudáveis (KLERMAN *et al.*, 2001). Há ainda estudos que já demonstraram até mesmo aumento tanto nos níveis de cortisol quanto de ACTH nos fibromiálgicos quando comparados a grupos controles (McLEAN *et al.*, 2005; RIEDEL, LAYKA and NEECK 1998). Estes e outros estudos reafirmam a presença de grande heterogeneidade entre os pacientes, fortalecendo a nossa hipótese inicial de que seria possível a existência de subgrupos de pacientes fibromiálgicos, os quais poderiam ser diferenciados por alguns parâmetros como, por exemplo, os genéticos. É observado que pacientes que possuem maior predisposição à depressão, encontram-se incluídos no grupo S (BAZZICHI *et al.*, 2006, CARVALHO *et al.*, 2008). Entretanto, indivíduos deprimidos apresentam hipercortisolemia (PARKER *et al.*, 2003; RAISON *et al.*, 2003), o que por sua vez, poderia influenciar nos valores do grupo S.

Com relação aos parâmetros imunológicos, analisamos, dentre outras coisas, os níveis de algumas sub-populações de monócitos. Em humanos, as sub-populações de monócitos são definidas baseadas no padrão de expressão do receptor de lipopolissacarídeo (LPS), CD14, e pelo receptor 3 Fc-gamma de imunoglobulina (FcγR-III) CD16. Com esse padrão de divisão populacional são encontrados basicamente dois sub-grupos de monócitos: os denominados monócitos clássicos e os monócitos não-clássicos. Os primeiros são caracterizados pela expressão de CD14 e ausência de CD16 (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>), já os segundos pela expressão tanto de CD14 quanto de CD16 (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>). Os monócitos clássicos (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>), que representam cerca de 90% dos monócitos totais em indivíduos saudáveis, são células grandes com alta atividade fagocítica e concentração de mieloperoxidase, altos níveis de liberação de superóxido e produção predominantemente de IL-10, sob estímulo de LPS *in vitro*. Em contraste, os monócitos não-clássicos (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>) são menores, possuem baixa atividade fagocítica e concentração de peroxidase, produzem grandes quantidades de TNF, IL-1 e IL-6 em resposta a estimulação com LPS e possuem alta expressão de HLA-DR, os que as caracteriza como melhores apresentadores de antígenos que os monócitos clássicos (PASSLICK, FLIEGER and ZIEGLER-HEITBROCK, 1989; revisado por ZIEGLER-HEITBROCK, 2007). Em relação ao nível de maturação dessas células, é observado por estudos *in vitro*, que os monócitos CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>

originam-se de monócitos CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> indicando que os monócitos não clássicos são mais maduros que os monócitos clássicos (ZIEGLER-HEITBROCK *et al.*, 1993).

No presente estudo, observamos que os níveis sanguíneos de monócitos CD16<sup>+</sup> estão aumentados apenas no grupo L, quando comparados aos indivíduos do grupo controle. Este dado vem reforçar a sugestão de que os indivíduos deste grupo genotípico apresentam um estado pró-inflamatório ativo, com aumento de células T recém ativadas. Os monócitos CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> produzem altos níveis de IL-1, TNF-alfa, IL-6, citocinas importantes na comunicação entre o sistema imune periférico e o sistema neuroendócrino.

Em alguns processos patológicos, os monócitos CD16<sup>+</sup> encontram-se em níveis elevados como, por exemplo, na sepsis, AIDS, tuberculose e artrite reumatóide (ZIEGLER-HEITBROCK, 1996, KAWANAKA, 2002). Em estudo realizado por Kawanaka (2002) foi observado que a expressão de CD16 tem uma correlação positiva com o aumento de atividade da doença. Tal correlação é bastante interessante e, trabalhos futuros devem ser realizados objetivando avaliar a possibilidade de se usar este parâmetro como marcador de prognóstico em fibromialgia.

Na fibromialgia, o prognóstico pode ser avaliado através da intensidade e da freqüência de seus principais sintomas, dentre eles o distúrbio de sono e a dor. Com relação ao primeiro deles, ressalta-se um estudo realizado por Dimitrov *et al.* (2007), no qual os autores relatam que os monócitos CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> diminuem com o aumento na quantidade do sono. Pacientes portadores de fibromialgia possuem distúrbios de sono (WOLFE *et al.*, 1990) podendo sugerir que a falta do mesmo possa levar a um aumento nos níveis dessas células inflamatórias.

Os fibromiálgicos apresentam muita dor e, em conseqüência da mesma, reduzem suas atividades físicas e tornam-se na maioria das vezes, sedentários. Nesse contexto, torna-se importante relatar aqui um estudo no qual se compara os níveis de CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> entre indivíduos fisicamente ativos e inativos, no qual se demonstrou que os últimos possuem um aumento na porcentagem desta população celular. Interessantemente, se os indivíduos sedentários começam a praticar exercício físico, a porcentagem dessas células é diminuída (TIMMERMAN *et al.*, 2008). O que poderia explicar, pelo menos em parte, o benefício do exercício sobre o processo algico (ORTEGA *et al.*, 2009).

Os dados acima, quando analisados em conjunto, ressaltam a importância de se continuar os estudos sobre monócitos CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> em pacientes fibromiálgicas. Além disso, como já relatado, esses monócitos produzem níveis elevados de IL-6, citocina sabidamente importante na indução de hiperalgesia (revisado por MAECHAND *et al.*, 2005).

Uma vez observado que os fibromiálgicos possuem aumento de linfócitos T ativados (CARVALHO *et al.*, 2008), uma questão por nós levantada foi a suposição de que a expressão de moléculas co-estimulatórias por células apresentadoras de antígenos e por linfócitos T poderia também estar aumentada, o que confirmaria esse estado pró-inflamatório. O grupo de moléculas co-estimulatórias melhor caracterizado até o momento são os membros da família B7 que incluem: a molécula CD28, que é expressa constitutivamente na superfície das células T; a CTLA-4 também é expressa nessas células e rapidamente regulada durante a interação aos seus ligantes, B7-1 e B7-2 (CD80 e CD86) expressos na superfície das células apresentadoras de antígeno. Essas moléculas possuem uma importante função após ligação peptídeo MHC, exercendo um segundo sinal para a ativação e regulação na tolerância de células T. Na ausência desse segundo sinal os linfócitos T não são ativados adequadamente permanecendo anérgicos ou iniciando o processo de eliminação por apoptose. Tanto o CD28 quanto o CTLA-4 se ligam a CD80 e CD86. Entretanto é o CD28 que promove a ativação celular, enquanto que o CTLA-4 inibe a ativação celular (KRUMMEL and ALLISON, 1995; revisado por FREEMAN *et al.*, 2002).

A ligação de CD28 de célula T naive com os seus ligantes nas células apresentadoras, CD80 e CD86, acarreta um potente sinal co-estimulatório para ativação de células T, resultando na produção de IL-2, expressão de CD25 e início da ativação do ciclo celular (KRUMMEL and ALLISON, 1995; revisado por FREEMAN *et al.*, 2002).

Assim como a ligação de B7-1 e B7-2 (CD80 e CD86) em linfócitos B com CD28 em linfócitos T são fundamentais para a ativação e proliferação das células T, esta ligação cruzada também é de fundamental importância para que as células B iniciem o ciclo celular e produzam imunoglobulinas (Ig) (DURIE *et al.*, 1994)

Observamos um aumento da densidade de expressão de CD86 na superfície de monócitos CD14<sup>+</sup> apenas no grupo L, quando comparado aos indivíduos do grupo controle. Além disso, apenas os pacientes deste grupo apresentaram

elevados níveis de linfócitos B CD19<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup>, com aumento da IMF de CD86 e CD80 na superfície dessas células. A cinética de expressão de CD80 e CD86 é diferente. O CD86 é expresso constitutivamente em baixos níveis e aumenta rapidamente, enquanto que o CD80 é expresso mais tardiamente (revisado por FREEMAN *et al.*, 2002). O aumento da IMF de CD86 encontrados em nosso estudo no grupo L condiz com uma resposta de maior apresentação de antígenos que pode conseqüentemente, aumentar a ativação das células T como de fato evidenciado por Carvalho *et al.* (2008) em que observaram aumento de linfócitos T recém-ativados CD4<sup>+</sup>CD25<sup>low</sup> em pacientes do grupo L.

A expressão aumentada de CD80 e CD86 tem sido descrita também em número bastante relevante de doenças autoimunes (FOLZENLOGEN, *et al.*, 1997; LIU *et al.*, 1999; ODOBASIC, *et al.*, 2008; NAKAJIMA *et al.*, 1995; WINDHAGEN *et al.*, 1995). Estudo feito com modelo de lúpus em camundongos por Nakajima *et al.* (1996) demonstrou que o bloqueio de moléculas B7 com anticorpos monoclonais específicos para CD80 e CD86 podem suprimir o início ou progressão da doença. Com o bloqueio específico de CD86 ocorreu a inibição de maneira eficiente da produção de autoanticorpos. Além da diminuição da produção de autoanticorpos, o bloqueio de ambas as moléculas, ou apenas de CD86, levou ainda a uma diminuição dos mRNA para IL-2, INF- $\gamma$ , IL-4 e IL-6. Estes dados inferem sobre crítico papel de CD86 no desenvolvimento do lúpus e nos levam a analisar mais profundamente a repercussão destas alterações observadas em fibromialgia.

Para reforçar a presença de distintos papéis referentes ao CD80 e CD86, Odobasic *et al.* (2008) realizaram a avaliação destas moléculas em modelos de artrite induzida por antígeno em camundongos C57BL/6. Com o bloqueio de ambas as moléculas, a artrite foi significativamente suprimida, com diminuição significativa da sinovite, diminuição da degradação da cartilagem, diminuição da exsudação de leucócitos no espaço articular e diminuição da lesão óssea. A neutralização de CD80 diminuiu o acúmulo de células T CD4<sup>+</sup> nas articulações e aumentou os níveis circulantes de IL-4, enquanto que o bloqueio de CD86 suprimiu a produção de IL-17 pelos esplenócitos. Desse modo, pensa-se que seria interessante o bloqueio da co-estimulação nas patologias auto-imunes ou mesmo na fibromilagia, uma vez que expressam aumento da IMF dessas moléculas. Porém tem sido demonstrado que o bloqueio completo com modelos de camundongos knockout para as moléculas CD80 e CD86 em diabetes experimental acarretam na diminuição de células T regulatórias

(CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>). Estes dados indicam que tanto a supressão completa, quanto o aumento destas moléculas co-estimulatórias acarreta em um desequilíbrio no sistema imune aumentando a atividade inflamatória do mesmo e muito cuidado deve-se ter ao se propor uma terapia com o propósito de bloquear essas moléculas.

Resumindo em parte os resultados deste trabalho, percebemos que os indivíduos do grupo L apresentam uma correspondência com a inflamação, com aumento de moléculas coestimulatórias da família B7 (CD86 em APCs e CD28 em linfócitos T CD4<sup>+</sup>) e aumento de monócitos inflamatórios CD16<sup>+</sup>. Sabe-se que o cortisol possui ação anti-inflamatória na qual suprime a diferenciação e proliferação de todas as células imunes e impede a produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 e TNF por inibir o seu fator de transcrição NF-κB, mas não de citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 (revisado por STERNBERG 2006). Portanto, como o apenas os pacientes do grupo L apresentaram baixos níveis de cortisol salivar, é provável que o hipocortisolismo possa explicar, pelo menos em parte, a presença do perfil inflamatório encontrado nesses pacientes. Sabe-se que a IL-10 também diminui a expressão de CD86 em monócitos (LIU *et al.*, 1999) e, em trabalho realizado por Ulceyler *et al.* (2006) foram observadas diminuição tanto do mRNA quanto da proteína de IL-10 em fibromiálgicos. Assim, adicionalmente à hipocortisolemia, baixos níveis de IL-10 poderiam justificar o aumento de CD86 em monócitos dos fibromiálgicos do grupo L em nosso estudo. Trabalhos futuros devem ser realizados para confirmar essa hipótese.

Deng *et al.*, 2005 realizou um trabalho no qual submeteu pacientes alérgicos à administração de prednisolona, um glicocorticoide, e após a administração desta substância, estes pacientes tiveram seus níveis de CD86 solúveis diminuídos. Na fibromialgia, alguns pacientes respondem bem ao tratamento com corticóides, com melhora da dor, enquanto outros não. Nesse contexto, vale ressaltar a importância da IL-6 na hiperalgesia. Considerando que os pacientes fibromiálgicos apresentam elevados níveis de IL6 plasmática, independentemente do grupo genotípico (CARVALHO *et al.*, 2008b), poderíamos especular que, os indivíduos que respondem bem ao tratamento com corticóide são aqueles pertencentes ao grupo genotípico L, com aumento de CD86. Nos pacientes pertencentes ao grupo S, com níveis normais de CD86, a via de sinalização e/ou a origem de IL-6 seria outra.

O GM-CSF é outra molécula capaz de estimular, *in vitro*, o aumento da expressão de CD80 e CD86 em monócitos (LIU *et al.*, 1999). Observamos também a

expressão de CD23 em neutrófilos de pacientes fibromiálgicos no presente em trabalho e CD23 em neutrófilos, é da mesma maneira, estimulado por GM-CSF *in vitro*. Com isto, a avaliação de GM-CSF é um parâmetro interessante que pode ser avaliado futuramente nos fibromiálgicos.

Tem sido evidenciado, em fibromialgia, um perfil relacionado com autoimunidade, pacientes fibromiálgicos apresentam aumento significativo do número de linfócitos B1 CD19<sup>+</sup>CD5, além de importante redução do número de células T regulatórias CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>, tanto no grupo L quanto no grupo S (CARVALHO *et al.*, 2008). Além disso, níveis elevados de anticorpos anti-tireoidianos (PAMUK *et al.*, 2007), de auto-anticorpos contra uma proteína de 68/48KDa (NISHIKAI, *et al* 2001) e de anticorpo antinuclear (FAN), considerado um biomarcador para o lúpus eritematoso (DINERMAN, 1986; SAMERT, 1997), corroboram com a hipótese de autoimunidade em fibromialgia. No presente trabalho, apresentamos mais uma evidência para essa hipótese: o aumento de neutrófilos CD23<sup>+</sup> em ambos os grupos de pacientes analisados. A expressão de CD23 por neutrófilos, não é verificada sob condições normais (VELLA, *et al.*, 1999; YAMAOKA, *et al.*, 1996), mas esta célula foi encontrada aumentada em pacientes com artrite reumatóide (VELLA *et al.*, 1999).

Estudos anteriores realizados no nosso laboratório reforçam participação de neutrófilos na fibromialgia, ao demonstrar que pacientes do grupo L apresentam aumento no número absoluto desse tipo celular, quando comparados aos indivíduos do grupo controle (CARVALHO *et al.*, 2008). Além disso, relatos de outros autores demonstram aumento da expressão de moléculas de adesão e aumento da produção espontânea de peróxido de hidrogênio em neutrófilos de pacientes fibromiálgicos (KAUFMANN *et al.*, 2008; MACEDO *et al.*, 2006).

Neste estudo realizamos ainda a avaliação de alguns parâmetros comportamentais em pacientes fibromiálgicas. Para isso não foi possível subdividir as pacientes em grupos genotípicos, uma vez que o número reduzido de questionários respondidos por grupo inviabilizaria as análises estatísticas. Através das escalas BIS-11 e NEO-PR subescala N5 observamos que as pacientes fibromiálgicas apresentam altos escores de impulsividade atencional, motora e impulsividade total em relação aos indivíduos do grupo controle.

A impulsividade é representada pela impaciência, ações rápidas e impensadas ou precedidas de pouca reflexão sendo relacionada a dificuldades de

focalizar a atenção em todos os elementos circunstanciais, restringindo-se a resposta comportamental a uma reação quase imediata a elementos isolados. Alguns trabalhos têm relatado associação tanto de depressão quanto de ansiedade com altos escores de impulsividade (HUR e KIM, 2009; ANTONINI *et al.*, 2010). Esta é uma possível explicação para os altos escores de impulsividade nos pacientes fibromiálgicos, uma vez que 54% dos pacientes apresentam algum tipo de depressão além de altos escores de ansiedade CARVALHO *et al.*, 2008; WILKE, GOTA and MUZINA, 2010 TAYLOR *et al.*, 2007.

É importante salientar que tanto a depressão quanto a ansiedade estão relacionadas com alterações relacionadas ao sistema serotoninérgico (revisado por LEVINSON, 2006). Do mesmo modo, parece que a impulsividade também está relacionada a via serotoninérgica, pois já foi demonstrado correlação negativa do metabólito da serotonina - o ácido 5-hydroxyindoleacetic (5- HIAA) – e escores de impulsividade (STOLTENBERG and NAG, 2010). Outro estudo que aponta para o papel do sistema serotoninérgico no perfil impulsivo é o realizado por Coccaro *et al.* (1996). Neste estudo observou através da marcação do transportador da serotonina nas plaquetas com paroxetina- $H^3$  que o número de sítio de ligações da paroxetina –  $H^3$  nessas células era inversamente proporcional ao perfil impulsivo-agressivo em pacientes com desordens de personalidade, ou seja, que quanto maior a quantidade do transportador da serotonina nas plaquetas, menor os índices de impulsividade-agressividade. No entanto, outros dois estudos realizaram avaliação da correlação entre impulsividade e o polimorfismo do 5HTTLPR em pacientes dependentes de álcool e em pacientes com desordens explosivas intermitentes, mas não encontraram correlação (COCCARO *et al.*, 2010; PREUSS *et al.*, 2000). Infelizmente não pudemos fazer a correlação do polimorfismo do 5HTTLPR com os escores de impulsividade.

Com relação à análise da personalidade pelo questionário NEO evidenciamos elevados escores no fator neuroticismo (NT) e nas suas subfacetes hostilidade (N2), impulsividade (N5) e vulnerabilidade (N6) nas fibromiálgicas em comparação aos indivíduos do grupo controle. Não encontramos aumento nas subfacetes depressão (N3) e ansiedade e (N4), no entanto a avaliação clínica psiquiátrica dos pacientes observou-se que 54% apresentaram algum grau de depressão, corroborando outros trabalhos (CARVALHO *et al.*, 2008; WILKE, GOTA and MUZINA, 2010).

O fator neuroticismo compreende um domínio da personalidade bem conhecido e descrito. Ele identifica indivíduos que são propensos a sofrimentos psicológicos e podem apresentar altos níveis de ansiedade, depressão, hostilidade, vulnerabilidade, autocrítica e impulsividade. Neuroticismo também inclui idéias irracionais, baixa tolerância à frustração e respostas de *coping* não adaptativas (WATSON & HUBBARD 1996). Nossos achados de altos escores de neuroticismo corroboram, portanto com outro estudo que revelou que pacientes fibromiálgicos são passivos, dependentes, tem baixo-estima, irritabilidade e respostas de *coping* mal adaptadas (WOLFE, 1997). Além disto, o neuroticismo é tido como o preditor mais eficaz de satisfação com a vida, felicidade e afeto negativo (DeNEVE & COOPER, 1998).

Watson & Hubbard (1996) justificam que, de alguma forma, as pessoas que possuem altos escores em neuroticismo criam problemas ativamente para eles mesmos. Eles argumentam ainda que estes indivíduos possuam a tendência de apresentar avaliações negativas do ambiente, ou seja, tendem a interpretar estímulos de maneira negativa e ameaçadora, e por este motivo tendem a ver ameaças, problemas e crises onde não existem.

A subfaceta hostilidade, ou desajustamento psicossocial, do fator neuroticismo, contém itens que descrevem comportamentos sexuais de risco ou atípicos, adição ou consumo exagerado de álcool, hostilidade com pessoas e animais, e necessidade recorrente de chamar a atenção dentre outras (WATSON & HUBBARD 1996). Os altos índices de hostilidade por parte dos fibromiálgicos encontrados no presente trabalho podem ocorrer talvez como uma tentativa de aliviar a dor por parte dessas pacientes. Existe uma pesquisa feita por van Middendorp *et al.* (2009) a qual pode-se tentar explicar este mecanismo. Estes pesquisadores evidenciaram que as pacientes fibromiálgicas as quais expressam sua raiva possuem uma diminuição na dor, enquanto que as que não expressam sua raiva têm aumento dos sintomas dolorosos.

A vulnerabilidade (N6) é composta por itens que descrevem medo de críticas, insegurança, baixa auto-estima, dificuldade em tomar decisões, medo de abandono de pessoas mais próximas. Altos escores estão relacionados a pessoas mais nervosas e estressadas e baixos escores a pessoas mais calmas e resistentes. (WATSON & HUBBARD 1996). Os altos escores de vulnerabilidade visto nos fibromiálgicos do presente estudo podem de certa forma, justificar a atribuição de

agentes estressores físicos e psicológicos ao início dos sintomas clínicos presentes nesta síndrome (DESSEIN *et al.*, 1997; CLAUW and CHROUSOS, 1997).

É acreditado que pessoas com alto neuroticismo possuem maior vulnerabilidade à saúde as quais podem expressar hábitos de vida menos saudáveis assim como apresentar maior associação com doenças crônicas e mortalidade (GOODWIN and FRIEDMAN, 2006; TERRACCIANO, *et al.*, 2008). Com o objetivo de tentar esclarecer a associação de determinados comportamentos com a saúde, alguns pesquisadores recentemente tem direcionado seus estudos para o entendimento das disfunções imunes e suas relações com personalidade e comportamento (JONASSAINT *et al.*, 2010; SUTIN, *et al.*, 2010). São encontrados, por exemplo, que quanto maiores os escores de neuroticismo, maiores os níveis de IL-6 (SUTIN, *et al.*, 2010), que como se sabe, é uma citocina pró-inflamatória (revisado por MAGGIO *et al.*, 2006). Encontramos correlação com IMF de CD14<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup>, que também pode determinar um papel de maior apresentação de antígenos e maior ativação celular corroborando com a presença de uma associação entre inflamação e escores de neuroticismo.

Em curioso estudo realizado com mulheres obesas, foi observada forte associação entre adiposidade, neuroticismo e inflamação (CAPURON *et al.*, 2011). Interessante notar que as fibromiálgicas da nossa pesquisa não possuem IMC elevados para serem consideradas obesas, sendo que a associação prevalece entre a desregulação do sistema imune e neuropsíquico.

Jonassaint *et al.* (2010) encontrou em seu estudo que o fator Abertura à Experiência se encontrava associado com baixos níveis de proteína C reativa (CRP), um dos marcadores do processo inflamatório. As pessoas que possuem altos escores em Abertura à Experiência são descritos como sendo mais abertas a experimentar novas idéias e experiências enquanto as que possuem baixos escores se comportam de maneira mais conservadora, convencionais e dogmáticos (WATSON & HUBBARD 1996). É interessante a demonstração de pessoas que possuem abertura a novas idéias e experiências possuem baixos níveis de marcadores da inflamação como CRP demonstrado por Jonassaint *et al.*, (2010) e diminuição da IMF de linfócitos CD19<sup>+</sup>CD80<sup>+</sup> como demonstrado por nossa análise.

Ambas as correlações significativas apresentadas em nosso trabalho nos permitem admitir a intrigante e importante relação existente entre os sistemas

imunológico e neuropsíquico como demonstrada por diversos outros autores já citados anteriormente.

## 7 CONCLUSÃO

1 – No presente estudo observamos a participação tanto do sistema neuroendócrino quanto do sistema imunológico nos fibromiálgicos. A discordância dos dados relatados na literatura provavelmente se deve à existência de subgrupos de fibromiálgicos, com diferentes fenótipos celulares e alterações endócrinas.

2 – Os resultados deste trabalho sugerem que a fibromialgia seja influenciada pela genética do transportador da serotonina, determinando distintos grupos de pacientes, sendo o grupo L caracterizado por hipocortisolismo, aumento da expressão de moléculas co-estimulatórias da família B7 (CD80 e CD86) em monócitos e linfócitos B, CD28 em linfócitos T, assim como aumento na porcentagem de “macrófagos like”.

3 – Portadores de fibromialgia representados tanto pelo grupo L quanto pelo grupo S, apresentam aumento de neutrófilos CD23<sup>+</sup>, o que explica pelo menos em parte, uma conexão com auto-imunidade.

4 – Encontramos a existência de alterações comportamentais em pacientes portadores de fibromialgia visto que foram observados elevados índices do fator neuroticismo em suas subfacetes impulsividade, hostilidade e vulnerabilidade através do Inventário de Personalidade NEO (NEO) assim como elevados escores de impulsividade motora, impulsividade por falta de planejamento e impulsividade total através da Escala de Impulsividade de Barrat (BIS).

5 – Observamos a presença de correlação entre parâmetros psicológicos e imunológicos em portadores de fibromialgia através da demonstração da existência de forte correlação negativa entre abertura à experiência (fator da personalidade do questionário NEO) com IMF de CD80 em linfócitos B CD19<sup>+</sup> e forte correlação positiva entre neuroticismo com IMF de CD86 em monócitos CD14<sup>+</sup>.

Finalmente, diante dos dados sobre imunofenotipagem e dosagem de cortisol aqui apresentados sugerem estarmos tratando de pelo menos duas entidades nosológicas distintas. Além do mais, a correlação entre os dados imunológicos e dois traços de personalidade (neuroticismo e abertura à experiência) aponta para a importância de se continuar o estudo da fibromialgia no contexto da psiconeuroimunologia.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-SALAM OM, BAIUOMY AR, ARBID MS. Studies on the anti-inflammatory effect of fluoxetine in the rat. **Pharmacol Res** 2004, 49(2):119-31.

ALVAREZ, S.I., FLORES, J.L.B., PÉREZ, M.C.G., OSTARIZ E.S., MIGUEL, C.A. y TERRAZ, J.P.B. Evaluacion de la cortisoluria en mujeres diagnosticadas de fibromialgia. **Med Clin (Barc)** 2009,133(7): 255–257

ANTONINI A, SIRI C, SANTANGELO G, CILIA R, POLETTI M, CANESI M, CAPORALI A, MANCINI F, PEZZOLI G, CERAVOLO R, BONUCCELLI U, BARONE P. Impulsivity and compulsivity in drug-naïve patients with Parkinson's disease. **Mov Disord.** 2011 Feb 15, 26(3): 464-8.

BARTOLOMUCCI, A. *et al.* Increased vulnerability to psychosocial stress in heterozygous serotonin transporter knockout mice. **Disease Models & Mechanisms** 2010, 3: 459-470.

BAULFOUR apud GOLDENBERG, DL. Fibromyalgia syndrome: an emerging but controversial condition. **JAMA** 1987, 257: 2782-7.

BAZZICHI L, GIANNACCINI G, BETTI L, MASCIA G, FABBRINI L, ITALIANI P, DE FEO F, GIULIANO T, GIACOMELLI C, ROSSI A, LUCACCHINI A, BOMBARDIERI S. Alteration of serotonin transporter density and activity in fibromyalgia. **Arthritis Res Ther.** 2006, 8(4): R99.

BAZZICHI, L., ROSSI, A., GIULIANO, T., DE FEO, F., GIACOMELLI, C., CONSENSI, A., CIAPPARELLI, A., CONSOLI, G., DELL'OSSO, L. AND BOMBARDIERI, S.'Association between thyroid autoimmunity and fibromyalgic disease severity'.**Clin Rheumatol** 2007, 26 (12): 2115-2120.

BESEDOVSKY HO, DEL REY A. The cytokine-HPA axis feed-back circuit. **Z Rheumatol.** 2000, 59 Suppl 2:II/26-30.

BIANCHI M, SACERDOTE P, PANERAI AE. Fluoxetine reduces inflammatory edema in the rat: involvement of the pituitary-adrenal axis. **Eur J Pharmacol.**1994, 263(1-2): 81-4.

BIRDSALL, T.C. '5-Hydroxytryptophan: a clinically-effective serotonin precursor'. **Altern Med Rev** 1998, 3 (4): 271-280.

Blume J, Douglas SD, Evans DL. Immune suppression and immune activation in depression. **Brain Behav Immun.** 2011 Feb, 25(2): 221-9.

BONDY B, SPAETH M, OFFENBAECHER M, *et al.*: The T102C polymorphism of the 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene in fibromyalgia. **Neurobiol Dis** 1999, 6: 433-439.

BRANCO JC, BANNWARTH B, FAILDE I, *et al.*: Prevalence of fibromyalgia: a survey in five European countries. **Semin Arthritis Rheum** 2009 Feb 26. [Epub ahead of print]

BUSKILA, D.; NEUMANN, L.; HAZANOV, I. and CARREL R. Familial Aggregation in the Fibromyalgia Syndrome. **Seminars in Arthritis and Rheumatism** 1996, 26(3): 605-611

BUSKILA D. Genetics of chronic pain states. **Best Pract Res Clin Rheumatol.** 2007 jun, 21(3): 535-47.

CAPURON L, POITOU C, MACHAUX-THOLLIEZ D, FROCHOT V, BOUILLOT JL, BASDEVANT A, LAYÉ S, CLÉMENT K. Relationship between adiposity, emotional status and eating behaviour in obese women: role of inflammation. **Psychol Med.** 2010, Oct 20:1-12.

CARVALHO L SC, CORREA H, SILVA GC, CAMPOS FS, BAIÃO FR, RIBEIRO LS, FARIA AM, D'AVILA REIS D. May genetic factors in fibromyalgia help to identify patients with differentially altered frequencies of immune cells? **Clinical and Experimental Immunology** 2008a, 154: 346–352

CARVALHO LSC: **Impacto do polimorfismo da região promotora do gene do transportador de serotonina nos níveis salivares de cortisol e subpopulações de leucócitos circulantes em pacientes com diagnóstico de fibromialgia.** 2008b. 77 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

CASPI A., SUGDEN K., MOFFITT T.E., TAYLOR A., CRAIG I.W., HARRINGTON H., McCLAY J., MILL J., MARTIN J., BRAITHWAITE A., POULTON R. Influence of Life Stress on Depression: Moderation by a Polymorphism in the 5-HTT Gene. **Science.** 2003, 18;301(5631): 386-9.

CHROUSOS GP, GOLD PW. The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioural homeostasis. **J Am Med Assoc** 1992, 267: 1244-1252.

CLAUW, D. and CHROUSOS, G. 'Chronic pain and fatigue syndromes: overlapping clinical and neuroendocrine features and potential pathogenic mechanisms.' **Neuroimmunomodulation** 1997, 4 (3): 134-153.

COCCARO, E.F., KAVOUSSI, R.J., SHELINE, Y.I., LISH, J.D., CSERNANSKY, J.G. Impulsive aggression in personality disorder correlates with tritiated paroxetine binding in the platelet. **Archives of General Psychiatry** 1996, 53: 531-536.

COCCARO EF, LEE R, KAVOUSSI RJ. Inverse relationship between numbers of 5-HT transporter binding sites and life history of aggression and intermittent explosive disorder. **J Psychiatr Res.** 2010 Feb, 44(3): 137-42.

COOK DB, LANGE G, CICCONE DS, LIU WC, STEFFENER J, NATELSON BH. Functional imaging of pain in patients with primary fibromyalgia. **J Rheumatol** 2004, 31: 364–78.

CORDERO, M.D; ALCOCER-GÓMEZ, E; CANO-GARCÍA, FJ; DE MIGUEL, M; SÁNCHEZ-ALCÁZAR, J.A.; MORENO FERNÁNDEZ, A.M. Bajos valores de

serotonina en suero se correlacionan con la gravedad de los síntomas de la fibromialgia. **Med Clin (Barc)**. 2010, 35(14): 644–646.

COSTA, P.T. & MCCRAE, R.R. Personality and Vocational Interests in an Adult Sample. **J. Appl. Psychol**. 1984, 69: 390-400

COTTAM DR, SCHAEFER PA, SHAFTAN GW, VELCU L, ANGUS LD. Effect of surgically-induced weight loss on leukocyte indicators of chronic inflammation in morbid obesity. **Obes Surg**. 2002 Jun, 12(3): 335-42.

DANTZER R. Cytokine, sickness behavior, and depression. **Neurol Clin**. 2006 Aug, 24(3): 441-60.

DE JONGH, R. F. *et al*. The role of interleukin-6 in nociception and pain. **Anesth. Analg**. 2003, 96: 1096–1103.

DEL REY A, BESEDOVSKY HO. The cytokine-HPA axis circuit contributes to prevent or moderate autoimmune processes. **Z Rheumatol**. 2000, 59 Suppl 2: II/31-5.

DEL REY A, WOLFF C, WILDMANN J, RANDOLF A, HAHNEL A, BESEDOVSKY HO, STRAUB RH. Disrupted brain-immune system-joint communication during experimental arthritis. **Arthritis Rheum**. 2008 oct, 58(10): 3090-9.

DENEVE KM, COOPER H. The happy personality: a meta-analysis of 137 personality traits and subjective well-being. **Psychol Bull**. 1998 sep, 124(2): 197-229.

DENG JM, SHI HZ, QIN XJ, XIE ZF, HUANG CP, ZHONG XN. Effects of allergen inhalation and oral glucocorticoid on concentrations of serum-soluble cd86 in allergic asthmatics. **Clin Immunol**. 2005 may, 115(2): 178-83.

DESSEIN PH, SHIPTON EA, CLOETE A. Fibromyalgia as a syndrome of neuroendocrine deficiency: a hypothetical model with therapeutic implications. **Pain Rev** 1997, 4: 79-88.

DIMITROV S, LANGE T, NOHROUDI K, BORN J. Number and function of circulating human antigen presenting cells regulated by sleep. **Sleep**. 2007 apr, 30(4): 401-11.

DINERMAN, H., GOLDENBERG, D. and FELSON, D. 'A prospective evaluation of 118 patients with the fibromyalgia syndrome: prevalence of Raynaud's phenomenon, sicca symptoms, ANA, low complement, and Ig deposition at the dermal-epidermal junction.' **J Rheumatol** 1986, 13 (2): 368-373.

DURIE FH, FOY TM, MASTERS SR, LAMAN JD, NOELLE RJ. The role of CD40 in the regulation of humoral and cell-mediated immunity. **Immunol Today**. 1994 Sep, 15(9): 406-11.

EBSTEIN RP, GRITSENKO I, NEMANOV L, FRISCH A, OSHER Y, BELMAKER RH. No association between the serotonin transporter gene regulatory region polymorphism and the Tridimensional Personality Questionnaire (TPQ) temperament of harm avoidance. **Mol. Psychiatry**. 1997, 2: 224–6.

EDGECOMBE, W. Discussion on the nature, prevention, and treatment of fibrositis. Sections of the Balneology and Climatology, Epidemiology and State Medicine, Medicine, Therapeutics and Pharmacology, **Joint Discussion** 1925 março, No. 2.

ELENKOV, I.J., Neurohormonal-cytokine interactions: Implications for inflammation, common human diseases and well-being. **Neurochemistry International** 2008, 52: 40–51.

ENGLER H, DOENLEN R, RIETHER C, ENGLER A, NIEMI MB, BESEDOVSKY HO, DEL REY A, PACHECO-LÓPEZ G, FELDON J, SCHEDLOWSKI M. Time-dependent alterations of peripheral immune parameters after nigrostriatal dopamine depletion in a rat model of Parkinson's disease. **Brain Behav Immun.** 2009 May, 23(4): 518-26.

ERNBERG M, VOOG U, ALSTERGREN P, LUNDEBERG T, KOPP S. Plasma and serum serotonin levels and their relationship to orofacial pain and anxiety in fibromyalgia. **J Orofac Pain.** 2000, 14: 37-46.

FILLINGIM, R. B., KAPLAN, L., STAUD, R., NESS, T. J., GLOVER, T. L., CAMPBELL, C. M., MOGIL, J. S., & WALLACE, M. R. The A118G single nucleotide polymorphism of the mu-opioid receptor gene (OPRM1) is associated with pressure pain sensitivity in humans. **The Journal of Pain.** 2005, 6: 159–167.

FINAN, P.H.; ZAUTRA, A.J.; DAVIS, M.C.; LEMERY–CHALFANT, K.; COVAULT, J. AND TENNEN, H. Genetic Influences on the Dynamics of Pain and Affect in Fibromyalgia. **Health Psychology.** 2010, 29 ( 2): 134–142.

FOLZENLOGEN D, HOFER MF, LEUNG DY, FREED JH, NEWELL MK. Analysis of CD80 and CD86 expression on peripheral blood B lymphocytes reveals increased expression of CD86 in lupus patients. **Clin Immunol Immunopathol.** 1997 Jun, 83(3): 199-204.

FORSETH OK, GRAN T: The prevalence of fibromyalgia among women aged 20-49 years in Arendal, Norway. **Scand J Rheumatol** 1992, 21: 261-63.

FUXE, K., CINTRA, A., HARFSTRAND, A., AGNATI, L.F., KALIA, M., ZOLI, M., WIKSTROM, A.C., OKRET, S., ARONSSON, M., GUSTAFSSON, J.A. Central glucocorticoid receptor immunoreactive neurons: new insights into the endocrine regulation of the brain. **Ann. NY Acad. Sci.** 1987, 512: 362–393.

GIOVENGO, SL.; RUSSEL, IJ; LARSON, AA. Increased concentrations of nerve growth factor in cerebrospinal fluid of patients with fibromyalgia. **J. Rheumatol.** 1999, 26: 1564 – 9.

GOODWIN RD, FRIEDMAN HS. Health status and the five-factor personality traits in a nationally representative sample. **J Health Psychol.** 2006 Sep, 11(5): 643-54.

GOULDING, C., O'CONNELL, P. and MURRAY, F.E. 'Prevalence of fibromyalgia, anxiety and depression in chronic hepatitis C virus infection: relationship to RT-PCR status and mode of acquisition'. **Eur J Gastroenterol Hepatol** 2001, 13 (5): 507-511.

GRACELY RH, GRANT MA, GIESECKE T. Evoked pain measures in fibromyalgia. **Best Pract Res Clin Rheumatol** 2003, 17 (4): 593-609.

GUR, A., CEVIK, R., SARAC, A.J., COLPAN, L. and EM, S. 'Hypothalamic-pituitary- gonadal axis and cortisol in young women with primary fibromyalgia: the potential roles of depression, fatigue, and sleep disturbance in the occurrence of hypocortisolism'. **Ann Rheum Dis.** 2004, 63 (11): 1504-1506.

GURSOY, S., ERDAL, E., HERKEN, H., MADENCI, E. AND ALASEHIRLI, B. Association of T102C polymorphism of the 5HT2A receptor gene with psychiatric status in fibromyalgia syndrome. **Reumatol Int.** 2001, 21: 58-61.

GURSOY, S. *et al.*, Which genotype of MAO gene that the patients have are likely to be most susceptible to the symptoms of fibromyalgia? **Rheumatol Int.** 2008, 28: 307–311.

HADER, N., RIMON, D., KINARTY, A., LAHAT, N. Altered interleukin-2 secretion in patients with primary fibromyalgia syndrome. **Arthritis Rheum.** 1991, 34(7): 866-72.

HARFSTRAND, A., FUXE, K., CINTRA, A., AGNATI, L.F., ZINI, I., WIKSTROM, A.C., OKRET, S., YU, Z.Y., GOLDSTEIN, M., STEINBUSCH, H., VERHOFSTAD, A., GUSTAFSSON, J.A. Glucocorticoid receptor immunoreactivity in monoaminergic neurons of rat brain. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 1986, 83: 9779–9783.

HERNANZ, W., VALENZUELA, A., QUIJADA, J., GARCIA, A., IGLESIA, J.L.D.L., GUTIERREZ, A., POVEDANO, J., MORENO, I., SANCHEZ, B. Lymphocyte subpopulation in patients with primary fibromyalgia. **J.Rheumatol.** 1994, 21: 2122–4.

HOUVENAGEL, E., FORZY, G., LELOIRE, O., GALLOIS, P., HARY, S., HAUTECCEUR, P., CONVAIN, L., HENNIAUX, M., VINCENT, G., DHONDT, J.L. Monoamines du liquide cephalo-rachidien dans la fibromyalgie primitive. **Revue du Rhumatisme** 1990, 57: 21-23.

HUCKLEBRIDGE, F., HUSSAIN, T., EVANS, P. and CLOW, A. 'The diurnal patterns of the adrenal steroids cortisol and dehydroepiandrosterone (DHEA) in relation to awakening.' **Psychoneuroendocrinology** 2005, 30 (1): 51-57.

HUR JW, KIM YK. Comparison of Clinical Features and Personality Dimensions between Patients with Major Depressive Disorder and Normal Control. **Psychiatry Investig.** 2009 Sep, 6(3): 150-5.

JONASSAINT CR, BOYLE SH, KUHN CM, SIEGLER IC, COPELAND WE, WILLIAMS R. Personality and inflammation: the protective effect of openness to experience. **Ethn Dis.** 2010, 20(1): 11-4.

KASHIPAZ, A.M.R., SWINDEN, D., TODD, I. & POWELL, R. J. Normal production of inflammatory cytokines in chronic fatigue and fibromyalgia syndromes determined by intracellular cytokine staining in short-term cultured blood mononuclear cells. **Clin Exp Immunol** 2003, 132: 360–365.

KAUFMANN I, SCHELLING G, EISNER C, RICHTER HP, KRAUSENECK T, VOGESER M, HAUER D, CAMPOLONGO P, CHOUKER A, BEYER A, THIEL M. Anandamide and neutrophil function in patients with fibromyalgia. **Psychoneuroendocrinology** 2008, 33(5): 676-85.

KAWANAKA, N., YAMAMURA, M., AITA, T. *et al.* CD14<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup> blood monocytes and joint inflammation in rheumatoid arthritis. **Arthritis e rheumatism** 2002, 46: 2578-2586.

KERN S and ZIEMSEN T. Brain-immune communication psychoneuroimmunology of multiple sclerosis. **Mult Scler.** 2008 Jan, 14(1): 6-21.

KIECOLT-GLASER JK, MCGUIRE L, ROBLES TF, GLASER R. Psychoneuroimmunology and psychosomatic medicine: back to the future. **Psychosom Med.** 2002 Jan-Feb, 64(1): 15-28.

KIM YK, SUH IB, KIM H, HAN CS, LIM CS, CHOI SH, LICINIO J. The plasma levels of interleukin-12 in schizophrenia, major depression, and bipolar mania: effects of psychotropic drugs. **Mol Psychiatry.** 2002, 7(10): 1107-14.

KIRNAP M, COLAK R, ESER C, OZSOY O, TUTUS A, KELESTIMUR F. A comparison between low-dose (1 microg), standard-dose (250 microg) acth stimulation tests and insulin tolerance test in the evaluation of hypothalamo-pituitary-adrenal axis in primary fibromyalgia syndrome. **Clin Endocrinol (OXF).** 2001 oct, 55(4): 455-9.

KIRSCHBAUM, C. and HELLHAMMER, D.H.. 'Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research: recent developments and applications'. **Psychoneuroendocrinology** 1994, 19 (4): 313-333.

KLAASSEN, T., RIEDEL, W.J., VAN PRAAG, H.M., MENHEERE, P.P., GRIEZ, E. Neuroendocrine response to meta-chlorophenylpiperazine and ipsapirone in relation to anxiety and aggression. **Psychiatry Res.** 2002, 113: 29-40.

KLERMAN, E.B. GOLDENBERG, D.L., BROWN, E.N., MALISZEWSKI, A.M. and ADLER G.K. Circadian Rhythms of Women with Fibromyalgia. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism** 2001, 86 (3): 1034-1039.

KOZANOGLU, E., CANATAROGLU, A., ABAYLI, B., COLAKOGLU, S. AND GONCU, K. 'Fibromyalgia syndrome in patients with hepatitis C infection'. **Rheumatol Int** 2003, 23 (5): 248-251.

KRUMMEL MF, ALLISON JP. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. **J Exp Med.** 1995 Aug 1, 182(2): 459-65.

LANDIS, C.A., LENTZ, M.J., TSUJI, J., BUCHWALD, D. AND SHAVER, J.L. 'Pain, psychological variables, sleep quality, and natural killer cell activity in midlife women with and without fibromyalgia'. **Brain Behav Immun** 2004, 18 (4): 304- 313.

LAWRENCE RC, FELSON DT, HELMICK CG, *et al.*: National Arthritis Work Group: Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. **Arthritis Rheum** 2008, 58: 26-35.

LENSCHOW DJ, SPERLING AI, COOKE MP, FREEMAN G, RHEE L, DECKER DC, GRAY G, NADLER LM, GOODNOW CC, BLUESTONE JA. Differential up-regulation of the B7-1 and B7-2 costimulatory molecules after Ig receptor engagement by antigen. **J Immunol.** 1994 Sep 1, 153(5): 1990-1997.

LESCH, K.P., WOLOZIN, B.L., ESTLER, H.C., MURPHY, D.L. AND RIEDERER, P. 'Isolation of a cDNA encoding the human brain serotonin transporter'. **J Neural Transm Gen Sect.** 1993, 91 (1): 67-72.

LESCH KP, BENGEL D, HEILS A, SABOL SZ, GREENBERG BD, PETRI S, BENJAMIN J, MÜLLER CR, HAMER DH, MURPHY DL. Association of Anxiety-Related Traits with a Polymorphism in the Serotonin Transporter Gene Regulatory Region. **Science** 1996, 29; 274(5292): 1527-1531.

LEVINSON DF. The genetics of depression: a review. *Biol Psychiatry.* 2006 Jul 15, 60(2): 84-92.

LIU MF, LI JS, WENG TH, LEI HY. Differential expression and modulation of costimulatory molecules CD80 and CD86 on monocytes from patients with systemic lupus erythematosus. **Scand J Immunol.** 1999 Jan, 49(1): 82-7.

LOZEVA-THOMAS, V. 'Serotonin brain circuits with a focus on hepatic encephalopathy.' **Metab Brain Dis.** 2004, 19 (3-4):413-420.

MACEDO, J., HESSE, J., TURNER, J., AMMERLAAN, W., GIERENS, A., HELLHAMMER, D. and MULLER, C. 'Adhesion molecules and cytokine expression in fibromyalgia patients: increased L-selectin on monocytes and neutrophils.' **J Neuroimmunol** 2007, 188 (1-2): 159-166.

MACEDO J. A.; HESSE, J., TURNER, J.D., MEYER, J.; HELLHAMMER, D.H.; MULLER, C. P. Glucocorticoid sensitivity in fibromyalgia patients: Decreased expression of corticosteroid receptors and glucocorticoid-induced leucine zipper. **Psychoneuroendocrinology** 2008, 33: 799–809.

MAES M, SONG C, LIN AH, BONACCORSO S, KENIS G, DE JONGH R *et al.* Negative immunoregulatory effects of antidepressants: inhibition of interferon- $\alpha$  and stimulation of interleukin-10 secretion. **Neuropsychopharmacology** 1999, 20: 370–379.

MAGGIO M, GURALNIK JM, LONGO DL, FERRUCCI L. Interleukin-6 in aging and chronic disease: a magnificent pathway. **Journals of Gerontology, Series A: Biological Sciences and Medical Sciences** 2006, 61: 575–584.

MARCHAND, F., PERRETTI, M. AND. MCMAHON, S.B. Role of the immune system in chronic pain. **Nature Reviews | Neuroscience** 2005, 6: 521-532.

MAZZA, M., MAZZA, O., POMPONI, M., NICOLA D.N., PADUA L., VICINI, M., BRIA, P., MAZZA, S. What is the effect of selective serotonin reuptake inhibitors on temperament and character in patients with fibromyalgia? **Comprehensive Psychiatry** 2009, 50: 240–244.

McEWEN, B.S., STELLAR, E. Stress and the individual. Mechanisms leading to disease. **Arch. Intern. Med.** 1993, 153: 2093–2101.

McLEAN, S.A., *et al.* Momentary Relationship Between Cortisol Secretion and Symptoms in Patients With Fibromyalgia. **Arthritis & Rheumatism** 2005, 52: 3660–3669.

MOHR DC, HART SL, JULIAN L, COX D, PELLETIER D. Association between stressful life events and exacerbation in multiple sclerosis: a meta-analysis. **BMJ**. 2004 Mar 27, 328(7442): 731.

MORIMOTO, M., MORITA, N., OZAWA, H., YOKOYAMA, K., KAWATA, M. Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and mRNA in the rat brain: an immunohistochemical and in situ hybridization study. **Neurosci. Res.** 1996, 26: 235–269.

NAKAJIMA, A., AZUMA, M., KODERA, S., NURIYA, S., TERASHI, A., ABE, M., HIROSE, S., SHIRAI, T., YAGITA, H., and OKUMURA, K. Preferential dependence of autoantibody production in murine lupus on CD86 costimulatory molecule. **Eur. J. Immunol.** 1995, 25: 3060–3069.

NISHIKAI M, TOMOMATSU S, HANKINS RW, TAKAGI S, MIYACHI K, KOSAKA S, AKIYA K. Autoantibodies to a 68/48 kDa protein in chronic fatigue syndrome and primary fibromyalgia: a possible marker for hypersomnia and cognitive disorders. **Rheumatology (Oxford)**. 2001, 40(7): 806-10.

O'CONNELL PJ, WANG X, LEON-PONTE M, GRIFFITHS C, PINGLE SC, AHERN GP. A novel form of immune signaling revealed by transmission of the inflammatory mediator serotonin between dendritic cells and t cells. **Blood**. 2006 feb 1, 107(3): 1010-7.

ODOBASIC D, LEECH MT, XUE JR, HOLDSWORTH SR. Distinct in vivo roles of CD80 and CD86 in the effector t-cell responses inducing antigen-induced arthritis. **Immunology**. 2008 aug, 124(4): 503-13.

OFFENBAECHER M., GLATZEDER, K. and ACKENHEIL, M. 'Self-reported depression, familial history of depression and fibromyalgia (FM), and psychological distress in patients with FM'. **Z Rheumatol** 1998, 57: Suppl 2, 94–96.

OFFENBAECHER M, BONDY B, DE JONGE S, GLATZEDER K, KRÜGER M, SCHOEPS P, ACKENHEIL M. Possible association of fibromyalgia with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. **Arthritis Rheum.** 1999, 42(11): 2482-8.

ORTEGA, E., GARCÍA, J.J., BOTE, M.E., MARTÍN-CORDERO, L., ESCALANTE, y., SAAVEDRA, J.M., NORTHOFF, H. and GIRALDO, E. Exercise in fibromyalgia and related inflammatory disorders: Known effects and unknown chances. **Exerc Immunol Rev.** 2009, 15: 42-65.

PACE TW, HEIM CM. A short review on the psychoneuroimmunology of posttraumatic stress disorder: from risk factors to medical comorbidities. **Brain Behav Immun.** 2011 Jan, 25(1): 6-13.

- PALAZZI, C, D'AMICO, E, D'ANGELO, NUCERA, A, PETRICCA, A. and OLIVIERI, I. 'Hepatitis C virus infection in Italian patients with fibromyalgia'. **Clin Rheumatol** 2008, 27 (1): 101-103.
- PALKOVITS, M. Organization of the stress response at the anatomical level. **Prog. Brain Res.** 1987, 72: 47–55.
- PAMUK, O.N. AND CAKIR, N. 'The frequency of thyroid antibodies in fibromyalgia patients and their relationship with symptoms'. **Clin Rheumatol** 2007, 26 (1): 55-59.]
- PARKER, K. J., SCHATZBERG, A. F. & LYONS, D. M. Neuroendocrine aspects of hypercortisolism in major depression. **Horm. Behav.** 2003, 43: 60–66.
- PASSLICK B, FLIEGER D, ZIEGLER-HEITBROCK HW. Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood. **Blood.** 1989 Nov 15, 74(7): 2527-34.
- PATTERSON PH. Immune involvement in schizophrenia and autism: etiology, pathology and animal models. **Behav Brain Res.** 2009 Dec 7, 204(2): 313-21.
- PATTON, J.H., STANFORD, M.S. and BARRATT, E.S. 'Factor structure of the Barratt impulsiveness scale'. **J Clin Psychol** 1995, 51 (6): 768-774.
- PERES MF, ZUKERMAN E, SENNE SOARES CA, ALONSO EO, SANTOS BF, FAULHABER MH. Cerebrospinal fluid glutamate levels in chronic migraine. **Cephalgia** 2004 sep, 24(9): 735-9.
- PREUSS UW, SOYKA M, BAHLMANN M, WENZEL K, BEHRENS S, DE JONGE S, KRÜGER M, BONDY B. Serotonin transporter gene regulatory region polymorphism (5-HTTLPR), [3H] paroxetine binding in healthy control subjects and alcohol-dependent patients and their relationships to impulsivity. **Psychiatry Res.** 2000 sep 25, 96(1): 51-61.
- RAINER TH, LAM N, COCKS RA. Adrenaline upregulates monocyte I-selectin in vitro. **Resuscitation** 1999; 43(1): 47-55.
- RAISON, C. L. & MILLER, A. H. When not enough is too much: the role of insufficient glucocorticoid signaling in the pathophysiology of stress-related disorders. **AM. J. Psychiatry** 2003, 160: 1554–1565.
- RIBEIRO, L.S. and PROIETTI, F.A. 'Interrelations between fibromyalgia, thyroid autoantibodies, and depression'. **J Rheumatol.** 2004, 31 (10): 2036-2040.
- RIEDEL, W., LAYKA, H. and NEECK, G. Secretory pattern of GH, TSH, thyroid hormones, ACTH, cortisol, FSH, and LH in patients with fibromyalgia syndrome following systemic injection of the relevant hypothalamic-releasing hormones. **Rheumatol** 1998, 57 (2): 1–87
- RIERING K, REWERTS C, ZIEGLGANSBERGER W. Analgesic effects of 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists. **Scand J Rheumatol Suppl.** 2004, 119: 19-23.
- RIVERA, J., DE DIEGO, A., TRINCHET, M. and GARCIA MONFORTE, A. 'Fibromyalgia-associated hepatitis C virus infection'. **Br J Rheumatol** 1997, 36(9): 981-985.

RUSSEL, I.J.; VAEROY, H.; JAVORS, M.; NYBERG, F. Cerebrospinal fluid biogenic amine metabolites in fibromyalgia/fibrositis syndrome and rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum.** 1992, 35: 550-6.

RUSSELL IJ, ORR MD, LITTMAN B, *et al.* Elevated cerebrospinal fluid levels of substance p in patients with the fibromyalgia syndrome. **Arthritis rheum.** 1994, 37(11): 1593-1601.

RUSSELL, I.J.; VIPRAIO, G.A.; MICHALEK, J.E.; CRAIG, F.E.; KANG, Y.K.; RICHARDS, A.B. Lymphocyte markers and natural killer cell activity in fibromyalgia syndrome: effects of low-dose, sublingual use of human interferon-alpha. **J. Interferon Cytokine Res** 1999, 19: 969 – 78.

SCHOCHAT, T., RASP H. Elements of fibromyalgia in an open population. **Rheumatol** 2003, 42: 829-35.

SENNA ER, DE BARROS AL, SILVA EO, *et al.* Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. **J Rheumatol** 2004, 31: 594-7.

SHARPE AH, FREEMAN GJ. The B7-CD28 superfamily. **Nat Rev Immunol.** 2002 Feb, 2(2): 116-26.

SMART PA, WAYLONIS GW, HACKSHAW KV. Immunologic profile of patients with fibromyalgia. **Am J Phys Med Rehabil.** 1997 May-Jun, 76(3): 231-4.

SMYTHE, H.A & MOLDOFSKY, H. Two contributions to understanding of the "fibrositis" syndrome. **Bull. Rheum. Dis.** 1977, 28: 928-31.

STERNBERG, E.M. 'Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens'. **Nature reviews | Immunology.** 2006, 6: 318-328.

STOCKMAN, R. The causes, pathology and treatment of chronic rheumatism. **Edinburg Med. J.** 1904, 15: 107-16.

STOLTENBERG SF, NAG P. Description and validation of a dynamical systems model of presynaptic serotonin function: genetic variation, brain activation and impulsivity. **Behav Genet.** 2010 Mar, 40(2): 262-79.

STRAUB RH, PAIMELA L, PELTOMAA R, SCHÖLMERICH J, LEIRISALO-REPO M. Inadequately low serum levels of steroid hormones in relation to interleukin-6 and tumor necrosis factor in untreated patients with early rheumatoid arthritis and reactive arthritis. **Arthritis Rheum.** 2002 Mar, 46(3): 654-62.

SUTIN AR, TERRACCIANO A, DEIANA B, NAITZA S, FERRUCCI L, UDA M, SCHLESSINGER D, COSTA PT Jr. High neuroticism and low conscientiousness are associated with interleukin-6. **Psychol Med.** 2010 Sep, 40(9): 1485-93.

SWITANKOWSKY I. Dualism and its importance for medicine. **Theor Med Bioeth.** 2000 Nov, 21(6): 567-80.

TANDER, B., GUNES, S., BOKE, O., ALAYLI, G., KARA, N., BAGCI, H., CANTURK, F. Polymorphisms of the serotonin-2A receptor and catechol-

Omethyltransferase genes: a study on Fibromyalgia susceptibility. **Rheumatol Int.** 2008, 28: 685–691.

TARCIC N, OVADIA H, WEISS DW, WEIDENFELD J. Restraint stress-induced thymic involution and cell apoptosis are dependent on endogenous glucocorticoids. **J Neuroimmunol.** 1998 feb, 82(1): 40-6.

TAYLOR CT, HIRSHFELD-BECKER DR, OSTACHER MJ, CHOW CW, LEBEAU RT, POLLACK MH, NIERENBERG AA, SIMON NM. Anxiety is associated with impulsivity in bipolar disorder. **J Anxiety Disord.** 2008 JUN, 22(5): 868-76.

TERRACCIANO A, LOCKENHOFF CE, ZONDERMAN AB, FERRUCCI L, COSTA Jr. PT. Personality predictors of longevity: Activity, emotional stability, and conscientiousness. **Psychosomatic Medicine** 2008, 70: 621–627.

THOMPSON, M.E. AND BARKHUIZEN, A. 'Fibromyalgia, hepatitis C infection, and the cytokine connection'. **Curr Pain Headache Rep** 2003, 7 (5): 342-347.

TIMMERMAN KL, FLYNN MG, COEN PM, MARKOFSKI MM, PENCE BD. Exercise training-induced lowering of inflammatory (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>) monocytes: a role in the anti-inflammatory influence of exercise? **J Leukoc Biol.** 2008 Nov, 84(5): 1271-8.

TORPY, D.J., PAPANICOLAOU, D.A., LOTSIKAS, A.J., WILDER, R.L., CHROUSOS, G.P. and PILLEMER, S.R. 'Responses of the sympathetic nervous system and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to interleukin-6: a pilot study in fibromyalgia'. **Arthritis Rheum** 2000, 43 (4): 872-880.

TRONCHE, F., KELLENDONK, C., REICHARDT, H.M., SCHUTZ, G. Genetic dissection of glucocorticoid receptor function in mice. **Curr. Opin. Genet. Dev.** 1998, 8: 532– 538.

UCEYLER, N., VALENZA, R., STOCK, M., SCHEDEL, R., SPROTTE, G. and SOMMER, C. 'Reduced levels of antiinflammatory cytokines in patients with chronic widespread pain'. **Arthritis Rheum** 2006, 54 (8): 2656-2664.

VALLEIX apud GOLDENBERG, DL. Fibromyalgia syndrome: an emerging but controversial condition. **JAMA** 1987, 257: 2782-7.

VAN MIDDENDORP H, LUMLEY MA, MOERBEEK M, JACOBS JW, BIJLSMA JW, GEENEN R. Effects of anger and anger regulation styles on pain in daily life of women with fibromyalgia: a diary study. **Eur J Pain.** 2010 Feb, 14(2):176-82.

VAEROY, H.; NYBERG, F.; TERENIUS, L. No evidence for endorphin deficiency in fibromyalgia following investigation of cerebrospinal fluid (CSF) dynorphin A and Met-enkephalin-Arg-Phe. **Pain** 1991, 46: 139-43.

VELLA A, BELLAVITE P, ADAMI A, ORTOLANI R, BENONI G, CARLETTO A, BIASI D, CARAMASCHI P, TRIDENTE G. Expression of FCepsilonII/CD23 on human neutrophils isolated from rheumatoid arthritis patients. **Inflammation.** 1999 Oct, 23(5): 471-9.

WALLACE, D.J., MARGOLIN, K., WALLER, P. Fibromyalgia and interleukin-2 therapy for malignancy. **Ann Intern Med.** 1988, 108: 909.

- WALLACE, D.J.; BOWMAN, R.L.; WORMSLEY, S.B.; PETER, J.B. Cytokines and immune regulation in patients with fibrositis. **Arthritis Rheum** 1989, 32: 1334-5.
- WALLACE DJ, LINKER-ISRAELI M, HALLEGUA D, *et al.* Cytokines play an aetiopathogenetic role in fibromyalgia: a hypothesis and pilot study. **Rheumatology (Oxf)** 2001, 40: 743–9.
- WANG, H., BUCHNER, M., MOSER, M.T., DANIEL, V. and SCHILTENWOLF, M. The Role of IL-8 in Patients With Fibromyalgia: A Prospective Longitudinal Study of 6 Months. **Clin J Pain** 2009, 25: 1-5.
- WATSON, D. & HUBBARD, B. Adaptational Style and Dispositional Structure: Coping in the Context of the Five-Factor Model. **Journal of Personality** 1996, 64 (4): 737-734.
- WETZLER, S., ASNIS, G.M., DELECUONA, J.M., KALUS, O. Serotonin function in panic disorder: intravenous administration of meta-chlorophenylpiperazine. **Psychiatry Res.** 1996, 64: 77–82.
- WILKE WS, GOTA CE, MUZINA DJ. Fibromyalgia and bipolar disorder: a potential problem? **Bipolar Disord.** 2010, 12(5): 514-20.
- WINDHAGEN A, NEWCOMBE J, DANGOND F, STRAND C, WOODROOFE MN, CUZNER ML, HAFLER DA. Expression of costimulatory molecules B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), and interleukin 12 cytokine in multiple sclerosis lesions. **J Exp Med.** 1995 Dec 1, 182(6): 1985-96.
- WINGENFELD K, HEIM C, SCHMIDT I, WAGNER D, MEINLSCHMIDT G, HELLHAMMER DH. HPA Axis Reactivity and Lymphocyte Glucocorticoid Sensitivity in Fibromyalgia Syndrome and Chronic Pelvic Pain. **Psychosom Med.** 2008, 70(1): 65-72.
- WOLFE, F., RUSSELL, I. J., VIPRAIO, G., ROSS, K., AND ANDERSON, J. Serotonin levels, pain threshold, and fibromyalgia symptoms in the general population. **J. Rheumatol.** 1997, 24: 555–9.
- WOLFE, F., HAWLEY, D.J. Psychosocial factors and the fibromyalgia syndrome. **Z Rheumatol** 1998, 57: Suppl 2, 88–91.
- WOLFE F, SMYTHE HA, YUNUS MB, *et al.* The American College of Rheumatology 1990 Criteria for the Classification of Fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee. **Arthritis Rheum** 1990; 33: 160–72.
- YAMAOKA KA, AROCK M, ISSALY F, DUGAS N, LE GOFF L, KOLB JP. Granulocyte macrophage colony stimulating factor induces Fc epsilon RII/CD23 expression on normal human polymorphonuclear neutrophils. **Int Immunol.** 1996 Apr, 8(4): 479-90.
- YUNUS, M.B.; MASI, A.T.; CALABRO, J.J.; MILLER, K.A.; FEIGENBAUM, S.L. - Primary fibromyalgia (fibrositis): clinical study of 50 patients with normal controls. **Semin. Arthritis Rheum.** 1981, 11: 151-71.

YUNUS, M., HUSSEY, F. AND ALDAG, J. 'Antinuclear antibodies and connective tissue disease features in fibromyalgia syndrome: a controlled study.'. **J Rheumatol** 1993, 20 (9): 1557-1560.

YUNUS MB, KHAN MA, RAWLINGS KK, GREEN JR, OLSON JM, SHAH S. Genetic linkage analysis of multicase families with fibromyalgia syndrome. **J Rheumatol** 1999, 26: 408-412.

ZAUTRA AJ, YOCUM DC, VILLANUEVA I, SMITH B, DAVIS MC, ATTREP J, IRWIN M. Immune activation and depression in women with rheumatoid arthritis. **J Rheumatol**. 2004 Mar, 31(3): 457-63.

ZHANG Z, CHERRYHOLMES G, MAO A, MAREK C, LONGMATE J, KALOS M, AMAND RP, SHIVELY JE. High plasma levels of MCP-1 and eotaxin provide evidence for an immunological basis of fibromyalgia. **Exp Biol Med (Maywood)**. 2008 Sep, 233(9): 1171-80.

ZIEGLER-HEITBROCK HW. Heterogeneity of human blood monocytes: the CD14<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup> subpopulation. **Immunol Today**. 1996 Sep, 17(9): 424-8.

ZIEGLER-HEITBROCK L. The CD14<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup> blood monocytes: their role in infection and inflammation. **J Leukoc Biol**. 2007 Mar, 81(3): 584-92.

## ANEXO 1

### TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO LIVRE E ESCLARECIDO RELAÇÃO ENTRE A PSICONEUROIMUNOLOGIA E A FIBROMIALGIA

#### INFORMAÇÕES GERAIS

Prezada (o) paciente:

O seu médico lhe explicou que você tem fibromialgia e que as causas da sua enfermidade estão ainda sendo estudadas. Você está sendo convidada (o) participar de uma pesquisa onde serão avaliadas a função e o número de algumas células de seu sangue (leucócitos), a dosagem de alguns hormônios e será submetida, além da consulta reumatológica, a uma entrevista com um psiquiatra. Para participar você deverá ter idade igual ou superior a 40 anos, não estar grávida, ter um grau de escolaridade a partir da 4ª série (curso básico) e ter o diagnóstico de fibromialgia. Você também não poderá estar sendo submetida (o) a qualquer tratamento hormonal e não deverá ter usado medicamentos tranquilizantes e antidepressivos nos últimos seis meses.

#### OBJETIVOS DO ESTUDO

O objetivo desse estudo é verificar se a sua doença coexiste com alterações nos seus glóbulos brancos, nos níveis de alguns hormônios e com o seu modo de “ser na vida”, ou seja, a sua forma de se comportar diante das várias situações com as quais nos deparamos no nosso dia a dia.

#### BENEFÍCIOS

O tratamento de sua enfermidade se realizará independentemente do resultado deste estudo. Entretanto, ao final da pesquisa, é possível que possamos ajudar melhor a você e/ou a outros pacientes, dependendo dos resultados alcançados com o presente estudo.

#### RISCOS E SEGURANÇA

Você não correrá riscos com a realização da pesquisa, apenas realizará as entrevistas e serão coletadas amostras de seu sangue, logo após a consulta reumatológica.

#### CONFIDENCIALIDADE

A menos que solicitado por lei, somente o seu médico reumatologista e o médico psiquiatra terão acesso às informações confidenciais que identifica você pelo nome. Os seus exames laboratoriais serão identificados apenas pelas suas iniciais e por um número que lhe identificará no estudo. Você não será identificada (o) em qualquer relatórios ou publicação que resulte desse estudo.

#### COMPENSAÇÃO

Você não terá qualquer despesa para a realização dos exames laboratoriais e para as avaliações médicas necessárias à realização do estudo.

#### DESCONTINUAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO

Existem situações nas quais a sua participação pode ser interrompida. A sua participação é voluntária e você poderá interromper a seqüência da pesquisa a

qualquer hora sem, com isto, prejudicar ou perder os seus benefícios. Assim, após a avaliação do reumatologista, se você não quiser realizar a entrevista com o psiquiatra ou não quiser realizar a coleta de sangue para o estudo, você poderá fazê-lo.

Se novas descobertas e informações aparecerem durante este estudo e que sejam de seu interesse, elas serão comunicadas através de seu médico.

### **CONSENTIMENTO E PERMISSÃO**

Antes de dar o meu consentimento assinando este documento, eu fui suficientemente informado de todo o estudo. Eu conversei diretamente com o meu médico que respondeu satisfatoriamente todas as minhas perguntas em relação ao estudo. Eu recebi uma cópia deste consentimento. Eu li as informações acima e entendi os objetivos, benefícios, os riscos deste estudo e voluntariamente aceitei participar. Eu autorizei que o Serviço de Reumatologia do Instituto de Previdência dos Servidores do Estado de Minas Gerais (IPSEMG) possa utilizar as minhas anotações médicas para publicações científicas.

Nome do participante \_\_\_\_\_

Assinatura do participante \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_

Eu conversei sobre o estudo com o participante utilizando uma linguagem adequada e apropriada. Acredito que informei o paciente do estudo e seus possíveis benefícios para o melhor entendimento dos portadores de fibromialgia, e acredito que o paciente entendeu a explicação.

Médico do estudo/investigador \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_

#### **Telefones para contato:**

**Responsável pela Pesquisa: Profa e Dra Débora d'Avila Reis 3499- 2820**

**Comitê de ética pesquisa do IPSEMG**

**Coordenadora: Magali Oliveira Lima**

**Tel: 3237-2145**

**End: Alameda Ezequiel Dias, 224, 11o andar**

## ANEXO 2

## M.I.N.I.- Plus

## Mini- International Neuropsychiatry Interview

Anexo: Módulo *Episódio Depressivo Maior* da versão brasileira do MINI 5.0. (DSM-IV)\*

↓: IR DIRETAMENTE AO(S) QUADRO(S) DIAGNÓSTICO(S), ASSINALAR NÃO EM CADA UM E PASSAR AO MÓDULO SEGUINTE

**A. EPISÓDIO DEPRESSIVO MAIOR**

A1	Nas duas últimas semanas, sentiu-se triste, desanimado(a), deprimido(a), durante a maior parte do dia, quase todos os dias?	NÃO	SIM	1	
A2	Nas duas últimas semanas, teve, quase todo tempo, o sentimento de não ter mais gosto por nada, de ter perdido o interesse e o prazer pelas coisas que lhe agradam habitualmente?	NÃO	SIM	2	
	<b>A1 OU A2 SÃO COTADAS SIM ?</b>	NÃO	SIM		
A3	<b>Durante as duas últimas semanas, quando se sentia deprimido(a) / sem interesse pela maioria das coisas:</b>				
a	O seu apetite mudou de forma significativa, <u>ou</u> o seu peso aumentou ou diminuiu sem que o tenha desejado ? (variação de $\pm 5\%$ ao longo do mês, isto é, $\pm 3,5$ Kg, para uma pessoa de 65 Kg) <small>COTAR SIM, SE RESPOSTA SIM NUM CASO OU NO OUTRO</small>	NÃO	SIM	3	
b	Teve problemas de sono quase todas as noites (dificuldade em pegar no sono, acordar no meio da noite ou muito cedo, dormir demais)?	NÃO	SIM	4	
c	Falou ou movimentou-se mais lentamente que de costume ou pelo contrário, sentiu-se agitado(a) e incapaz de ficar sentado quieto, quase todos os dias?	NÃO	SIM	5	
d	Sentiu-se a maior parte do tempo cansado(a), sem energia, quase todos os dias?	NÃO	SIM	6	
e	Sentiu-se sem valor ou culpado(a), quase todos os dias?	NÃO	SIM	7	
f	Teve dificuldade para concentrar-se ou tomar decisões, quase todos os dias?	NÃO	SIM	8	
g	Teve, por várias vezes, pensamentos ruins como, por exemplo, pensar que seria melhor estar morto(a) ou pensar em fazer mal a si mesmo(a)?	NÃO	SIM	9	
A4	<b>HÁ PELO MENOS 3 RESPOSTAS «SIM» EM A3?</b> (ou 4 se A1 <u>OU</u> A2 = "NÃO")	<b>NÃO    SIM</b>  <b>EPISÓDIO DEPRESSIVO MAIOR ATUAL</b>			
	<b>SE O(A) ENTREVISTADO(A) APRESENTA UM EPISÓDIO DEPRESSIVO MAIOR ATUAL :</b>				
A5a	Ao longo da sua vida, teve outros períodos de 2 semanas ou mais, em que se sentiu deprimido (a) ou sem interesse pela maioria das coisas e durante os quais teve os problemas dos quais falamos [ SINTOMAS EXPLORADOS DE A3a à A3g ]?	↓	NÃO	SIM	10
b	Desta vez, antes de se sentir deprimido(a) e/ou sem interesse pela maioria das coisas, sentia-se bem desde há pelo menos dois meses?	NÃO	SIM	11	
	<b>A5b É COTADA SIM ?</b>	<b>NÃO    SIM</b>  <b>EPISÓDIO DEPRESSIVO MAIOR PASSADO</b>			

## ANEXO 3

### Critérios DSM-IV para episódio depressivo maior

*A. Cinco (ou mais) dos seguintes sintomas estiveram presentes durante o mesmo período de 2 semanas e representam uma alteração a partir do funcionamento anterior. Pelo menos um dos sintomas é:*

- (1) humor deprimido ou;*
- (2) perda do interesse ou prazer.*

*Nota: Não incluir sintomas nitidamente devidos a uma condição médica geral ou alucinações ou delírios incongruentes com o humor.*

*(1) humor deprimido na maior parte do dia, quase todos os dias, indicado por relato subjetivo (por ex., sente-se triste ou vazio) ou observação feita por outros (por ex., chora muito).*

*Nota: Em crianças e adolescentes, pode ser humor irritável*

*(2) interesse ou prazer acentuadamente diminuídos por todas ou quase todas as atividades na maior parte do dia, quase todos os dias (indicado por relato subjetivo ou observação feita por outros)*

*(3) perda ou ganho significativo de peso sem estar em dieta (por ex., mais de 5% do peso corporal em 1 mês), ou diminuição ou aumento do apetite quase todos os dias.*

*Nota: Em crianças, considerar falha em apresentar os ganhos de peso esperados*

*(4) insônia ou hipersonia quase todos os dias*

*(5) agitação ou retardo psicomotor quase todos os dias (observáveis por outros, não meramente sensações subjetivas de inquietação ou de estar mais lento)*

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

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

*(8) capacidade diminuída de pensar ou concentrar-se, ou indecisão, quase todos os dias (por relato subjetivo ou observação feita por outros)*

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

*B. Os sintomas causam sofrimento clinicamente significativo ou prejuízo no funcionamento social ou ocupacional ou em outras áreas importantes da vida do indivíduo.*

*C. Os sintomas não se devem aos efeitos fisiológicos diretos de uma substância (por ex., droga de abuso ou medicamento) ou de uma condição médica geral (por ex., hipotireoidismo).*

*D. Os sintomas não são melhor explicados por Luto, ou seja, após a perda de um ente querido, os sintomas persistem por mais de 2 meses ou são caracterizados por acentuado prejuízo funcional, preocupação mórbida com desvalia, ideação suicida, sintomas psicóticos ou retardo psicomotor.*

## ANEXO 4

### INSTRUÇÕES PARA USAR A FOLHA DE RESPOSTAS

Leia todas as instruções com atenção antes de começar. Marque todas as respostas na folha de respostas.

Este questionário contém 240 afirmações. Leia cada item com atenção e preencha a alternativa que melhor corresponder a sua concordância ou discordância.

Marque **DT** se você **Discordar Totalmente** da afirmação, ou se ela não corresponder, de maneira alguma, à verdade  
 Preencha o campo **D** se você **Discordar** ou se a afirmação for, em quase sua totalidade, incorreta.  
 Preencha o campo **N** se você for **Neutro** com relação à afirmação, se você estiver indeciso, ou se a afirmação for ao mesmo tempo, correta e incorreta.  
 Preencha o campo **C** se você **Concordar** com a afirmação, ou se ela for na maioria das vezes correta.  
 Preencha o campo **CT** se você **Concordar Totalmente** com a afirmação ou se ela corresponder totalmente à verdade.

Não há respostas certas ou erradas e você não precisa ser um especialista para preencher este questionário. Seja honesto ao se descrever e dê sua opinião da maneira mais exata possível. Certifique-se que sua resposta foi assinalada corretamente ( no número correspondente ). Se você errar ou mudar de opinião, apague a primeira resposta completamente. Preencha então, o círculo que corresponde à sua resposta certa.

QUESTÕES	DT	D	N	C
1. Não sou uma pessoa preocupada.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
2. Eu realmente gosto da maioria das pessoas com quem travo conhecimento.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3. Tenho uma imaginação muito ativa.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
4. Tenho tendência a julgar negativamente e a duvidar das intenções dos outros.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5. Sou conhecido(a) pela minha prudência e bom senso.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
6. Frequentemente fico bravo com a maneira com que as pessoas me tratam.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
7. Eu me retraio e me afasto de multidões.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
8. Preocupações estéticas e artísticas não são muito importantes para mim.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
9. Não sou astucioso nem fingido.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
10. Prefiro manter minhas opções em aberto a planejar tudo com antecedência.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
11. Raramente me sinto solitário ou triste.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
12. Sou dominador, cheio de energia e firme nas minhas opiniões.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
13. Sem emoções fortes a vida não teria interesse para mim.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
14. Algumas pessoas acham que sou egoísta e egocêntrico.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
15. Tento realizar todas as tarefas que me foram dadas cuidadosamente.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
16. Quando lido com outras pessoas, tenho pavor de cometer gafes.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
17. Eu tenho um estilo descontraído no trabalho e no lazer.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
18. Sou muito preso ao meu jeito de fazer as coisas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
19. Prefiro cooperar com as pessoas do que competir com elas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
20. Sou despreocupado e pouco determinado.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
21. Raramente me excedo em alguma coisa.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

22.Freqüentemente fico ávido por diversão.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
23.Muitas vezes gosto de brincar com teorias e idéias abstratas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
24.Eu não me importo em me gabar das minhas capacidades e das minhas realizações.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<b>QUESTÕES</b>	<b>DT</b>	<b>D</b>	<b>N</b>	<b>C</b>
25.Eu sou muito bom em me organizar para fazer as coisas a tempo.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
26.Eu me sinto muitas vezes desamparado e desejando que alguém resolva meus problemas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
27. De verdade, eu nunca pulei de alegria.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
28.Acredito que permitir aos alunos que assistam a oradores polêmico só pode confundí-los e desorientá-los.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
29.Líderes políticos precisam estar mais atentos ao lado humano de sua política.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
30.Ao longo dos anos, fiz algumas coisas bem tolas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
31.Assusto-me facilmente.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
32.Não me dá muito prazer bater papo com outras pessoas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
33.Tento manter meus pensamentos orientados por limites realistas e evito dar asas à imaginação.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
34.Acredito que a maioria das pessoas são basicamente bem intencionadas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
35.Não levo à sério deveres cívicos, como por exemplo, votar.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
36.Sou uma pessoa de temperamento estável.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
37.Gosto de ter uma porção de pessoas ao meu redor.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
38.Algumas vezes me deixo absorver completamente pela música que estou ouvindo.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
39.Se necessário, estou disposto a manipular pessoas para conseguir o que quero.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
40.Mantenho minhas coisas limpas e em ordem.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
41.Às vezes me sinto completamente inútil.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
42.Às vezes eu falho em me afirmar tanto quanto eu deveria.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
43.Raramente experimento emoções fortes.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
44.Tento ser educado com toda pessoa que encontro.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
45.Às vezes não sou tão seguro ou digno de confiança quanto deveria ser.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
46.Poucas vezes, me sinto constrangido quando estou no meio de outras pessoas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
47.Quando faço alguma coisa, faço-a com determinação.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
48.Acho interessante aprender e desenvolver novos hobbies (passatempos).	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
49.Posso ser sarcástico e mordaz quando necessário.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
50.Tenho um conjunto de objetivos bem definidos e trabalho para atingí-los de uma maneira ordenada.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
51.Tenho dificuldades em resistir aos meus desejos.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
52.Não teria prazer em passar as férias em Las Vegas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
53.Acho as discussões filosóficas aborrecidas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
54.Prefiro não falar de mim nem das minhas realizações.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
55.Desperdiço muito tempo antes de me concentrar no trabalho.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
56.Sinto que sou capaz de lidar com a maioria de meus problemas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
57.Algumas vezes já experimentei intensa alegria ou êxtase.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
58.Acredito que as leis e as políticas sociais deveriam mudar a fim de refletir as necessidades de um mundo que está mudando.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
59.Sou teimoso e duro nas minhas atitudes.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
60.Eu analiso os fatos antes de tomar uma decisão.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

61.Raramente me sinto amedrontado ou ansioso.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
62.Sou conhecido(a) como uma pessoa afetuosa e amigável.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
63.Tenho uma grande capacidade de fantasiar.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
64.Acredito que a maior parte das pessoas irá se aproveitar de você, se você deixar.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<b>QUESTÕES</b>	<b>DT</b>	<b>D</b>	<b>N</b>	<b>C</b>
65. Eu me mantenho informado e geralmente tomo decisões inteligentes.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
66.Sou conhecido por ter o sangue quente e o pavio curto.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
67.Normalmente prefiro fazer as coisas sozinho.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
68.Assistir balé ou dança moderna me aborrece.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
69.Não conseguiria enganar ninguém, mesmo se eu quisesse.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
70.Não sou uma pessoa muito metódica (organizada).	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
71.Raramente estou triste ou deprimido.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
72.Geralmente sou líder dos grupos aos quais pertenço.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
73.É importante para mim a maneira como me sinto em relação às coisas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
74.Algumas pessoas me acham frio e calculista.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
75.Pago minhas contas imediata e completamente.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
76.Algumas vezes já me senti tão envergonhado que gostaria de me esconder.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
77.Minha forma de trabalhar habitualmente é vagarosa, mas constante.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
78.Quando acho o jeito certo de fazer alguma coisa, não mudo mais.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
79.Hesito em expressar minha raiva, mesmo quando é justificada.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
80.Quando começo um programa de auto-aperfeiçoamento, normalmente deixo-o de lado após alguns dias.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
81.Tenho pouca dificuldade em resistir a tentações.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
82.Algumas vezes já fiz coisas só “por farra” ou pela emoção.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
83.Gosto de resolver problemas ou quebra-cabeças.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
84.Sou melhor que a maioria das pessoas e tenho consciência disto.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
85.Sou uma pessoa produtiva que sempre faz o seu trabalho.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
86.Quando estou sob muita pressão, às vezes sinto como se fosse me desfazer em pedaços.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
87.Não sou um(a) otimista entusiasmado.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
88.Acredito que deveríamos considerar nossas autoridades religiosas nas decisões sobre problemas morais.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
89.O que fizermos pelos pobres e velhos, nunca será demais.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
90.Algumas vezes primeiro faço e depois penso.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
91.Muitas vezes me sinto tenso e agitado.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
92.Muitas pessoas me acham um pouco frio e distante.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
93.Não gosto de desperdiçar meu tempo sonhando acordado.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
94.Acredito que a maioria das pessoas com quem lido são honestas e dignas de confiança.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
95.Freqüentemente, me envolvo em situações sem estar devidamente preparado.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
96.Não sou considerado(a) uma pessoa sensível ou temperamental.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
97.Sinto realmente a necessidade de outras pessoas, se ficar sozinho(a) por muito tempo.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
98.Fico fascinado por modelos (padrões) que encontro na arte e na natureza.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
99.Ser absolutamente honesto é um jeito ruim de fazer negócios.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
100.Gosto de Ter tudo no lugar, pois assim sei exatamente onde	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

estão.				
101. Algumas vezes tenho experimentado um profundo sentimento de culpa ou de Ter pecado.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
102. Em reuniões, normalmente deixo que os outros falem.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
103. Raramente presto atenção ao que estou sentindo no momento.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
104. Normalmente procuro ser atencioso e Ter consideração.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<b>QUESTÕES</b>	<b>DT</b>	<b>D</b>	<b>N</b>	<b>C</b>
105. Às vezes trapaceio quando estou jogando paciência.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
106. Não fico muito embaraçado se as pessoas me ridicularizam ou me provocam.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
107. Frequentemente me sinto como se estivesse me arrebatando de tanta energia.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
108. Frequentemente experimento comidas novas e de outros países.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
109. Se eu não gosto de algumas pessoas, eu as faço saber.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
110. Trabalho “pra valer” para atingir minhas metas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
111. Quando estou comendo meus alimentos favoritos, tendo a comer demais.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
112. Tenho tendência a evitar filmes que sejam chocantes ou assustadores.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
113. Às vezes perco o interesse quando as pessoas conversam sobre assuntos muito abstratos e teóricos.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
114. Tento ser modesto.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
115. Tenho problemas em fazer com que eu faça os meus deveres.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
116. Mantenho a cabeça fria em situações de emergência.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
117. Às vezes, fico borbulhando de tanta felicidade.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
118. Acredito que idéias diferentes sobre o certo e o errado que pessoas de outras sociedades têm, podem ser válidas para elas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
119. Não tenho compaixão por pedintes.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
120. Sempre peso as conseqüências antes de agir.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
121. Raramente me preocupo com o futuro.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
122. Gosto muito de conversar com outras pessoas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
123. Gosto de me concentrar em uma fantasia ou sonho e de explorar todas as suas possibilidades, deixando-os crescer e se desenvolver.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
124. Desconfio quando alguém faz uma coisa boa para mim.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
125. Tenho orgulho do meu bom senso.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
126. Frequentemente, fico aborrecido com as pessoas com quem tenho que lidar.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
127. Prefiro trabalhos que posso fazer sozinho sem ser incomodado por outras pessoas .	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
128. A poesia tem pouco ou nenhum efeito sobre mim.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
129. Detestaria que me considerassem um hipócrita.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
130. Parece que nunca consigo me organizar.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
131. Tendo a me culpar quando alguma coisa dá errado.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
132. Muitas vezes, outras pessoas contam comigo para tomar decisões.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
133. Sinto uma grande variedade de emoções e sentimentos.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
134. Não sou conhecido(a) por minha generosidade.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
135. Quando eu assumo um compromisso, podem contar comigo até o fim.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
136. Frequentemente me sinto inferior aos outros.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
137. Não sou tão rápido(a) e vivo(a) quanto as outra pessoas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
138. Prefiro passar meu tempo em ambientes que me são familiares.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
139. Quando sou insultado, apenas tento perdoar e esquecer.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

140.Não me sinto forçado a tomar a dianteira (estar à frente no que faço).	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
141.Difícilmente cedo aos meus impulsos.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
142.Gosto de estar onde as coisas acontecem.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
143.Gosto de resolver quebra-cabeças do tipo que confunde a mente.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
144.Tenho ótima opinião a meu respeito.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
145.Quando começo um projeto, quase sempre termino.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<b>QUESTÕES</b>	<b>DT</b>	<b>D</b>	<b>N</b>	<b>C</b>
146.Para mim, muitas vezes é difícil tomar decisões.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
147.Não me considero especialmente alegre e despreocupado ("desencanado").	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
148.Acredito que a lealdade a nossos ideais e princípios é mais importante do que ter "a mente aberta".	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
149.As necessidades humanas deveriam ter sempre prioridade sobre considerações econômicas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
150.Freqüentemente faço coisas levado(a) pelo impulso do momento.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
151.Freqüentemente me preocupo com coisas que podem dar errado.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
152.Para mim é fácil sorrir e ser sociável com estranhos.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
153.Se percebo que estou começando a sonhar acordado, normalmente me concentro em alguma atividade ou trabalho.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
154.Minha primeira reação é confiar nas pessoas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
155.Não me parece que eu seja completamente bem sucedido em alguma coisa.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
156.É preciso muito para me deixar louco da vida.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
157.Prefiro passar as férias numa praia cheia de gente do que numa cabana isolada no bosque.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
158.Certos tipos de música exercem uma fascinação sem limites sobre mim.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
159.Às vezes eu manipulo as pessoas para que elas façam o que eu quero.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
160.Tenho tendência a ser exigente e difícil de agradar	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
161.Eu tenho uma opinião ruim a meu respeito	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
162.Prefiro seguir meu próprio caminho do que ser líder de outras pessoas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
163.Eu raramente percebo os estados de espírito e sentimentos que diferentes ambientes produzem.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
164.A maior parte das pessoas que eu conheço gostam de mim.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
165.Eu me mantenho rigorosamente fiel aos meus princípios éticos.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
166.Eu me sinto à vontade na presença dos meus chefes ou de outras autoridades.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
167.Eu normalmente pareço estar apressado.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
168.Às vezes eu faço algumas mudanças em na casa só para experimentar alguma coisa diferente.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
169.Se alguém começa uma briga, eu estou pronto para revidar.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
170.Eu me esforço para conseguir tudo que eu puder.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
171.Algumas vezes eu como até passar mal.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
172.Adoro a emoção da montanha russa.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
173.Eu tenho pouco interesse em especular sobre a natureza do universo ou sobre a condição humana.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
174.Eu sinto que não sou melhor que outros, não importando a condição deles.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
175.Quando um projeto torna-se muito difícil, eu me sinto inclinado a começar um novo.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

176.Eu consigo me controlar muito bem em situações de crise.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
177.Eu sou uma pessoa alegre e animada ("alto astral").	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
178.Eu me considero uma pessoa aberta e tolerante em relação ao estilo de vida de outras pessoas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
179.Eu acredito que todos os seres humanos são dignos de respeito.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
180.Eu raramente tomo decisões precipitadas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
181.Eu tenho menos "medos" do que a maioria das pessoas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
182.Eu tenho um forte apego emocional aos meus amigos.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
183.Quando criança, eu raramente gostava de jogos de faz de conta.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<b>QUESTÕES</b>	<b>DT</b>	<b>D</b>	<b>N</b>	<b>C</b>
184.Eu tendo a imaginar o melhor das pessoas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
185.Eu sou uma pessoa muito competente.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
186.Há momentos em que tenho me sentido amargo e ressentido.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
187.Os encontros sociais são geralmente entediantes para mim.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
188.Algumas vezes, quando estou lendo poesia ou olhando para uma obra de arte, eu sinto um arrepio ou uma onda de emoção.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
189.Às vezes eu intimido ou adulo ("puxo o saco") para que as pessoas façam o que eu quero.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
190.Não sou compulsivo com limpeza.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
191.Às vezes as coisas me parecem desoladoras e sem esperança.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
192.Nas conversas, eu tendo a falar a maior parte do tempo.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
193.Acho fácil ter empatia, isto é, sentir o que os outros estão sentindo.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
194.Penso em mim mesmo como uma pessoa caridosa.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
195.Eu tento fazer os trabalhos cuidadosamente para que eles não precisem ser feitos novamente.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
196.Se eu disse ou fiz alguma coisa errada para alguém, eu mal posso encarar essa pessoa novamente.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
197.Minha vida tem um ritmo agitado	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
198.Nas férias, eu prefiro retornar a um lugar autêntico e conhecido.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
199.Eu sou obstinado e teimoso.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
200.Eu busco excelência (perfeição) em tudo que eu faço.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
201.Às vezes eu faço coisas impulsivamente, das quais mais tarde eu me arrependo.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
202.Eu me sinto atraído por cores vivas e estilos exuberantes.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
203.Eu tenho muita curiosidade intelectual.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
204.Eu prefiro elogiar os outros do que ser elogiado(a).	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
205.Existem tantas pequenas tarefas que precisam ser feitas que, às vezes, eu simplesmente ignoro todas elas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
206.Mesmo quando tudo parece estar dando errado, eu ainda consigo tomar boas decisões.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
207.Eu raramente uso palavras com "fantástico!" ou "sensacional!" para descrever minhas experiências.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
208.Eu acho que se as pessoas não sabem em que acreditar aos 25 anos de idade, tem alguma coisa errada com elas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
209.Eu tenho compaixão por pessoas com menos sorte do que eu.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
210.Eu planejo cuidadosamente e com antecedência quando vou viajar.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
211.Às vezes pensamentos assustadores vêm à minha mente.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
212.Eu me interesso pessoalmente pelas pessoas com quem trabalho.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
213.Eu teria dificuldades em deixar minha mente vagar sem controle ou direção.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
214.Tenho bastante fé na natureza humana.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

215.Sou eficiente e eficaz no meu trabalho.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
216.Mesmo pequenos contratemplos podem ser frustrantes para mim.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
217.Eu gosto de festas cheias de gente.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
218.Eu gosto de ler poesias que dêem mais ênfase aos sentimentos e imagens do que a histórias.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
219.Eu me orgulho da minha astúcia em lidar com as pessoas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
220.Eu gasto muito tempo procurando por coisas que pus fora do lugar.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
221.Muito vezes, quando as coisas dão errada, eu fico desencorajado(a) e tenho vontade de desistir.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<b>QUESTÕES</b>	<b>DT</b>	<b>D</b>	<b>N</b>	<b>C</b>
222.Eu não acho fácil assumir o comando de uma situação.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
223.Coisas estranhas - como certos aromas ou nomes de lugares distantes - podem evocar em mim fortes emoções.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
224.Eu me desvio da minha trajetória para ajudar os outros, se eu puder.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
225.Eu teria que estar realmente doente para faltar a um dia de trabalho.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
226.Quando as pessoas que eu conheço fazem coisas tolas, eu fico envergonhado por elas.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
227.Eu sou uma pessoa muito ativa.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
228.Eu faço sempre o mesmo caminho quando vou a algum lugar.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
229.Freqüentemente eu entro em discussões com minha família e colegas de trabalho.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
230.Eu sou uma espécie de viciado em trabalho ( <i>workaholic</i> ).	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
231.Eu sempre consigo manter meus sentimentos sobre controle.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
232.Eu gosto de fazer parte da multidão nos eventos esportivos.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
233.Eu tenho uma ampla variedade de interesses intelectuais.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
234.Eu sou uma pessoa superior.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
235.Eu tenho muita autodisciplina.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
236.Eu sou bastante estável emocionalmente.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
237.Eu rio facilmente.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
238.Eu acredito que a "nova moralidade" baseada na permissividade, não é moralidade nenhuma.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
239.Eu preferiria ser conhecido como "misericordioso" do que "justo".	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
240.Eu penso duas vezes antes de responder uma pergunta.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

## ANEXO 5

## Avaliação Pessoal - BIS 11

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Instruções:** As pessoas divergem nas formas em que agem e pensam em diferentes situações. Isto é um teste para avaliar algumas das maneiras que você age ou pensa. Leia cada afirmação e preencha o círculo apropriado no lado direito da página. Não gaste muito tempo em cada afirmação. Responda rapidamente e honestamente.

	raramente ou nunca	de vez em quando	com freqüên- cia	quase sempre/ sempre
1. Eu planejo tarefas cuidadosamente	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
2. Eu faço coisas sem pensar	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3. Eu sou despreocupado (confio na sorte - "desencanado")	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
4. Eu tenho pensamentos rápidos	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5. Eu planejo viagens com bastante antecedência	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
6. Eu sou controlado	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
7. Eu me concentro facilmente	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
8. Eu poupo regularmente	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
9. Eu acho difícil ficar sentado sem mexer por longos períodos de tempo	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
10. Eu sou um pensador cuidadoso	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
11. Eu faço planos para um trabalho seguro	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
12. Eu falo coisas sem pensar	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
13. Eu gosto de pensar em problemas complexos	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
14. Eu troco de trabalho	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
15. Eu ajo por impulso	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
16. Eu fico facilmente entediado quando estou resolvendo problemas mentalmente	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
17. Eu faço "chek-up" médico e odontológico regularmente	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
18. Eu atuo irrefletidamente levado pelas circunstâncias	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
19. Eu sou um pensador equilibrado	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
20. Eu troco de moradia	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
21. Eu compro coisas por impulso	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
22. Eu acabo o que começo	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
23. Eu ando e me mexo rápido	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
24. Eu resolvo problemas por tentativa e erro	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
25. Eu gasto ou compro a prestação mais do que ganho	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
26. Eu falo rápido	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
27. Eu tenho idéias fora de contexto quando estou pensando	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
28. Eu estou mais interessado no presente do que no futuro	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
29. Eu fico inquieto em palestras ou conversas	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
30. Eu faço planos para o futuro	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>