ALESSANDRA FERNANDES FAUSTINO

Alterações na imunidade inespecífica subseqüentes à
indução de estresse agudo em indivíduos com fobia
social e pessoas sem patologias psiquiátricas

Tese apresentada ao Instituto de
Ciências Biomédicas da Universidade
de São Paulo para obtenção do *Título
de Doutor em Ciências (Farmacologia)*

São Paulo
2005

ALESSANDRA FERNANDES FAUSTINO

Alterações na imunidade inespecífica subsequentes à
indução de estresse agudo em indivíduos com fobia
social e pessoas sem patologias psiquiátricas

Tese apresentada ao Instituto de
Ciências Biomédicas da Universidade
de São Paulo para obtenção do *Título
de Doutor em Ciências*.

Área de concentração: Farmacologia

Orientadora:
Prof^a Dr^a Clarice Gorenstein

São Paulo
2005

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

© reprodução total

Faustino, Alessandra Fernandes.

Alterações na imunidade inespecífica subseqüentes à indução de estresse agudo em indivíduos com fobia social e pessoas sem patologias psiquiátricas / Alessandra Fernandes Faustino. -- São Paulo, 2005.

Orientador: Clarice Gorenstein.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Farmacologia. Área de concentração: Farmacologia. Linha de pesquisa: Psiconeuroimunologia.

Versão do título para o inglês: Alterations in inespecific immunity subsequent to the induction of acute stress in individuals with social phobia and persons without psychiatric disorders.

Descritores: 1. Psiconeuroimunologia 2. Fobia social 3. Estresse agudo 4. Resposta imune inespecífica 5. Falar em público 6. Traços de personalidade I. Gorenstein, Clarice II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós Graduação em Farmacologia. III. Título.

ICB/SBIB036/2005

Edvard Munch – Anxiety, 1894
Oil on canvas
94 x 73 cm

Autorização para Reprodução

Para fins acadêmicos e científicos está autorizada a partir de 05/03/2005 a reprodução total ou parcial, por processos fotocopiadores e eletrônicos.

Assinatura da Autora:

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Herguilla', written over a faint rectangular grid.

Ciência da Orientadora:

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidata: Alessandra Fernandes Faustino.

Tese: Alterações na imunidade inespecífica subseqüentes à indução de estresse agudo em indivíduos com fobia social e pessoas sem patologias psiquiátricas .

Orientadora: Clarice Gorenstein.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em 18/04/2005, considerou

(X) **Aprovado(a)**

() **Reprovado(a)**

Examinador(a) Assinatura

Nome: Myrthes Anna Maragna Toledo Barros

Médica do Serviço de Alergia e Imunologia Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Examinador(a) Assinatura

Nome: Moisés Evandro Bauer

Professor Adjunto do Departamento de Ciências Microbiológicas da Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Examinador(a) Assinatura

Nome: Francisco Silveira Guimarães

Professor Associado do Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Examinador(a) Assinatura

Nome: Sonia Jancar Negro

Professor Titular do Departamento de Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 - cep. 05508-000 São Paulo, SP - Brasil
Telefone : (55) (11) 3091.7733 - telefax : (55) (11) 3091-7438
e-mail: cep@icb.usp.br

São Paulo, 19 de julho de 2002

PARECER 315/CEP

Prezada Senhora,

Atendendo sua solicitação, a *Comissão de Ética em Pesquisas com seres humanos do ICB*, em sua vigésima nona reunião, analisou o projeto de sua responsabilidade intitulado: "ALTERAÇÕES IMUNES SUBSEQUENTES À INDUÇÃO DE ESTRESSE AGUDO EM PACIENTES COM FOBIA SOCIAL E INDIVÍDUOS SEM PATOLOGIAS PSIQUIÁTRICAS".

Informo que, após análise e discussão, **esta Comissão decidiu por acatar o parecer favorável emitido pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP.**

Esclareço a V.Sa. que dentro de 12 meses, relatório do referido projeto deverá ser encaminhado à Secretaria deste CEP.

Cordialmente,

Prof. Dr. GERHARD MALNIC
Coordenador da Comissão de Ética em
Pesquisas com Seres Humanos - ICB /USP

Ilma. Sra.

Dra. **ALESSANDRA FERNANDES FAUSTINO**
Departamento de Farmacologia do ICB-USP

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

D A

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CAIXA POSTAL, 8091

SÃO PAULO – BRASIL

DIRETORIA CLÍNICA

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 09/02/2000, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº 795/99 intitulado: *"Alterações imunes subsequentes à indução de estresse agudo em pacientes com fobia social e indivíduos sem patologias psiquiátricas"*, apresentado pelo(a) pesquisador(a) **Alessandra de Araújo Faustino**, do **Departamento de Psiquiatria**, bem como o Termo de Consentimento Pós-Infamação.

CAPPesq, 09 de Fevereiro de 2.000.

PROF. DR. JORGE KALIL FILHO
Presidente da Comissão Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa

OBSERVAÇÃO: Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IX.2, letra "c")

Dedicatória

Ao Henrique que trouxe dias mais bonitos à minha vida...

"No, no they can't take that away from me..."

George & Ira Gershwin

Agradecimentos

A lista de agradecimentos é longa e não quero correr o risco de esquecer ninguém. Afinal sem as contribuições, colaborações e apoios das mais diversas formas a essa pesquisa o trabalho não teria sido concluído...

Clarice, nada que eu consiga escrever aqui vai expressar meu agradecimento a você adequadamente. Não sou boa com palavras mas espero conseguir ser capaz de retribuir (em breve) pelo menos uma pequena parte do que você me proporcionou. Eu sei que uma viagem para a Europa com todas as despesas pagas e algumas garrafas de bom champagne seria um bom começo...

Aos seres pacientes que tiveram tempo, disposição e boa vontade para me ensinar:

Prof^a Dr^a Clarice Gorenstein

Prof^a Dr^a Hiro Goto

Prof Dr Magnus Ake Gidlund

Prof^a Dr^a Euthymia Brandão de Almeida Prado

Prof Dr José Ângelo Lauletta Lindoso

Mariko Yokoo

Prof Dr Francisco Lotufo Neto

Prof Dr Valentim Gentil Filho

Ao apoio financeiro fornecido pela Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

A todos os voluntários que participaram do estudo e àqueles que doaram seu sangue, seu tempo e sua paciência para o sucesso dessa empreitada.

As instituições e laboratórios que participaram das inúmeras e infindáveis análises clínicas:

LIM-56

LIM-27

Laboratório Central do Hospital das Clínicas e suas Divisões

Laboratório de Análises Clínicas do INCOR

Laboratório Fleury

Às pessoas que me ajudaram em diversos momentos e de diversas formas, nas longas madrugadas, nas lágrimas, nas gargalhadas, no apoio, nas broncas, no material, no afetivo, nos números, enfim, na vida...

Cláudia Valéria Garcia

Belmiro Ramos

Selma Rigonati

Julieta dos Santos

Lívia Renó

Stefânia Caldeira

Daniel Fuentes

Joel Renó

Leda Talib (LIM 27)

Ana Angélica Bulcão

Regiane Mathias

Edna Souza

Prof^a Dr^a Déborah Sucheki

Prof Dr Márcio Antonini Bernik

Prof^a Dr^a Myrthes Toledo Barros

Prof^a Dr^a Mariângela Gentil Savoia

Prof^a Dr^a Sônia Jancar

Prof Dr Júlio Singer

Ellena Christina Paulino

Frederico Barboza Júnior

Lorena Borja

Beth Aguirra

Luciana (Amban)

Cristiane (Amban)

Fabício (LIM 56)

Prof^a Dr^a Célia Strunz

Marli (Laboratório Incor)

Solange Andreoni

Patrícia Rosa

À minha família que sempre está a meu lado por maiores que sejam as tempestades na minha vida.

Perdão àqueles que esqueci de mencionar nominalmente, mas como vocês sabem, o estresse prejudica a memória...

Resumo

Faustino AF. Alterações na imunidade inespecífica subseqüentes à indução de estresse agudo em indivíduos com fobia social e pessoas sem patologias psiquiátricas [tese]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2005.

As interações entre o sistema nervoso central e os sistemas imune e endócrino são o objeto de estudo da psiconeuroimunologia. Protocolos de indução de estresse têm sido amplamente utilizados como métodos confiáveis de investigação da relação entre transtornos psiquiátricos, aspectos psicológicos, traços de personalidade, ansiedade e a resposta imune. O procedimento de simulação de falar em público (SFP) é um protocolo experimental validado que reconhecidamente é capaz de ativar o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e produzir respostas de estresse em sujeitos humanos. Esse método foi utilizado para: 1) Comparar a reatividade imunológica de indivíduos com diagnóstico de fobia social com a de indivíduos sem qualquer diagnóstico psiquiátrico; 2) Investigar se ocorrem alterações imunes subseqüentes à exposição a um estressor agudo induzido em laboratório e 3) identificar e correlacionar parâmetros imunológicos com traços de personalidade, humor, níveis de ansiedade e medidas fisiológicas. Os traços de personalidade foram investigados por meio dos seguintes instrumentos: Inventário de Temperamento e Caráter (TCI), Escala de Afeto Positivo e Negativo (PANAS), Inventário de Ansiedade Traço (IDATE-T), Inventário de Depressão de Beck (BDI), Inventário de Estratégias de "Coping" de Folkman e Lazarus e Adaptação da Escala de Percepção de Estresse (PSS). Os sintomas de ansiedade foram avaliados por

meio da Escala Analógica Visual de Humor (VAMS), da Escala de Sintomas Somáticos (ESS) e do IDATE-Estado. As variáveis psicofisiológicas avaliadas foram pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD), batimentos cardíacos (BPM), resposta galvânica da pele (GSR) e temperatura. Os níveis plasmáticos de catecolaminas (adrenalina, noradrenalina e dopamina) e hormônios do eixo HPA (cortisol e ACTH) também foram dosados. Realizou-se a contagem de células imunes polimorfonucleares e mononucleares no sangue periférico e mediu-se a atividade citotóxica de células NK e neutrófilos. Dosou-se proteínas de fase aguda e imunoglobulinas (A, D, G, M e E) a produção de citocinas no sangue por ELISA e RT-PCR. Os dados foram submetidos a análises de variância para dados com medidas repetidas testando efeitos de grupo, sexo, momento experimental e interações. As correlações entre as variáveis foram testadas por regressões múltiplas e coeficientes de correlação de Pearson. Os resultados apontam que o SFP foi eficiente para induzir estresse e produzir alterações detectáveis em diversos dos parâmetros investigados. As diferenças entre fóbicos sociais e controles são significativas para traços de personalidade e atuam ao longo do tempo para as medidas psicofisiológicas. Alterações imunes e hormonais estiveram mais frequentemente associadas ao gênero do que ao grupo experimental, e afetaram mais homens. Além disso, as alterações imunes foram de pequena magnitude afetando componentes inespecíficos da resposta imune. Conjuntamente, os resultados apontam uma relativa ativação do eixo HPA em fóbicos mas que não corresponde a alterações imunes de mesma magnitude. Mais estudos com uma amostra maior e a investigação de outros parâmetros são necessários para compreender melhor como a fobia social afeta o sistema imune de homens e mulheres e investigar se as alterações podem aumentar a susceptibilidade a doenças nesse grupo de sujeitos. Uma vez que essa interação seja melhor compreendida poderá subsidiar estratégias mais adequadas para abordar e elaborar estratégias de prevenção e intervenção capazes de promover comportamentos saudáveis.

Palavras-chave: psiconeuroimunologia, fobia social, estresse, falar em público, ansiedade, eixo HPA, resposta imune inespecífica, humanos, diferenças de gênero, traços de personalidade.

Abstract

Faustino AF. Alterations in inespecific immunity subsequent to the induction of acute stress in individuals with social phobia and persons without psychiatric disorders [thesis]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2005.

Interactions among the nervous, immune and endocrine systems are the object of study of Psychoneuroimmunology. Stress protocols have been broadly used as reliable means to investigate the relationship among psychiatric disorders, psychological aspects, personality traits, anxiety and immune response has been studied using these interactions. The Simulated Public Speaking (SPS) is a validated experimental procedure known to activate the Hypothalamus-Pituitary-Adrenal (HPA) axis and produce stress responses in human subjects. This method was used to: 1) compare the immune reactions of individuals with a diagnosis of social phobia to that of individuals without any psychiatric diagnosis; 2) investigate if immune alterations occur subsequent to the exposure to an acute laboratory induced stressor; 3) identify and correlate immune parameters with personality traits, mood, anxiety levels and physiologic measures. Personality traits were investigated with Cloninger's Temperament and Character's Inventory (TCI), Positive and Negative Affects Scale (PANAS), State-Trait Anxiety Scale (STAI-T), Beck's Depression Inventory (BDI), Lazarus's Coping Strategies Inventory, Perceived Stress Scale (PSS). Anxiety symptoms were investigated along the procedure with the Bodily Symptoms Scale (ESS), STAI-E and the Visual Analogue Mood Scale (VAMS). Psychophysiologic variables assessed were Systolic (PAS) and Diastolic (PAD) Blood Pressure, Heart Rate

(BPM), Galvanic Skin Response (GSR) and temperature. Plasmatic circulating levels of catecholamines (Adrenaline, Noradrenaline and Dopamine) and HPA axis hormones (Cortisol, ACTH) were assessed. Peripheral blood cell population counts were obtained for polymorphonuclear (PMN) and mononuclear cells. Cytotoxic activity of neutrophils and NK cells was assessed, as well as cytokine production by ELISA and RT-PCR. Acute phase proteins and immunoglobulins (A, D, G, M, and E) were dosed on peripheral blood. Data was submitted to variance analysis for data with repeated measures testing effects of group, sex, experimental moment and interactions on variables. Correlations among variables were tested by multiple regressions and Pearson's correlation deltas. The results show SPS was efficient in inducing stress and produce detectable alterations in several of the parameters investigated. Differences between social phobics and controls are significant for personality traits and, along time for psychophysiological measures. Hormonal and immune alterations were more often associated to gender rather than to the group subjects belonged to, with men being more susceptible to the procedure. Also, immune changes were of small magnitude, usually affecting inespecific components of the response. Together, the results point to a relatively higher activation of the HPA-axis in social phobics, but one that does not correspond to immune responses of the same magnitude. Further studies with a larger sample and investigation of other parameters are necessary to better understand how social phobia affects the immune system of men and women and to investigate if the alterations can increase susceptibility to diseases in this group of individuals. Once this interaction is better understood it may provide the basis for an improved design to approach and elaborate prevention/intervention strategies and promote healthy behaviours.

Key words: Psychoneuroimmunology, social phobia, stress, public speaking, anxiety, HPA axis, inespecific immune response, humans, gender differences, personality traits.

Lista de Figuras

Figura 1 – Representação esquemática simplificada dos componentes central e periférico do sistema de estresse _____	31
Figura 2 – Foto da posição do braço onde era inserido o catéter e colocados os eletrodos para aquisição dos dados de GSR e temperatura _____	54
Figura 3 – Foto da sala experimental _____	54
Figura 4 – Discurso em frente à câmera de vídeo _____	55
Figura 5 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP na pressão arterial sistólica _____	81
Figura 6 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP na pressão arterial diastólica _____	82
Figura 7 – Efeitos da exposição à SFP nos batimentos cardíacos por minuto (BPM) _____	83
Figura 8 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP na ansiedade medida pelo IDATE-E _____	84
Figura 9 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP nos sintomas somáticos de ansiedade medidos pela ESS _____	86
Figura 10 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no Item 2 da ESS _____	87
Figura 11 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no Item 3 da ESS _____	87
Figura 12 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no Item 4 da ESS _____	88
Figura 13 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no Item 5 da ESS _____	88
Figura 14 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no Item 6 da ESS _____	89
Figura 15 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no Item 7 da ESS _____	90
Figura 16 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no Item 8 da ESS _____	90
Figura 17 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no Item 9 da ESS _____	91
Figura 18 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no Item 10 da ESS _____	91
Figura 19 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no Item 11 da ESS _____	92
Figura 20 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no Item 12 da ESS _____	92
Figura 21 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no Item 13 da ESS _____	93
Figura 22 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no Item 14 da ESS _____	93
Figura 23 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no item 1 da VAMS _____	95

Figura 24 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no item 2 da VAMS	96
Figura 25 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no item 3 da VAMS	97
Figura 26 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no item 4 da VAMS	98
Figura 27 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no item 6 da VAMS	99
Figura 28 - Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no item 7 da VAMS	100
Figura 29 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no item 8 da VAMS	101
Figura 30 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no item 9 da VAMS	102
Figura 31 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no item 10 da VAMS	103
Figura 32 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no item 12 da VAMS	104
Figura 33 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no item 13 da VAMS	105
Figura 34 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no item 14 da VAMS	106
Figura 35 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no item 16 da VAMS	107
Figura 36 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no item 18 da VAMS	108
Figura 37 – Gráfico dos efeitos da exposição à SFP no item 20 da VAMS	109
Figura 38 – Efeitos da exposição à SFP nos níveis plasmáticos de noradrenalina (pg/mL)	110
Figura 39 – Efeitos da exposição à SFP nos níveis plasmáticos de adrenalina (pg/mL)	111
Figura 40 – Efeitos da exposição à SFP nos níveis plasmáticos de ACTH (pg/mL)	112
Figura 41 - Efeitos da exposição à SFP nos níveis plasmáticos de cortisol (µg/dL)	113
Figura 42 - Efeitos da exposição à SFP nas porcentagens de linfócitos B CD19+ circulantes no sangue periférico	114
Figura 43 – Efeitos da exposição à SFP nas porcentagens de linfócitos T CD3+ circulantes no sangue periférico	115
Figura 44 – Efeitos da exposição à SFP nas porcentagens de linfócitos T CD4+ circulantes no sangue periférico	116
Figura 45 – Efeitos da exposição à SFP nas porcentagens de linfócitos T CD8+ circulantes no sangue periférico	117
Figura 46 – Efeitos da exposição à SFP nas taxa de linfócitos T CD4+/CD8+ circulantes no sangue periférico	118
Figura 47 – Efeitos da exposição à SFP na porcentagem de células NK CD56+ circulantes no sangue periférico	119
Figura 48 – Efeitos da exposição à SFP nos níveis séricos do Complemento C3c	120
Figura 49 – Efeitos da exposição à SFP nos níveis séricos de α-1-antitripsina	121
Figura 50 – Efeitos da exposição à SFP nos níveis de Interferon-γ (pg/mL) em sangue periférico total, dosado por ELISA, em culturas de 24 horas de LPS (30 ng/µL)	122
Figura 51 – Foto (negativo) RT-PCR de citocinas em gel de agarose a 1,5%, momento LBE.	123
Figura 52 - Foto (negativo) RT-PCR de citocinas em gel de agarose a 1,5%, momento DES.	123
Figura 53 – Foto (negativo) RT-PCR de citocinas em gel de agarose a 1,5%, momento FIN.	123
Figura 54 – Gráfico da curva ROC para o fator Esquiva ao Dano - Total do TCI.	126

Lista de tabelas

Quadro 1. – Funções e características do sistema imune _____	26
Quadro 2. – Sequência de pares de oligonucleotídeos para RT-PCR) _____	70
Tabela 1. – Idade (Média $\pm$ 2 EPM) dos sujeitos da amostra _____	76
Tabela 2. – Características sócio -demográficas da amostra _____	77
Tabela 3. – Fatores e sub-fatores significativos do TCI (médias $\pm$ desvios-padrão) para efeito de grupo _____	78
Tabela 4. – Efeitos significativos de grupo para escalas e inventários psicométricos de avaliação (médias $\pm$ desvios-padrão) _____	78
Tabela 5. – Itens da Escala Analógica de Avaliação do Experimento (médias $\pm$ desvios-padrão) _____	79
Tabela 6. – Variáveis com efeito significativo e marginal de interação grupo x sexo na ANOVA (médias $\pm$ desvios-padrão) _____	80
Tabela 7. – Níveis Descritivos Significativos (valores de p) dos itens da ESS. _	86
Tabela 8. – Níveis Descritivos significativos (valores de p) dos itens da VAMS_	94
Tabela 9. - N e porcentagens de respostas positivas para HPRT por momento do experimento _____	124
Tabela 10. – N e porcentagens de respostas positivas para IL-6 por momento do experimento _____	124
Tabela 11. – Componentes da variância para a escala ANA _____	125

Lista de abreviaturas e siglas

ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
ANA	Escala Analógica de Avaliação do Experimento
ANOVA	Análise de Variância
ANT	Antecipatória
BDI	Inventário de Depressão de Beck
BPM	Batimentos Cardíacos
BPM	Batimentos por Minuto
DES	Desempenho
ELISA	Ensaio imunoenzimático
EPM	Erro Padrão da Média
ESS	Escala de Sintomas Somáticos
FIN	30 min. após o fim da SFP
GSR	Resposta Galvânica da Pele
HAM-A	Escala de Ansiedade de Hamilton
HAM-D	Escala de Depressão de Hamilton
HPA	Hipotálamo -Hipófise Adrenal
HPRT	Hipoxantina Fosforibosiltransferase
IDATE	Inventário de Ansiedade Traço - Estado
IFN- γ	Interferon-gama
IL	Interleucina
LBE	Basal
NK	Natural Killer
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PANAS	Escala de Afeto Positivo e Negativo
PAS	Pressão Arterial Sistólica
POS	ao fim da SFP
PSS	Escala de Percepção de Estresse
RT-PCR	Reação em Cadeia da Polimerase por Transcrição Reversa
SCID	Entrevista Clínica Estruturada para o DSM –IV
SFP	Simulação de Falar em Público
TCI	Inventário de Temperamento e Caráter
VAMS	Escala Analógica Visual de Humor

Sumário

1.	Introdução	23
1.1.	O sistema imune	24
1.1.1.	Citocinas	28
1.2.	O sistema endócrino e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal	30
1.3.	Estresse	32
1.3.1.	Tipos de estressores e alterações encontradas	32
1.4.	Variáveis psicológicas e transtornos psiquiátricos	38
1.4.1.	Ansiedade e Fobia Social	41
1.5.	Modelos experimentais para indução de ansiedade e o teste de simulação de falar em público	45
2.	Objetivos	47
3.	Material e Métodos	49
3.1.	Sujeitos	50
3.2.	Critérios de Inclusão	50
3.3.	Ética	51
3.4.	Procedimento experimental	51
3.4.1.	Seleção de voluntários e pacientes:	51
3.4.2.	Procedimento do Teste de Simulação de Falar em Público (SFP)	53
3.5.	Instrumentos de Avaliação	57

3.5.1.	Psicométricos	57
3.5.1.1.	Triagem:	57
3.5.1.2.	Caracterização do perfil psicológico:	58
3.5.1.3.	Avaliação do estado físico e psíquico durante o experimento:	59
3.6.	Medidas Fisiológicas	60
3.7.	Avaliação do perfil imunológico e endócrino	60
3.7.1.	Separação de células mononucleares	60
3.7.2.	Atividade Citotóxica de células NK	61
3.7.3.	Análise de alteração funcional de neutrófilos	62
3.7.4.	Contagem diferencial de linfócitos	65
3.7.5.	Perfil de citocinas	65
3.7.6.	Dosagem de hormônios	66
3.7.7.	Dosagem de catecolaminas plasmáticas	67
3.7.8.	Dosagem de proteínas de fase aguda e imunoglobulinas	68
3.7.9.	Padronização da técnica de RT-PCR	68
3.8.	Análise Estatística	71
3.8.1.	Para variáveis medidas em um único momento (pré-experimento)	71
3.8.2.	Para variáveis medidas mais de uma vez ao longo do experimento	71
3.8.3.	Análise Fatorial	72
3.8.4.	Análise Discriminante	73
3.8.5.	Análises de regressão múltipla	73
3.8.6.	Análise de correlação para as variações entre os momentos do experimento (DES-LBE)	74
4.	Resultados	75
4.1.	Caracterização da Amostra	76
4.2.	Perfil psicológico dos pacientes e voluntários	77
4.3.	Variáveis Medidas na Sessão Experimental	80
4.3.1.	Fisiológicas	80
4.3.2.	Escalas de Avaliação	84
4.3.3.	Níveis de Catecolaminas	109
4.3.4.	Níveis Hormonais	111
4.3.5.	Variáveis Imunes	113
4.3.5.1.	Celulares	113
4.3.5.2.	Humorais	119
4.3.5.3.	RT-PCR de Citocinas	122
4.4.	Análise Fatorial	124
4.5.	Análise discriminante para grupos	125
4.6.	Análises de regressão múltipla	126
4.7.	Análise de correlação para as variações entre os momentos do experimento (DES-LBE)	129
5.	Discussão	130
6.	Conclusão	153
7.	Referências Bibliográficas	155
8.	Anexos	170
	Anexo 1 - Escala de Avaliação de Humor – VAMS	171
	Anexo 2 - PANAS	172
	Anexo 3 - IDATE - Escala Traço	173
	Anexo 4 - IDATE - Escala Estado	174
	Anexo 5 - Escala de Avaliação de Ansiedade de Hamilton (HAM-A)	175
	Anexo 6 - Escala de Hamilton - Depressão	176

Anexo 7 - Escala de Sintomas Somáticos – ESS_____	179
Anexo 8 - Escala de Avaliação do Experimento – ANA _____	180
Anexo 9 - inventário de Depressão de Beck_____	181
Anexo 10 - Escala de Percepção de Estresse _____	183
Anexo 11 - TCI _____	184
Anexo 12 - Inventário de Estratégias de Coping de Folkman Lazarus	191
Anexo 13 - Escala de Aborrecimentos e Satisfações_____	193
Anexo 14 - Roteiro de questões a serem incluídas na entrevista psiquiátrica _____	194
Anexo 15 - Anamnese _____	195
Anexo 16 - Listagem dos exames de triagem para inclusão no estudo	197
Anexo 17 - Instruções para participação no experimento _____	198
Anexo 18 - Instruções adicionais do experimento _____	200

1 Introdução

Nos últimos 25 anos houve um aumento significativo no número de artigos publicados acerca das interações entre o sistema nervoso central, o sistema endócrino e o sistema imunológico. Esses estudos acumularam-se rapidamente compondo uma área multidisciplinar denominada psiconeuroimunologia, que abrange estudos *in-vivo* e *in-vitro*, em contextos naturalísticos ou de laboratório. Müller e Ackenheil, (1998) definem como o objetivo da psiconeuroimunologia elucidar as influências recíprocas do sistema nervoso e do imune e seus efeitos no comportamento e saúde. Diversas outras definições existem, porém, compartilham a ênfase sobre o aspecto interativo e bidirecional da comunicação entre o sistema nervoso, o imune, o endócrino e o funcionamento psicológico do indivíduo.

O crescente interesse na área deve-se a diversos fatores, tais como, os refinamentos nas técnicas de marcação e de análise das substâncias envolvidas na função imunológica (tanto *in-vitro* quanto *in-vivo*), à expansão dos conhecimentos acerca da comunicação inter e intracelular, mas acima de tudo, à integração dos conhecimentos de diversas áreas. A compreensão integrada dos diversos processos envolvidos na modulação da resposta imune a patógenos e doenças auto-imunes produziu avanços significativos na área. Um dos desdobramentos é a possibilidade de elaboração de programas preventivos mais específicos, no sentido de modificar comportamentos de risco que possam levar à manifestação ou agravamento de doenças.

Uma breve apresentação do sistema imunológico é necessária para permitir a compreensão dos aspectos que se pretende abordar nesta tese.

1.1 O sistema imune

O sistema imunológico engloba processos complexos de interações célula-célula e célula-mediadores. Sua atuação é ampla e envolve mecanismos diferenciados de respostas para eliminação de agentes infecciosos particulares: imunidade inespecífica e imunidade específica ou adaptativa.

A imunidade inespecífica ou inata é a primeira linha de defesa do organismo contra agentes infecciosos e lesões teciduais e sua ação é restringir a lesão e a infecção ao local do ferimento ou ao ponto de entrada do agente no organismo (MAIER; WATKINS, 1998; ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2000). De acordo com Abbas, Lichtman e Pober (2000) os principais componentes da imunidade inata são: 1) barreiras físicas e químicas, como o epitélio e substâncias antimicrobianas produzidas em superfícies epiteliais; 2) células fagocíticas (mononucleares - macrófagos, monócitos, mastócitos e polimorfonucleares - neutrófilos, basófilos, eosinófilos) e células "*natural killer*" (NK); proteínas sanguíneas, incluindo membros do sistema do complemento e outros mediadores inflamatórios; e citocinas, que coordenam e regulam muitas das atividades celulares da imunidade inata. Tanto as células NK (importantes para a defesa contra vírus e células tumorais) quanto os fagócitos são populações celulares que reconhecem e são ativadas por padrões inespecíficos de substâncias não-próprias ("*non-self*") ou produzidas por células lesadas e atuam sem a necessidade de proliferação. A atividade dessas células provoca uma cascata de reações por meio de liberação de mediadores que interferirão em diferentes mecanismos, desencadeando um processo inflamatório. O quadro 1 apresenta alguns tipos de células do sistema imune e sua função.

Na imunidade adaptativa, substâncias estranhas (patógenos) reconhecidas como não-próprias são identificadas no organismo. Existem dois tipos de repostas imunes adaptativas denominadas celular e humoral, as quais são mediadas por diferentes componentes e funções do sistema imune para eliminação de micróbios (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2000).

A imunidade humoral é mediada por anticorpos, uma classe de moléculas produzidas por linfócitos B. Quando os linfócitos B são ativados eles se diferenciam, passam um processo de maturação e transformam-se em plasmócitos (que secretam grandes quantidades de anticorpos), ou em células de memória (que responderão muito mais rapidamente em um próximo contato com o antígeno). Os anticorpos secretados são específicos para cada antígeno e diferentes tipos de anticorpos ativam mecanismos efetores distintos. Suas funções são: reconhecimento de antígenos microbianos, neutralização de sua

infectividade e marcação dos antígenos para eliminação por outros mecanismos efetores (opsonização). A imunidade humoral é o principal mecanismo de defesa contra micróbios extracelulares e sua toxinas.

Quadro 1 – Funções e características do sistema imune

		Tipo celular	Ação	Aspectos particulares
Linfócitos	T - Helper	CD4 efetora	Direcionadora da resposta imune. Reconhecimento de células infectadas por parasitas fagocitados; ativa linfócitos B, macrófagos, células dendríticas, PMN, NK; altera a permeabilidade vascular no local e a secreção de citocinas com ação endócrina	Leva pelo menos 4 dias para alcançar um número mínimo de células capazes de reagir. Polariza a diferenciação de um padrão TH1, TH2 ou TH0
		CD4 memória	Ativa proliferação de clones para combate a antígenos específicos	
	T - Reguladores	CD8 regulatório	Inibe a diferenciação de linfócitos B em plasmócitos, desliga a atividade imune mediada por anticorpos regulando a função imune e bloqueia a atividade de T helper na hipersensibilidade tardia	Geralmente depende de órgãos linfóides secundários como linfonodos e baço para maturação
		CD8 citotóxico	Imunidade anti-viral e anti-tumoral específica (depende de apresentação de antígenos)	Seus produtos são altamente tóxicos
		Célula NK	Imunidade anti-viral e anti-tumoral inespecífica. Particularmente ativa contra células infectadas pelo herpes-vírus e pelo citomegalovírus	Funciona como célula efetora matando os alvos sem a necessidade de intervenção de outros fatores, embora sua ação seja mais eficiente se ativada por células CD4 ⁺
	B	Célula de memória	Resposta específica a antígenos ao qual o organismo já foi exposto	Alta especificidade
		Plasmócito	Grande produção de anticorpos específicos	
polimorfonucleares		Neutrófilo	Fagocita bactérias e libera enzimas que destrói bactérias	Atraído ao local por fatores quimiotáticos
		Basófilo	Tem atividade fagocítica. Pode migrar para tecidos onde é estimulado por imunocomplexos formados por IgE mais antígeno	Semelhança morfológica com mastócitos
		Eosinófilo	Provoca reação de hipersensibilidade. Exerce efeitos citotóxicos em microorganismos	Sobrevive por semanas no tecido extravascular se ativada
mononucleares		Monócitos	Grande capacidade fagocitária, engloba partículas maiores como fungos e bactérias. Ingere e processa antígenos e os apresenta para linfócitos T e B	Ao amadurecer transforma-se em macrófago. Após, migra para os tecidos onde pode permanecer por dias ou anos
		Macrófago	Fagocitose, apresentação de antígenos e ativação de linfócitos. Importante para iniciação da resposta imune com liberação de IL-1	Monócito amadurecido. Regulado por linfócitos T
		Mastócito	Célula presente no tecido conjuntivo com muitos grânulos citoplasmáticos. Responsável pela reação de hipersensibilidade.	Armazena mediadores químicos de inflamação em seus grânulos, ex: histamina, heparina, serotonina e fatores quimiotáticos dos neutrófilos
		Célula dendrítica	Apresentação de antígenos e fagocitose	APC mais eficiente que macrófagos

A imunidade celular é mediada por um grupo de células denominadas linfócitos T. Na imunidade celular, antígenos são englobados por células com função fagocitária, as células apresentadoras de antígenos (APC). Após a fagocitose, os antígenos são processados e pedaços específicos (epítomos) são expostos na membrana das APCs. Esses epítomos que são “apresentados” na superfície da célula são reconhecidos por uma classe específica de células, os linfócitos T.

O processo de apresentação é diferenciado, sendo específico para agentes citossólicos ou englobados que estão em compartimentos vesiculares. Agentes presentes no citossol serão apresentados para um grupo especial de linfócitos T denominados CD8+ (T - regulatórios) e os antígenos presentes em compartimentos vesiculares serão apresentados a linfócitos TCD4+ (T-helper). O processo de apresentação envolve a presença de co-fatores de estimulação e passa por algumas etapas para provocar a ativação dos linfócitos. Os linfócitos TCD8+ identificam as células infectadas e as destroem, mas também podem “desligar” a imunidade mediada por anticorpos, regulando a função imune (LEONARD, 1995). Já os linfócitos TCD4+, uma vez que ocorre o reconhecimento do antígeno, proliferam e diferenciam-se em células T efetoras ou células T de memória.

As células T efetoras ativam uma série de outras células, dentre elas APCs e linfócitos B. A diferenciação dos linfócitos T se polariza de maneira geral para dois perfis de resposta, TH1 ou TH2, caracterizando padrões diferentes de respostas e causando liberação de mediadores específicos, direcionando a ativação das demais células. A resposta imune específica é, portanto, um processo que envolve várias etapas, incluindo maturação celular e, além de serem demoradas, têm um alto custo energético para o indivíduo, não podendo ser a linha inicial de defesa do organismo (MAIER; WATKINS, 1998).

Um outro aspecto importante na resposta imune é a resposta de fase aguda (BAUMANN; GAULDIE, 1994¹ *apud* MAIER; WATKINS, 1998). Esse tipo de resposta é mais sistêmico, envolvendo mudanças globais do organismo que

¹ BAUMANN, H. e GAULDIE, J. The acute phase response. **Immunology Today**, 15, 74-81. 1994.

funcionarão para combater os danos e infecções. Tais modificações envolvem, dentre outras, alterações no transporte iônico, aumento de temperatura corporal, mudanças nos tipos de proteínas que são produzidas normalmente pelo fígado (produção de proteínas de fase aguda), leucocitose (aumento no número de leucócitos circulantes). Os ajustes comportamentais envolvem hiperalgesia, redução nas atividades exploratória, de interação social, agressão e comportamento sexual, além de alterações cognitivas.

Todas as etapas envolvidas na resposta de fase aguda e resposta imune inespecífica e específica são resultado de um complexo processo envolvendo mediadores, dentre eles as citocinas.

1.1.1 Citocinas

As citocinas são glicopeptídeos de sinalização produzidos pelo sistema imunológico que atuam em concentrações extremamente baixas para mediar os passos chave da resposta imune (DUNN, 1995). Conhece-se atualmente mais de cem citocinas, porém as mais estudadas e mais relevantes para a psiconeuroimunologia são as interleucinas - pelo menos 15, os interferons ($\text{IFN-}\alpha$, β e γ), os fatores de necrose tumoral ($\text{TNF-}\alpha$, β) e outros fatores de estimulação de crescimento celular ($\text{TGF-}\beta$). Embora sua ação seja principalmente autócrina e parácrina, há também ação endócrina.

As citocinas também estão envolvidas em vários processos como: mecanismos de desenvolvimento e reparação após lesões (efeito antiinflamatório, anti-viral e cicatrizatório); regulação das interações celulares e humorais assim como das respostas de fase aguda (MAES et al., 1998); regulação da barreira hemato-encefálica (alterações vasculares como vasodilatação); mecanismo regulatório da iniciação de um processo imune no SNC durante uma doença inflamatória, regulação do sistema endócrino e regulação da pirogenia, anorexia, sonolência (eixo hipotálamo - hipófise - adrenal - HPA) (MÜLLER; ACKENHEIL, 1998). Já se sabe que a produção de

citocinas não é limitada às células do sistema imune e que sua secreção no tecido forma um microambiente onde as respostas são mais intensas.

As citocinas, especialmente as pró-inflamatórias IL-6, IFN- γ e IL-1 β , ativamente transportadas para o interior do SNC, ativam astrócitos e outras células microgliais. Essas células, por sua vez, liberam citocinas por meio de um mecanismo de retroalimentação, influenciando não só a própria resposta imune, mas também a neurotransmissão dopaminérgica, noradrenérgica e serotoninérgica (ADER; COHEN; FELTEN, 1995; DUNN, 1995; COVELLI et al., 1998; MÜLLER; ACKENHEIL, 1998). Dantzer et al. (1989) relatam os processos pelos quais a administração central e periférica de citocinas influencia a temperatura corporal, o sono, os comportamentos alimentar, locomotor, exploratório e estados de humor, descrevendo os efeitos colaterais neurológicos e psiquiátricos da administração de interferons utilizados no tratamento de doenças humanas. Reichenberg et al. (2001) observaram transtornos emocionais (ansiedade e humor deprimido) e cognitivos (prejuízos em testes de memória verbal e não-verbal) associados à liberação de citocinas (TNF- α , receptores solúveis de TNF, IL-6, antagonista de receptor IL-1) induzida por endotoxemia de baixa-dose (modelo experimental de ativação de defesa do hospedeiro) produzida por *Salmonella abortus equi* em voluntários sadios do sexo masculino.

Os efeitos das citocinas sobre o SNC são exercidos principalmente por meio de sua ação sobre o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Menkes e MacDonald (2000) em uma revisão sobre o assunto, discutem a hipótese de que os interferons exógenos causam depressão e hiperalgesia pela supressão da disponibilidade de triptofano e consequentemente pela redução na síntese de serotonina. Os autores também relatam os efeitos observados da ativação do eixo HPA e da liberação de glicocorticóides associada à de citocinas sobre o humor e a função cognitiva.

1.2 O sistema endócrino e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

O sistema endócrino desempenha um papel crucial em todas as funções metabólicas do organismo. Os hormônios secretados pelos diversos órgãos do sistema endócrino são peptídeos que controlam o crescimento, desenvolvimento, disponibilidade de nutrientes e moléculas no organismo e dessa forma regulam todas as funções vitais. Segundo Ader, Cohen e Felten (1995), todos os processos imunoregulatórios ocorrem em um ambiente neuroendócrino sensível às influências da percepção e respostas do indivíduo a eventos do mundo externo. Dentre os diversos eixos do sistema endócrino o de especial interesse para a psiconeuroimunologia e para o estudo do estresse é o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA).

O eixo HPA recebe informações de circuitos superiores do sistema nervoso central, da periferia e do meio interno, sendo responsável pela liberação de neurotransmissores e hormônios na corrente sanguínea, que por sua vez irão transmitir informações, coordenar e regular a atividade de diversos órgãos e células, particularmente aqueles envolvidos na resposta ao estresse (STRATAKIS; CHROUSOS, 1995).

Os neurônios parvicelulares do núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN), juntamente com os neurônios liberadores de hormônio liberador de corticotropina (CRH) do núcleo paragigantocelular e outros núcleos do bulbo, os neurônios catecolaminérgicos do locus coeruleus e outros grupos celulares do bulbo e da ponte são os coordenadores centrais do sistema de estresse (STRATAKIS; CHROUSOS, 1995). O Eixo HPA e o sistema simpático adrenomedular constituem a via eferente comum à ativação do sistema por diferentes estímulos. Quando ativados, os neurônios do PVN secretam CRH e arginina-vasopressina (AVP). Os neurônios do PVN inervam e são inervados por neurônios produtores de proopiomelanocortina (POMC) no núcleo arqueado do hipotálamo. Sinergisticamente, a secreção de CRH (pela eminência mediana) no sistema porta hipofisário ativa os neurônios produtores de POMC na hipófise anterior, desencadeando a secreção de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) (Figura 1). O ACTH liberado na corrente sanguínea ativa a medula adrenal

provocando a liberação de cortisol (LÓPEZ; AKIL; WATSON, 1999). O cortisol, em doses fisiológicas, controla a homeostase e a resposta do organismo ao estresse exercendo um “feedback” negativo nos componentes do sistema de estresse do sistema nervoso central (SNC), fazendo com que os níveis hormonais retornem aos níveis basais. Tanto a ativação quanto a inibição adrenocortical são críticas para a sobrevivência do organismo.

Figura 1 – Representação esquemática simplificada dos componentes central e periférico do sistema de estresse, suas interações funcionais e suas relações com outros sistemas centrais envolvidos na resposta de estresse. Os neurônios secretores de CRH/AVP e os neurônios catecolaminérgicos centrais do sistema LC/NE inervam-se e ativam-se reciprocamente. O eixo HPA é controlado por diversas alças de retroalimentação que tendem a normalizar a secreção de cortisol ao longo do tempo, embora glicocorticóides estimulem os centros de medo na amígdala. A ativação do eixo HPA leva à supressão dos eixos GH/IGF-1, LH/testosterona/E2 e TSH/T3; ativação do sistema simpático aumenta a secreção de IL-6. As linhas contínuas indicam estimulação; linhas pontilhadas indicam inibição. Adaptado de Chrousos; Gold, 1992² apud Tsigos; Chrousos, 2002.

² CHROUSOS, G. P.; GOLD, P. W. The concepts of stress system disorders: overview of behavioral and physical homeostasis. **JAMA**, v. 267, p. 1244-1252, 1992.

López, Akil e Watson (1999) discutem evidências que apontam influências aferentes diretas para o PVN, que podem modular a resposta desse núcleo em resposta ao estresse, sendo aparentemente originadas principalmente de núcleos monoaminérgicos do tronco e do bulbo e de outros núcleos hipotalâmicos (área pré-óptica medial, núcleo dorso-medial). Influências modulatórias indiretas, provenientes de outras estruturas como córtex ou sistema límbico (ex.: sistema septo-hipocampal) por meio do núcleo bed da estria terminal, também podem participar dessa ativação.

1.3 *Estresse*

O estresse desempenha um papel central nos estudos em psiconeuroimunologia. A conceituação do estresse tem sido um aspecto controverso uma vez que o termo é amplamente utilizado com diversos sentidos e que nem sempre são definidos operacionalmente. Dentre as diversas definições duas abordagens prevalecem: estresse como estímulo e estresse como resposta. A definição de Selye (1950)³ *apud* Dunn (1995) como “o estado no qual tanto o sistema simpático-adrenal-medular quanto o eixo HPA estão co-ativados” parece ser a definição mais integradora e abrangente. Esse conceito define o enfoque que tem orientado as pesquisas para elucidar as interações entre os sistemas.

1.3.1 *Tipos de estressores e alterações encontradas*

Diversos autores (PACÁK et al., 1995; VAN DE KAR; BLAIR, 1999; LÓPEZ; AKIL; WATSON, 1999; DAYAS et al., 2001;) sugerem que tipos particulares de estresse (por exemplo: envolvendo medo condicionado ou incondicionado, exercícios físicos) ativariam o eixo HPA diversamente, determinando inputs aferentes distintos e envolvendo alças modulatórias e padrões temporais de ativação neuronal diferentes, sofrendo maior ou menor modulação emocional em função da importância fisiológica do estressor.

³ SELYE, H. **The Physiology and pathology of exposure to stress.** Montreal:Acta. 1950.

Koolhaas e Bohus (1995) fazem uma revisão dos modelos animais para o estudo do estresse e imunidade. Os principais modelos mencionados são os de estresse físico, de restrição, choque elétrico e estresse social (dividido em modelos de grupo social, interações entre pares e isolamento social). Van de Kar e Blair (1999) dividem os estressores em três categorias: condições externas resultando em dor ou desconforto, perturbações homeostáticas internas e respostas associativas ou aprendidas da percepção de perigo, dor ou desconforto iminente – classificado pelos autores como estresse psicológico.

Dayas et al. (2001) observaram em ratos padrões distintos de recrutamento celular na amígdala e em grupos celulares noradrenérgicos no bulbo provocados por diferentes estressores; categorizados como físicos (hemorragia, desafio imune) ou psicológicos (barulho e imobilização). O aspecto importante aqui é que características particulares dos estressores, embora produzam o mesmo tipo de resposta de estresse, a ativam por vias e mecanismos diferentes que determinarão aspectos importantes acerca da duração e do retorno, ou não, aos níveis basais pré-estresse. Embora essas abordagens definam o enfoque dado às pesquisas e aos aspectos particulares que se pretende estudar, esse tipo de classificação é artificial e nem sempre correta, uma vez que a maioria dos estressores apresenta uma natureza múltipla, influenciando aspectos físicos e psicológicos de maneira indissociável.

Em relação aos estudos com humanos a classificação é ainda mais complexa e levanta diversas questões metodológicas e éticas. Elliot e Eisdorfer (1982)⁴ *apud* Segerstrom e Miller (2004) caracterizam os estressores distinguindo-os em 5 categorias em termos de duração e curso: *estressores agudos de curta duração* (tarefas em laboratório como falar em público ou tarefas aritméticas), *estressores naturalísticos breves* (exames acadêmicos, desafios de curta duração da vida real), *sequências estressantes de eventos* (um evento focal de vida real como morte do cônjuge desencadeia uma série de eventos relacionados que em algum momento no tempo cessarão), *estressores crônicos* (eventos que permeiam a vida da pessoa forçando a reestruturação de

⁴ ELLIOT, G. R., e EISDORFER, C. **Stress and human health**: An analysis and implications of research. A study by the Institute of Medicine, National Academy of Sciences. New York: Springer Publishing. 1982.

sua vida ou papel social e são estáveis - não há previsão de cessação, como limitações físicas, ser refugiado) e *estressores distantes* (experiências traumáticas que deixaram seqüelas cognitivas ou emocionais de longa duração, como estupro, lembranças de guerra). Biondi e Pancheri (1995) classificam os estressores em apenas 3 categorias: os estressores de vida cotidiana, os induzidos em laboratório e os estressores existenciais cumulativos.

Os estressores de vida diária incluem situações comuns como trânsito, filas, desentendimentos, discussões, testes escolares, eventos que ocorrem com certa freqüência ao longo do dia ou são relativamente constantes por toda a vida do indivíduo. Certas situações de vida como divórcio, doenças e morte de pessoas próximas são estressores considerados graves, de longa duração e que são vivenciados com intensa carga emocional. Esses estressores são denominados pelos autores como acontecimentos de vida (Biondi; Pancheri, 1995). Um outro aspecto é a qualidade afetiva dos estressores que envolve tensão, preocupação, ansiedade, ameaça à auto-estima e fadiga, podendo até envolver desmoralização (BIONDI; PANCHERI, 1995).

Os estudos que analisam o estresse cumulativo de vida verificam a relação entre estresse e o sistema imune por um período de tempo pré-determinado. Baseiam-se principalmente na utilização de questionários ou entrevistas estruturadas visando avaliar e atribuir valores aos acontecimentos da vida do indivíduo. De Longis, Folkman e Lazarus (1988) estudaram o impacto do estresse diário na saúde e no humor de casais e encontraram alterações tanto no próprio dia quanto no dia subsequente a discussões cotidianas. O impacto atribuído a um determinado evento na vida do sujeito é apontado como um fator importante para a resposta imune.

Tanto os estressores cotidianos como os eventos de vida diferem em suas intensidades e, com relação à dimensão temporal, distinguem-se entre crônicos e agudos. No que se refere à duração das alterações, a resposta do eixo HPA a estressores geralmente se dissipa entre 60 e 90 minutos após a eliminação do estressor (DEAK et al, 1999). Estudos verificaram que a maioria dos parâmetros imunológicos retorna aos níveis normais em até uma hora após a cessação da estimulação aguda; outras evidências indicam que parâmetros como atividade

citotóxica de células NK permanece deprimida por até 48 horas (COHEN; HERBERT, 1996).

Do ponto de vista da pesquisa em psiconeuroimunologia os estressores agudos induzidos em laboratório apresentam diversas vantagens: proporcionam bom controle ambiental da variável dependente e do estressor e permitem a seleção cuidadosa dos sujeitos. Os estímulos, contudo, são de potência e duração limitadas e a generalização dos resultados requer cautela (BIONDI; PANCHERI, 1995).

Dentre os vários paradigmas experimentais utilizados nas pesquisas para indução de estresse destacam-se tarefas (computacionais ou não) insolúveis (GOLDSTEIN et al., 1987; BROSSCHOT et al., 1992; BROSSCHOT et al., 1994; RITVELD; VAN BEEST; EVERAERD, 1999), desempenho de tarefas aritméticas complicadas (NALIBOFF et al. 1991; TERSMAN et al., 1991; PIKE et al., 1997), simulação de falar em público (GUIMARÃES et al., 1989; KIRSCHBAUM et al., 1992; ACKERMAN et al., 1998; KIRSCHBAUM et al., 1999; ROHLER et al., 2001), emoção induzida (DIMSDALE et al., 1987; KNAPP et al., 1992) ou uma combinação entre diferentes estressores (OLFF et al. 1995; LIANG et al., 1997; BURLESON et al., 1998; FURLAN et al., 2001; CONDREN et al., 2002). Os exames acadêmicos (JOHANSSON et al., 1987; KIECOLT-GLASER et al., 1984; GLASER et al., 1992) têm sido utilizados como estressores naturais que fazem parte do cotidiano dos sujeitos investigados. Biondi e Picardi (1999) discutem a exposição de pacientes fóbicos aos objetos temidos como um híbrido entre estressores laboratoriais e de vida cotidiana, porém pouco estudos utilizam esse procedimento.

Os resultados, no entanto, não têm se mostrado consistentes no que se refere a quais alterações ocorrem e à duração das alterações decorrentes da estimulação, mas parecem estar mais relacionados com a percepção que o indivíduo tem da situação estressora em si do que às características particulares dos estímulos apresentados. Ader, Cohen e Felten (1995) citam sete fatores que influenciam as alterações da imunidade induzidas pelo estresse:

- Qualidade e quantidade de estimulação estressora;

- Habilidade do indivíduo em lidar eficientemente com eventos estressores (estratégias de enfrentamento);
- Qualidade e quantidade de estimulação imunogênica;
- Relação temporal entre estresse e estimulação imunogênica;
- Intervalos de tempo e componentes do sistema imunológico estudado;
- Passado de experiência ambiental;
- Fatores pessoais (sexo, idade, estado nutricional).

Embora o mecanismo imunológico seja o mesmo, a natureza da resposta imune varia frente a um mesmo estímulo, em um mesmo indivíduo, de acordo com diversas variáveis físicas, ambientais e psicológicas. Humor, percepção de controle, história de exposição do organismo aos antígenos, tipo do antígeno, vias de entrada no organismo (COHEN; HERBERT, 1996) e até mesmo horário e dia do ciclo menstrual têm sido variáveis estudadas no processo de investigação das influências de cada um desses fatores na modulação da resposta imune.

Miranda Olf (1999) discute a influência de fatores como estilos de enfrentamento (*coping*) e recursos pessoais para lidar com situações de estresse na percepção do estressor e consequentemente na interpretação emocional e comportamental da situação. A autora enfatiza que a resposta imune ao estresse é determinada pela maneira como o indivíduo lida com o estresse, sendo que a percepção, a avaliação do estressor e as estratégias de enfrentamento específicas (*instrumental* – o indivíduo tenta atacar o estressor de maneira ativa experienciando controle sobre a situação; *defensivo* – percepção distorcida da realidade e do estressor minimizando ou tornando inconsciente a resposta afetiva a esse; *paliativo* – busca de formas de reduzir a ativação causada por um estressor, utilizando relaxamento, tabaco ou álcool) estão relacionadas com a resposta imunossupressora ou imunoestimulante.

O estresse crônico leva a alterações específicas na atividade do eixo HPA, interferindo na responsividade hipofisária aos glicocorticóides e nos mecanismos de feedback, por meio de alterações na densidade de receptores e da inibição da expressão gênica. O cortisol, além de ser um potente inibidor do eixo HPA, apresenta um efeito imunoestimulante ou imunossupressor em função da dose

presente na corrente sanguínea. A co-localização de receptores serotoninérgicos e receptores mineralo e glicocorticóides em linfócitos e outras células imunes permitem uma comunicação cruzada entre sistemas de neurotransmissores e o eixo HPA. Doses farmacológicas de corticosteróides podem exercer efeitos imunossupressores ou anti-inflamatórios, interferindo com parâmetros celulares e humorais (padrões de tráfego de células na circulação, expressão de moléculas de adesão, inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias) além de poder produzir, como efeitos colaterais, transtornos neuropsiquiátricos como mania, depressão e até mesmo sintomas psicóticos (BARROS; ANTUNES; BARROS, 2000).

Em sua revisão da literatura, Miranda Olff (1999) observa que o estresse crônico causa uma "*down-regulation*" dos componentes do sistema imune, tendo efeitos supressivos nos níveis de células B, T e granulócitos circulantes, respostas proliferativas a mitógenos diminuídas e diminuição da atividade citotóxica de células NK. Essas alterações poderiam aumentar a susceptibilidade a infecções e comprometer a recuperação, ou mesmo piorar, doenças existentes (OLFF, 1999). De maneira oposta, o estresse agudo parece ativar parâmetros imunes e essa reatividade imune aumentada parece ser mediada por catecolaminas (BENSCHOP et al., 1995). A interpretação do estímulo estaria associada a funções biológicas que determinariam uma maior ou menor ativação do eixo HPA, e/ou sistema simpático-adrenal-medular em resposta a uma maior ou menor ativação cortical ou límbica.

Maes et al. (1998) apontam que estressores da vida cotidiana e estressores experimentais induzidos em laboratório têm produzido as seguintes alterações imunes:

- Supressão da atividade citotóxica de células NK (*ex-vivo*) e da resposta proliferativa de linfócitos induzida por mitógenos;
- Redução na porcentagem de células T-helper (CD4+) na circulação periférica e da relação entre o número de T-helper/células T reguladoras-citotóxicas (CD4+/CD8+);
- Aumento no número de linfócitos T CD8+, NK, T, células B, concentração de anticorpos para vírus Epstein-Barr (mononucleose

infecciosa), *Herpes Simplex* tipo I, citomegalovírus, Imunoglobulina-A salivar, proteínas de fase aguda e fatores de complemento (LEONARD, 1995).

Segundo a revisão de Cohen e Herbert (1996), os resultados mais consistentes dos estudos sobre alterações imunes subseqüentes à exposição a estressores agudos são o aumento no número de células NK e T reguladoras/citotóxicas e a redução da resposta proliferativa a mitógenos. Manuck et al. (1991)⁵ *apud* Cohen e Herbert (1996) observaram que indivíduos caracterizados por uma grande ativação do sistema nervoso simpático (pressão sangüínea aumentada, batimentos cardíacos acelerados e maior liberação de adrenalina e noradrenalina) apresentaram as maiores alterações imunes quando expostos a estressores agudos.

Em relação às citocinas, O'Connor et al. (2003) citam diversos autores que afirmam que a exposição a estressores produz muitas das mesmas respostas que são produzidas por estímulos infecciosos e inflamatórios e dependendo da natureza do estressor, os níveis serão aumentados ou não, tanto periférica quanto centralmente. Os autores mencionam estudos envolvendo a liberação de IL-1 β , TNF- α , IL-6 associados a estressores específicos (choque na pata, imobilização) em ratos. Maes et al. (1998) encontraram que em situações de estresse há liberação de IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10, IL-5, e IL-4.

1.4 Variáveis psicológicas e transtornos psiquiátricos

Alguns autores, como Olf (1999), associam a percepção de controle, defesa psicológica, auto-eficácia e solidão a alterações imunes celulares e humorais. Mormede et al. (1988) demonstraram em ratos que fatores psicológicos como a previsibilidade e a controlabilidade sobre estímulos ambientais afetam diferentemente vários aspectos do sistema imune. Cohen e Herbert (1996) revisaram diversos artigos que investigam alterações

5 MANUCK, S.B.; COHEN, S.; RABIN, B.S.; MULDOON, M.F. e BACHEN, E.A. Individual differences in cellular immune response to stress. **Psychol Sci** 2: 111-115. 1991.

imunológicas associadas a estados psicológicos particulares (afetos negativos, presença ou ausência de apoio social, recalque/negação).

Observa-se, contudo, que poucos são os estudos bem controlados na área e muitos dos resultados são contraditórios, dificultando a compreensão de como fatores psicológicos podem influenciar o sistema imune ao ponto de alterar a suscetibilidade de um indivíduo para adoecer, ou modificar o curso de uma doença e seu prognóstico. Mais ainda, Miller e Cohen (2001), em uma meta-análise sobre os efeitos modulatórios de intervenções psicológicas (relaxamento, técnicas de controle de estresse, hipnose) sobre o sistema imune, observaram que, embora questões conceituais e metodológicas importantes precisem ser resolvidas, há apenas evidências modestas de que essas intervenções alterem confiavelmente parâmetros imunológicos.

Na literatura psiquiátrica a relação causal e temporal do estresse com a manifestação e desenvolvimento de transtornos é amplamente aceita. As interações entre o SNC e o sistema imune são importantes em pelo menos 3 aspectos principais: condições psiquiátricas podem ocasionar ou estar associadas a transtornos nas funções imunes predispondo indivíduos com condições psiquiátricas a doenças relacionadas ao sistema imune (incluindo câncer, doenças infecciosas e auto-imunes); transtornos da função imune podem levar a ou estar associadas a alterações na atividade do SNC e, no contexto das interações entre o sistema imune e o SNC, eventos periféricos podem servir como modelos de eventos centrais (MILLER; SPENCER, 1995). Diversos autores, dentre eles Dunn (1995), Leonard (1995), Müller e Ackenheil, (1995, 1998) e Wade et al. (2001), citam alterações imunes associadas a transtornos psiquiátricos - especialmente transtornos de humor, ansiedade e transtornos afetivos (depressão, esquizofrenia).

Dentre os transtornos mais estudados destaca-se a depressão. Embora uma descrição detalhada da patologia fuja ao escopo dessa tese, alguns aspectos devem ser abordados. A teoria monoaminérgica da depressão propõe que um déficit de noradrenalina e de serotonina estaria causalmente envolvido na manifestação dos sintomas.

Diversos estudos apontam uma alteração do eixo HPA em pacientes com depressão. Segundo Leonard (2000) há um adiantamento de cerca de 6 horas no ciclo circadiano de liberação de cortisol em pacientes deprimidos. Uma outra teoria da depressão sugere que uma disfunção no eixo HPA causaria um aumento na secreção de fator liberador de corticotropina (CRF) que estimularia a secreção de ACTH e cortisol (BATEMAN et al., 1989⁶ *apud* LEONARD, 2000). Leonard (2000) apresenta diversas evidências de que alterações provocadas pelo estresse crônico sobrepõe-se aos sintomas de depressão maior, levantando a hipótese que mudanças no eixo HPA, no sistema nervoso simpático e no sistema imune precipitariam a disfunção comportamental que caracteriza a patologia, particularmente no que se refere à anedonia e humor deprimido.

Ainda segundo Leonard (2000), o que se pode concluir de estudos experimentais e clínicos é que a falta de adaptação imunológica a citocinas pró-inflamatórias envolvidas na resposta de estresse, observada em diversos estudos, pode levar a mudanças crônicas na neurotransmissão noradrenérgica. Esse conceito é a base da hipótese psico-imunológica da depressão, que propõe que a depressão maior seria induzida por estressores externos levando a uma hipersecreção de citocinas pró-inflamatórias associada a uma falha dos mecanismos adaptativos hormonais e imunes.

A teoria "macrofágica" da depressão (SMITH, 1991⁷ *apud* LEONARD, 2000), em síntese, postula que a secreção anormal de algumas citocinas como IL-1 e IFN- α produziria a secreção desordenada de ACTH, prolactina e cortisol além de provocar um humor depressivo (a liberação de IL-1 provoca aumento do sono de ondas longas, redução nas concentrações de glicose sanguínea, fadiga, humor deprimido) (DANTZER; KELLEY, 1989). A secreção de IL-1 também ativaria macrófagos que por sua vez secretariam diretamente ACTH, estimulando as adrenais a sintetizar cortisol. Dessa forma a ativação dos macrófagos poderia contribuir tanto direta quanto indiretamente para a hipercortisolemia observada em pacientes com depressão. Parece razoável supor que as hipóteses acima

⁶ BATEMAN, A.; SINGH, A.; KRAL, T.; SOLOMON, S. The immune-hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **Endocr Res**, v.10, n. 1, p. 92-112, 1989.

⁷ SMITH, R. S. The macrophage theory of depression. *Med Hypotheses*, v. 35(4), p. 298-306, 1991. Erratum in: **Med Hypotheses**, v. 36(2), p. 178, 1991.

estejam ligadas e contribuem para uma melhor compreensão dos diversos níveis de integração entre os sistemas nervoso, endócrino e imune.

Os transtornos de ansiedade, de maneira geral são condições crônicas, com alta prevalência na população e com importantes comorbidades. Diversos estudos têm sido desenvolvidos investigando as correlações entre esses transtornos e possíveis alterações crônicas do eixo HPA e suas influências no sistema imune. Transtorno de pânico, transtorno de estresse pós traumático, transtorno de ansiedade generalizada estão entre os mais estudados mas a observação de alterações basais no eixo HPA nesses sujeitos nem sempre é confirmada. Quando alterações são observadas, encontra-se relatos contraditórios registrando hiper ou hipoatividade do eixo HPA. Em resposta à estimulação por estressores agudos também se encontram relatos de respostas aumentadas, diminuídas ou mesmo ausência de diferenças em comparação aos controles sem patologias. Questões metodológicas relacionadas ao diagnóstico, severidade, tempo de patologia, uso de medicação e outros aspectos precisam ser consideradas. A seleção dos estímulos também é uma questão importante para a interpretação adequada dos resultados, uma vez que estressores naturalísticos não permitem o controle adequado das variáveis.

Uma alternativa é a utilização de modelos experimentais que induzam respostas a estressores específicos. Muito embora haja limitações, esses modelos podem fornecer resultados fidedignos por permitir um melhor controle das variáveis.

1.4.1 Ansiedade e Fobia Social

Dentre os transtornos de ansiedade, as fobias estão entre os mais prevalentes diagnósticos psiquiátricos, com estimativas conservadoras de prevalência cumulativa ao longo da vida de cerca de 7% e prevalência nos últimos 12 meses de 3 a 4% (WITTCHEN; FEHM, 2003). De acordo com o National Comorbidity Survey, nos Estados Unidos a prevalência da fobia social ao longo da vida pode chegar a 15% (KESSLER et al., 1999). Estudos recentes na

área de abrangência do Hospital das Clínicas em São Paulo (ANDRADE et al., 1999; ANDRADE et al, 2002) revelam uma prevalência ao longo da vida de 8,4%, e de 3,5% para os últimos 12 meses.

Segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico para Transtornos Mentais DSM IV (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994), a fobia social (ou Transtorno de Ansiedade Social) é: [...] o medo acentuado e persistente de uma ou mais situações sociais ou de desempenho, onde o indivíduo é exposto a pessoas estranhas ou ao possível escrutínio por outras pessoas. O indivíduo teme agir de um modo (ou mostrar sintomas de ansiedade) que lhe seja humilhante e embaraçoso. [...] A exposição à situação social temida quase que invariavelmente provoca ansiedade, que pode assumir a forma de um Ataque de Pânico ligado à situação ou predisposto por situação.

As situações mais freqüentemente temidas são: situações sociais em geral, desempenho em situações de teste e falar ou atuar em público (FURMARK et al., 2001; WITTCHEN; FEHM, 2003).

Os sintomas da fobia social representam uma grande limitação na vida dos sujeitos portadores do transtorno. É freqüente a manifestação de transtornos comórbidos, particularmente a depressão e outros transtornos ansiosos. A discussão acerca dos mecanismos neurobiológicos envolvidos levanta uma série de questões nosológicas. Argyropoulos, Bell e Nutt (2001) relatam que a fobia social compartilha uma série de características psicopatológicas, neurobiológicas e genéticas com outros transtornos de ansiedade. Stein, Westenberg e Liebowitz (2002) avaliam os circuitos neurais envolvidos no transtorno de ansiedade social (fobia social) e no transtorno de ansiedade generalizada. Embora não haja evidências de alterações estruturais, o corpo de evidências apontando em direção a diferenças funcionais no padrão de ativação cerebral, indicando uma desregulação serotoninérgica e dopaminérgica, tem aumentado.

As evidências mais fortes apontam para alterações na função serotoninérgica no circuito envolvendo o núcleo dorsal da rafe, locus ceruleus, núcleo medial da rafe, córtex pré-frontal, amígdala, hipotálamo e matéria cinzenta periaquedutal, ocasionando um decréscimo na atividade noradrenérgica, diminuição na liberação de CRF e modificação nos comportamentos de

defesa/escape (STEIN; WESTERNBERG; LIEBOWITZ, 2002). Há também evidências de alterações na função dopaminérgica no nível dos gânglios da base, ocasionando um prejuízo da fluidez normal das funções motoras sociais (sorrir, movimentos oculares e fala) e levando à manifestação de sintomas cognitivos de ansiedade social e produzindo comportamentos evitativos (Argyropoulos; Bell; Nutt, 2001). Observa-se em fóbicos sociais um padrão de perfusão sanguínea subcortical (complexo amidalóide) em resposta á tarefa de falar em público diferentemente dos controles sem patologias, que apresentaram um padrão de aumento de perfusão cortical (córtices orbitofrontal, insula, parietal, perirhinal e visual secundário) (TILLFORS et al., 2001). Em outro estudo, a comparação entre controles e fóbicos sociais revelou maior atividade subcortical, límbica e paralímbica lateral (ponte, estriado, amígdala, ínsula, lobo temporal) – regiões importantes para o processamento emocional automático e menos atividade cortical (cingulado dorsal anterior, córtex pré-frontal) - regiões importantes para o processamento cognitivo (LOBERBAUM et al., 2004).

Em termos práticos esses achados apontam que pessoas com fobia social processam informações relativas ao estresse de falar em público de maneira diferente, atribuindo um maior componente emocional (associado ao medo) à tarefa que controles sem a patologia, que a processam de maneira mais avaliativa, não relacionada ao medo. Dessa forma, fóbicos podem ficar tão ansiosos que não conseguem pensar claramente (LOBERBAUM et al., 2004). Padrões semelhantes também são encontrados em outras patologias como fobias específicas, transtorno de estresse pós-traumático, transtorno de pânico e depressão. TILLFORS et al. (2001) especulam que o afeto negativo em geral esteja associado a esse tipo de ativação.

Jezova et al. (2004) observaram, em controles do sexo masculino com traço de ansiedade elevado, níveis mais baixos de ACTH, cortisol, adrenalina e noradrenalina em comparação com controles com traço de baixa ansiedade submetidos ao estresse agudo de falar em público. Os resultados sugerem que um alto traço de ansiedade pode estar associado a uma inabilidade (funcional) do eixo HPA em responder adequadamente a um estressor agudo.

Alguns estudos descrevem a utilização de sujeitos com fobia social para estudos de alteração da função endócrina (eixo HPA), supondo uma ativação crônica do eixo e levando à hipótese que a experiência de estresse na fobia social possa estar associada a anormalidades endócrinas ou imunológicas (STEIN; 1998), mas poucos abordam as alterações imunes em resposta ao estresse agudo nesse grupo de pacientes. Nesse et al. (1985); Uhde et al. (1994); Martel et al. (1999); Furlan et al. (2001); Condren et al. (2002) estudaram os efeitos do estresse agudo em parâmetros endócrinos em fóbicos sociais. A maioria dos estudos não observou alterações basais entre os grupos de voluntários e pacientes, mas alguns registraram uma maior variação nos níveis de cortisol (usado como índice de ativação do eixo HPA) em resposta aos protocolos de indução de estresse. Apesar da predominância de transtornos de ansiedade em mulheres há poucas evidências específicas de que hormônios sexuais possam mediar essas condições (STEIN; WESTENBERG; LIEBOWITZ, 2002).

Em seu estudo sobre a relação entre a fobia social e dois parâmetros imunológicos: IL-2 (modulador dos sistemas nervoso central e imune) e receptores solúveis para IL-2 - SIL-2Rs (um marcador de ativação de células T), Rapaport e Stein (1994) observaram que as medidas séricas de IL-2 e SIL-2Rs não são significativas para diferenciar fóbicos sociais de não afetados. Rapaport (1998), em um estudo sobre alterações nos perfis circulatórios de linfócitos, observou que sujeitos com fobia social generalizada não se diferenciam de controles em função dos perfis circulatórios de células NK, linfócitos B e APCs. Já Covelli et al. (1998) em sua revisão acerca dos efeitos imunossupressores e imunoestimulantes de benzodiazepínicos relatam que indivíduos com fobias e enxaqueca sem aura apresentam déficits funcionais múltiplos em fagócitos e linfócitos T, além de uma liberação exagerada de citocinas pró-inflamatórias. Muitas das alterações encontradas podem ser atribuídas a questões metodológicas e portanto, a seleção da amostra e metodologia adequadas é um ponto chave para a reprodutibilidade dos resultados.

1.5 Modelos experimentais para indução de ansiedade e o teste de simulação de falar em público

Além da ativação de diversos sistemas hormonais o estresse provoca alterações nos níveis de ansiedade experienciado pelos sujeitos (JEZOVA et al., 2004). A maioria dos modelos experimentais de ansiedade envolve a administração de uma droga que aumenta ou diminui os níveis basais de ansiedade. Esses modelos experimentais de indução de ansiedade, considerados “naturalísticos”, constituem uma alternativa instrumental bastante útil quando o quadro estudado assim o permite. Dentre os modelos experimentais não-farmacológicos – os mais adequados para investigações envolvendo o sistema imune – um em especial tem se destacado, o teste de simulação de falar em público.

O modelo experimental de simulação de falar em público (SFP), baseado na ansiedade de falar em público, o medo social mais comum na população segundo estudos epidemiológicos (FURMARK et al, 2001), foi desenvolvido por McNair et al. (1982) e tem sido utilizado em vários estudos em nosso meio (GUIMARÃES et al.,1989; ZUARDI et al., 1993; PALMA; GUIMARÃES; ZUARDI, 1994; HETEM et al., 1996; GUIMARÃES; MBAYA; DEAKIN, 1997; GRAEFF et al., 2001; GRAEFF et al. 2003) como um modelo de ansiedade clínica, principalmente para avaliar o efeito de drogas ansiolíticas. Diversos outros autores que investigam os efeitos do estresse agudo utilizam procedimentos semelhantes em tarefas de falar em público. O procedimento de SFP consiste em criar uma condição experimental onde se utiliza como estímulo um discurso em frente a uma câmera de vídeo para indução de uma resposta de estresse e verifica-se as alterações fisiológicas decorrentes em parâmetros como pressão arterial, pulsação e resposta galvânica da pele (GSR), bem como as alterações psicológicas com a avaliação da ansiedade subjetiva. A intensidade do medo/ansiedade que o sujeito apresenta na situação experimental serve como um preditor geral do estado de ansiedade manifestada pelo sujeito no dia-a-dia.

Segundo Boyce et al. (1995) e Cohen e Manuck (1995) a existência de estilos de reação imune permite sugerir que indivíduos mais reativos tenham um risco aumentado para a manifestação de doenças imunes eliciadas pelo estresse. A população de fóbicos sociais, representa portanto uma população particularmente susceptível aos efeitos do procedimento. Sua sensibilidade à tarefa de falar em público aproxima o estressor laboratorial de uma tarefa cotidiana e com forte significado emocional na vida dos sujeitos. Como os estudos com essa população têm investigado uma possível ativação crônica do eixo HPA nessa população, buscou-se identificar alterações nesses e em outros parâmetros psicológicos, cardiovasculares, hormonais e imunes em resposta ao estresse agudo de falar em público.

2 Objetivos

Optou-se pelo modelo experimental do teste de simulação de falar em público (SFP) para atingir os seguintes objetivos:

1. Comparar a reatividade imunológica de indivíduos com diagnóstico de fobia social com o de indivíduos sem qualquer diagnóstico psiquiátrico;
2. Investigar se ocorrem alterações imunes subsequentes à exposição a um estressor agudo induzido em laboratório;
3. Identificar e correlacionar parâmetros imunológicos com traços de personalidade, humor, níveis de ansiedade e medidas fisiológicas;

3 Material e Métodos

3.1 *Sujeitos*

Sujeitos de ambos os sexos, com idades entre 18 e 60 anos com dificuldades de falar em público e voluntários sem patologias, saudáveis do ponto de vista físico, que tivessem pelo menos o primeiro grau completo e que não fizessem uso crônico de qualquer tipo de medicação ou abuso de drogas foram convidados a participar do estudo. Embora peso não fosse um critério de exclusão em si, nenhum dos sujeitos era obeso. Fumantes não foram excluídos, mas solicitou-se que se abstivessem do cigarro pelo menos na manhã do experimento. Apenas um sujeito relatou abster-se de fumar na manhã do experimento.

Optou-se por não excluir mulheres fazendo uso de anticoncepcional especialmente devido ao reduzido tamanho da amostra. Alternativamente, registrou-se o dia do ciclo menstrual (fase do ciclo) e o uso ou não de anticoncepcionais. Os dados são apresentados na seção Resultados.

3.2 *Critérios de Inclusão*

Amostra de pacientes: Adicionalmente, para inclusão no protocolo experimental, pacientes tinham que preencher critérios para diagnóstico de fobia social de acordo com o DSM IV (APA, 1994) na entrevista SCID. Os critérios de exclusão adotados para pacientes foram os seguintes: presença de doenças ou distúrbios hormonais, imunes ou metabólicos de qualquer tipo; presença de outros transtornos psiquiátricos atuais (exceto fobia social); sintomatologia depressiva ou ansiosa com escore superior a 15 nas escalas de avaliação Hamilton-D e A, respectivamente; condições de estresse psicossocial agudas (ex.: divórcio, doenças graves de familiares próximos); uso de medicação (exceto anticoncepcionais ou vitaminas) e drogas; gravidez e amamentação.

Amostra controle: Os critérios de inclusão adotados no estudo para a amostra de controles eram extremamente rigorosos. Muitos dos voluntários já haviam

participado como controles de outros protocolos experimentais realizados pelo Instituto de Psiquiatria da FMUSP. Aqueles que concordavam em participar do estudo eram novamente testados e entrevistados para garantir a ausência de psicopatologia na amostra de voluntários. Esse procedimento era adotado uma vez que uma alta prevalência de diagnóstico psiquiátrico tem sido detectada em indivíduos que se apresentam como candidatos “normais” para pesquisa psicofarmacológica (GORENSTEIN et al., 1997). Os demais critérios de exclusão para os controles foram os mesmos adotados para os pacientes.

3.3 *Ética*

Obteve-se o consentimento informado, por escrito, de todos os sujeitos. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina – USP e pela Comissão de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do Instituto de Ciências Biomédicas – USP.

3.4 *Procedimento experimental*

3.4.1 *Seleção de voluntários e pacientes:*

Os sujeitos foram convidados a participar do estudo por meio de cartazes espalhados em diversos locais na cidade, na USP e no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP; sugestão de amigos/familiares; encaminhamento por profissionais do HCFMUSP ou indivíduos que participaram em outros estudos conduzidos no Instituto de Psiquiatria do HCFMUSP.

Os sujeitos eram contatados pelo telefone para realização de uma entrevista (Anexo 14) e uma vez que os critérios para inclusão eram preenchidos eram convidados a comparecer para uma minuciosa anamnese para triagem clínica (Anexo 15). Os sujeitos eram então submetidos à Entrevista Clínica

Estruturada para o DSM-IV - SCID (FIRST et al., 1994) e à investigação de sintomatologia depressiva ou ansiosa, realizadas pelos colaboradores Profª Drª Euthymia Brandão de Almeida Prado e Prof. Dr. Francisco Lotufo Neto. Aqueles que preenchiam os critérios de inclusão eram encaminhados para realização da bateria de exames laboratoriais de triagem listados no Anexo 16. Caso nenhuma alteração clínica importante fosse identificada nos resultados dos exames, os sujeitos eram então incluídos no estudo.

Os participantes eram informados que fariam parte de um estudo sobre estresse e a maneira como o organismo respondia a doenças e recebiam um folheto com as instruções para participação no experimento informando que os sujeitos precisavam comparecer ao hospital, em jejum de 8 horas para realização de uma bateria de exames de sangue (Anexo 17). Também era informado que a tarefa a ser desenvolvida somente seria conhecida após sorteio, no dia do experimento, mas que seria uma tarefa cognitiva e não envolveria a administração de qualquer tipo de medicação.

Os sujeitos eram informados que receberiam um reembolso de despesas ao final do experimento. O valor do reembolso foi definido em R\$ 150,00 (cento e cinquenta reais).

Os sujeitos selecionados para participar do estudo eram informados que deveriam comparecer ao hospital em mais duas ocasiões: na primeira para treinamento na utilização de escalas (a serem utilizadas no dia do experimento) e para preencher os instrumentos de avaliação, descritos adiante; na segunda ocasião realizariam a sessão experimental.

Na noite anterior ao experimento os sujeitos eram submetidos a uma breve entrevista telefônica para verificar aspectos gerais de saúde e identificar a presença de intercorrências que potencialmente alterariam a resposta imune: infecções e inflamações nas duas semanas prévias, uso de quaisquer medicamentos (ex.: analgésicos, anti-inflamatórios, antibióticos), situações presentes de estresse agudo ou crônico (discussões intensas, doenças na família), ocorrência de eventos que tenham causado forte impacto emocional nos dias anteriores (assalto, perda do emprego) e condição geral do sujeito, além de

lembrar acerca do jejum de 8 horas. Caso algum dos fatores estivesse presente o experimento era remarcado.

3.4.2 Procedimento do Teste de Simulação de Falar em Público (SFP)

Ao chegar ao laboratório onde era realizado o procedimento do teste de SFP, às 9:00 da manhã, era introduzido no braço dos sujeitos um catéter intravenoso para a coleta do sangue (Figura 2). O acesso era mantido com a infusão de soro fisiológico. Eram também conectados aos sujeitos os eletrodos para aquisição de dados de temperatura, eletrocardiograma (ECG) e resposta galvânica da pele (GSR), além do medidor de pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e batimentos cardíacos por minuto (BPM) (no braço contralateral ao da coleta de sangue). Após a punção da veia o sujeito tinha seu braço coberto por um lençol, impossibilitando a observação do soro e da coleta de sangue. Para adaptação à sala experimental (Figura 3) e redução do estresse provocado pela introdução do cateter, os sujeitos assistiam a um trecho do vídeo "As Jóias do Mar do Caribe", da National Geographic Society, durante 30 minutos, ao final dos quais era realizada a 1ª. coleta (basal experimental - LBE), aproximadamente 40 minutos após o início do procedimento. O sujeito respondia às escalas de avaliação (VAMS, IDATE-E e ESS) e eram medidas as variáveis fisiológicas: PAS, PAD, BPM, GSR e temperatura; além de serem colhidos 8 tubos de sangue para realização das diversas análises dos parâmetros imunes e hormonais.

Figura 2 – Foto da posição do braço onde era inserido o catéter e colocados os eletrodos para aquisição dos dados de GSR e temperatura

Figura 3 – Foto da sala experimental

A fita da National Geographic era retirada e apresentava-se a fita pré-gravada com as instruções do teste de simulação de falar em público (SFP), solicitando ao sujeito que preparasse e apresentasse um discurso em frente à câmera de vídeo (Figura 4), sobre um dentre três temas apresentados em ordem balanceada: “episódios que mais lhe provocaram ansiedade durante a vida”

(MCNAIR et al., 1982); “apresentação para uma entrevista de emprego na qual você deverá dizer por que é adequado para a vaga” (MARSLAND et al., 1995); ou “defesa para um guarda de segurança que lhe acusa injustamente de ter roubado algo de uma loja de departamentos” (ACKERMAN et al., 1998). O sujeito era informado que teria 4 minutos para preparar-se para o discurso, mas que seria interrompido no meio para preenchimento das escalas.

Para maximizar os efeitos do procedimento, após a apresentação da fita, a experimentadora lia algumas instruções adicionais do experimento (Anexo 18). Nesse momento, alterava o tom de voz e adotava uma atitude mais seca, evitando olhar os sujeitos nos olhos e descrevendo quais comportamentos *não* deveriam ocorrer (repetir-se, gaguejar, cometer erros de português). Era então checada a compreensão das instruções e iniciava-se a contagem de tempo para preparação do discurso. A câmera de vídeo era instalada e após dois minutos eram preenchidas as escalas de avaliação e registradas as medidas fisiológicas de ansiedade antecipatória (momento ANT) (GUIMARÃES et al., 1989) – aproximadamente 55 minutos após o início do experimento (Fluxograma).

Figura 4 – Discurso em frente à câmera de vídeo

O discurso em frente à câmera iniciava-se ao fim do preenchimento das escalas. O tempo total do discurso era de 4 minutos com interrupção na metade para mensuração das variáveis (Fluxograma). A segunda amostra de sangue era coletada (ansiedade de desempenho – DES) aproximadamente aos 70 minutos

após o início. Depois da coleta de sangue, registro das variáveis fisiológicas e preenchimento das escalas o indivíduo reiniciava o discurso em frente à câmera para os 2 minutos finais.

Fluxograma do experimento:

09h00min – Chegada ao Laboratório

- Conexão de eletrodos, punção venosa e início da infusão de soro
- Fita de vídeo "Pérolas do mar do Caribe" por 30 min.

09h40min – Medida LBE (VAMS, ESS, IDATE-E, PAS, PAD, BPM, GSR, temperatura) e coleta de sangue

- Fita com instruções do discurso em frente à câmera de vídeo
- Checagem da compreensão das instruções e marcação do tempo para preparação do discurso (2 min.)

09h55min – Medida ANT (VAMS, ESS, IDATE-E, PAS, PAD, BPM, GSR, temperatura)

- Instalação da filmadora
- Início do discurso (2 min.)

10h10min – Medida DES (VAMS, ESS, IDATE-E, PAS, PAD, BPM, GSR, temperatura) e coleta de sangue

- Continuação do discurso (2 min.)

10h25min – Medida POS (VAMS, ESS, IDATE-E, PAS, PAD, BPM, GSR, temperatura)

- Desconexão da filmadora
- Continuação da exibição da Fita National Geographic Society por 30 min.

11h00min – Medida FIN (VAMS, ESS, IDATE-E, PAS, PAD, BPM, GSR, temperatura) e coleta de sangue

- Preenchimento da escala ANA
- Remoção dos eletrodos e catéter intravenoso
- Explicação do experimento
- Café da manhã

Ao final do discurso (momento POS), aproximadamente 85 minutos após o início do experimento, as escalas eram novamente preenchidas e as medidas fisiológicas mais uma vez registradas. A câmera era desligada e a experimentadora adotava novamente uma atitude amigável. Após essa etapa os sujeitos voltavam a assistir a fita da National Geographic por outros 30 minutos.

Ao término desse período (momento FIN), cerca de 120 minutos após o início do experimento, o sujeito preenchia a escala Analógica de Avaliação do Experimento (ANA) e as demais escalas, registrava-se as medidas fisiológicas e colhia-se as últimas amostras de sangue. O catéter e o soro eram retirados e informava-se ao sujeito sobre o fim do experimento. Oferecia-se-lhes um café da manhã e era explicado em mais detalhes a todos os participantes o propósito real do procedimento experimental e procedia-se o reembolso de despesas por sua participação no estudo. Os voluntários eram liberados e os pacientes eram orientados sobre os procedimentos para receberem tratamento na instituição.

3.5 Instrumentos de Avaliação

Os seguintes instrumentos de avaliação foram utilizados no protocolo:

3.5.1 Psicométricos

3.5.1.1 Triagem

- ✦ Escala de Ansiedade de Hamilton (HAM-A; HAMILTON, 1959) - composta por quatorze itens, com pontuação variando de 0 a 4, subdivididos em dois grupos, sete relacionados a sintomas de humor ansioso e sete relacionados a sintomas físicos de ansiedade. A pontuação total corresponde à somatória dos escores individuais, variando entre 0 e 56 - Anexo 5;
- ✦ Escala de Depressão de Hamilton (HAM-D; HAMILTON, 1960) - utilizada em sua versão original de 21 itens, avalia sintomatologia depressiva com pontuação variando de 0 a 2 ou de 0 a 4, com escores totais variando entre 0 e 62 (MORENO e MORENO, 2000) - Anexo 6;
- ✦ Entrevista Diagnóstica Clínica Estruturada para o DSM-IV (SCID; FIRST et al., 1994; tradução e adaptação por TAVARES, M., 2000) Entrevista diagnóstica semi-estruturada elaborada para auxiliar clínicos,

pesquisadores e estagiários a elaborar diagnósticos psiquiátricos confiáveis com base no DSM-IV. Abrange 44 quadros psicopatológicos mais comuns em saúde mental, entre transtornos psicóticos, do humor, de ansiedade, por uso de substâncias, somatoformes, de alimentação e de ajustamento.

3.5.1.2 Caracterização do perfil psicológico

- ☛ Inventário de Temperamento e Caráter (TCI; CLONINGER et al., 1993; tradução e adaptação para uso no Brasil de FUENTES et al., 2000) – escala de auto-avaliação, com itens do tipo V ou F baseada no modelo psicobiológico da personalidade. É composta por 240 itens do tipo verdadeiro ou falso, divididos em 25 sub-fatores distribuídos entre 7 fatores, sendo 4 de temperamento e 3 de caráter, expressando conceitos particulares (FUENTES et al., 2000) - Anexo 11;
- ☛ Escala de Afeto Positivo e Negativo (PANAS; WATSON et al., 1988) – escala de auto-avaliação composta de 60 itens que medem afetos específicos, distribuídos em uma dimensão geral de Afeto Positivo e Afeto Negativo e sub-escalas que avaliam outras emoções. Cada item é avaliado de 0 a 4 (Andrade e Gorenstein, 2000) – Anexo 2;
- ☛ Inventário de Ansiedade Traço (IDATE-T; SPIELBERGER; GORSUCH; LUCHENE, 1970; BIAGGIO e NATALÍCIO, 1979) - escala de auto-avaliação, composta de 20 itens avaliados de 1 a 4 que avalia a propensão para a ansiedade – Anexo 3;
- ☛ Inventário de Depressão de Beck (BDI; BECK et al., 1961) – escala de auto-avaliação composta por 21 itens, incluindo sintomas e atitudes relativos à sintomatologia depressiva, cuja intensidade é avaliada de 0 a 3 (GORENSTEIN e ANDRADE, 2000). Os escores totais, dados pela soma dos itens individuais, variam entre 0 e 63 - Anexo 9;
- ☛ Adaptação da Escala de Avaliação de Estressores Diários – escala com 55 itens baseada no Questionário de Eventos Quotidianos (QEC; GORENSTEIN et al., 1998) e na “Hassles and Uplifts Scale” (KANNER et al., 1981;

DELONGIS; FOLKMAN; LAZARUS, 1988). Avalia numa escala de 0 (nada ou não aplicável) a 3 (muito) o quanto cada item geralmente é uma satisfação e/ou um aborrecimento na vida diária. O escore total é dado pela soma total dos itens – Anexo 13;

☛ Escala de Coping - Adaptação do Inventário de Estratégias de "Coping" (FOLKMAN e LAZARUS, 1985), – escala de auto-avaliação composta por 66 itens, divididos em 8 fatores, cuja intensidade é avaliada de 0 (não uso essa estratégia) a 3 (uso quase sempre). Inclui pensamentos e ações utilizados pelo indivíduo para lidar com demandas internas ou externas originadas por estressores. Traduzida e adaptada por Savoia (2000) a escala foi modificada para refletir padrões gerais de "coping" ao invés de estratégias frente a estressores específicos – Anexo 12;

☛ Adaptação da Escala de Percepção de Estresse - versão com 10 itens – (PSS; COHEN; KAMARCK; MERMELSTEIN et al., 1983) escala de auto-avaliação tipo Likert composta por itens avaliados de 0 (nunca) a 4 (muito frequentemente). Proporciona uma medida da intensidade com que as situações de vida foram identificadas como estressantes no último mês. Traduzida do original em inglês pela experimentadora – Anexo 10; e

☛ Escala Analógica de Avaliação do Experimento: Escala elaborada pelos pesquisadores, composta por 15 itens dispostos em formato de escala analógica visual de 100 mm que avaliam como o indivíduo GERALMENTE se sente (ao longo da vida, LV) quando tem que falar em público e como o indivíduo sentiu-se DURANTE O EXPERIMENTO – Anexo 8.

3.5.1.3 Avaliação do estado físico e psíquico durante o experimento

☛ Escala Analógica Visual de Humor (VAMS; "Visual Analogue Mood Scale", BOND e LADER, 1974) - versão de 20 itens; escala de auto-avaliação composta de adjetivos opostos, que representam estados psíquicos, dispostos nas extremidades de uma linha de 100 mm (ex.: alerta-sonolento; ansioso-calm; tranquilo-agitado) – Anexo 1;

- ☛ Escala de Sintomas Somáticos (ESS; Bodily Symptoms Scale) – elaborada para detectar sintomas físicos (fadiga, fraqueza, fome, sede, dificuldade de coordenação). A intensidade de cada sintoma é avaliada de 0 (nada) a 5 (extremamente) – Anexo 7;
- ☛ Inventário de Ansiedade Estado (IDATE-E; SPIELBERGER et al., 1970; BIAGGIO e NATALÍCIO, 1979) - escala de auto-avaliação, composta de 20 itens que avalia o nível de ansiedade no momento da aplicação dos testes – Anexo 4;

3.6 *Medidas Fisiológicas*

Batimentos cardíacos por minuto (BPM), Pressão Arterial (PA), Resposta Galvânica da Pele (GSR) e temperatura foram adquiridos utilizando-se o equipamento DataLab 2000 e Amplificadores de Biopotencial (Lafayette Instrument Company - USA). Dados redundantes de pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) e BPM foram obtidos com esfigmomanômetro digital (monitor LABTRON, Model 02-847, AND - Graham-Field- NY).

3.7 *Avaliação do perfil imunológico e endócrino*

3.7.1 *Separação de células mononucleares*

O sangue venoso foi coletado em tubos heparinizados S-Monovette de 8 ml (Sarstedt, Alemanha) - e armazenado em geladeira por no máximo 4 horas, até seu processamento. O processamento foi realizado pela experimentadora.

As células mononucleares foram isoladas por gradiente de concentração Ficoll/Paque Plus D1076 (Pharmacia). O sangue era diluído na proporção 1:2 em solução RPMI simples e em seguida adicionado lentamente (na proporção de 3:1) sobre a solução de Ficoll/Paque. Os tubos eram então centrifugados por 30 min. a 1200 rpm, a 4°C. Após a centrifugação o pellet de células mononucleares era

coletado e lavado duas vezes com RPMI simples. A viabilidade celular foi determinada pelo corante vital Azul de Trypan e o número de células estimado na câmara de Neubauer. As células lavadas eram ressuspensas em 900µl de soro fetal bovino (Laborclin, Campinas Brasil) e adicionadas a uma solução de RPMI+ DMSO a 20%, em volumes iguais. As células eram separadas em duas alíquotas e armazenadas em nitrogênio até o processamento.

3.7.2 Atividade Citotóxica de células NK

O procedimento foi realizado pelo Professor Magnus Ake Gidlund e pela experimentadora (AFF) no Laboratório de Soroepidemiologia e Imunobiologia do Instituto de Medicina Tropical da FMUSP. Os testes foram executados de uma só vez, ao final do projeto, no material armazenado em nitrogênio. Utilizou-se a metodologia proposta por Nunes (1996) adaptando-a às particularidades do material.

Cultura de células-alvo – células de eritroleucemia humana (linhagem K562) foram mantidas em cultura (50 ml – Costar, USA) com meio de cultura RPMI suplementado com 10% de soro fetal bovino (Laborclin, Campinas Brasil) e 1% de L-Glutamina. Essas células quando em crescimento exponencial foram utilizadas como alvo no ensaio de citotoxicidade natural.

Marcação das células K562 com cromo radioativo – cerca de 5×10^6 células da linhagem K562, diluídas em meio RPMI contendo 20% de soro fetal bovino (200µl), foram incubadas com 3,7 mBq (100µCi) de Cromo radioativo (cromato de sódio) (IPEN, SP – Brasil) por um período de 2 horas, a 37°C, sob agitação constante. Após a incubação, as células foram lavadas 3 vezes, ressuspendidas e ajustadas a uma concentração de 1×10^5 células/ml em RPMI.

Ensaio de citotoxicidade natural – as células efetoras foram descongeladas, lavadas duas vezes em solução RPMI simples e distribuídas em quadruplicatas de 50µl em placas de microtitulação com fundo em U. A cada poço foram adicionados 25 µl de células-alvo, previamente cromadas. As placas foram

centrifugadas a 800 rpm por 3 minutos e incubadas a 37°C por 4 horas. Após a incubação as placas foram novamente centrifugadas a 800 rpm por 10 minutos. Para o controle de lise máxima as células-alvo foram incubadas com 0,2 µl de PBS tween e, para controle de lise espontânea, com meio de cultura enriquecido. O sobrenadante de cada um dos poços foi recolhido para avaliação dos níveis de cromo radioativo liberado pela lise celular. Os níveis de radiação foram quantificados em contador de radiação γ (Gamma Counter 1275 - mini-gamma, LKB/Wallac). Os resultados foram expressos sob a forma de atividade específica $\pm$ erro padrão, calculados segundo a fórmula:

$$\text{Atividade específica} = \frac{\text{lise da amostra} - \text{lise espontânea}}{\text{lise máxima} - \text{lise espontânea}} \times 100$$

3.7.3 Análise de alteração funcional de neutrófilos

O procedimento de análise de alteração funcional de neutrófilos foi realizado pela colaboradora Ellena Christina Paulino no Laboratório de Imunofarmacologia dos mediadores lipídicos do Departamento de Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP. O procedimento adotado foi o descrito a seguir:

Obtenção e cultivo das células endoteliais: Foram utilizadas células endoteliais da linhagem ECV 304, provenientes de cordão umbilical humano. De acordo com a técnica descrita por Toffoli (2000), as células foram cultivadas em frascos de poliestireno de 25cm² (Corning Costar Co., Cambridge, MA, EUA), com 5mL de meio de cultura F12 (Sigma Chem. Co., St Louis, EUA), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), antibióticos (penicilina 1000U/mL e estreptomicina 10mg/mL, Sigma Chem. Co., St Louis, EUA) e mantidas em estufa a 95% O₂/5% CO₂, a 37°C. O meio de cultura foi substituído a cada 48 horas. As células foram então subcultivadas. O meio de cultura era aspirado com uma pipeta Pasteur e as células lavadas com 2mL de uma solução salina balanceada (EBSS). Em seguida uma solução de tripsina 0,05%/EDTA 0,02% foi adicionada aos frascos de cultura e esses foram retornados à estufa de cultura

(95% O₂/5% CO₂), a 37°C, por um período de 10 minutos para ação da enzima. Em seguida, as células foram observadas em microscópio óptico invertido (NIKKON) para a verificação do descolamento das mesmas. As células tripsinizadas foram homogeneizadas, colocadas em tubos de 15mL (Costar) e centrifugadas a 1000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e as células endoteliais, ressuspendidas em meio F12/SFB. Desta suspensão retirou-se uma alíquota para determinação da concentração celular em câmara de Neubauer. A partir daí as células foram mantidas em subcultivo (2x10⁶ células em 15mL de meio em uma garrafa de 75 cm² e mantidas em estufa a 95% O₂/5% CO₂, a 37°C como descrito acima) ou foram utilizadas para plaqueamento. Para a formação de monocamada, uma suspensão contendo 1x10⁴ cel/mL foi plaqueada, a 100µL/poço, em placas de fundo chato de 96 poços. As placas eram incubadas em estufa de CO₂ por 48 horas para a obtenção da monocamada de células endoteliais.

Obtenção de neutrófilos humanos: Os neutrófilos foram separados do sangue dos sujeitos pela técnica de gradiente de densidade Ficoll/Hipaque (Histopaque, Sigma Chem. Co., St Louis, EUA). Em tubo plástico de 15mL, foram adicionados 3mL de Histopaque de densidade 1,119 g/mL, seguidos de 3mL de Histopaque de densidade 1,077g/mL e 6mL de sangue total. O tubo era então centrifugado a 1800 rpm por 30 minutos, à temperatura ambiente. Após essa centrifugação, o plasma e as células mononucleares foram descartados e os neutrófilos recolhidos em um tubo de 50mL. Os neutrófilos eram lavados com solução de Hanks (HBSS) e centrifugados novamente a 1000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante era novamente descartado e as hemácias lisadas com uma solução de Gey's. Os neutrófilos eram ressuspendidos em meio F12 e duas alíquotas retiradas, uma para contagem total do número de células em câmaras de Neubauer, e a outra para o teste de viabilidade celular pela técnica de exclusão do azul de trypan. Feito isso, o número de células foi acertado para 50x10⁴ células/mL.

Ensaio do descolamento para células endoteliais: Para o ensaio de descolamento induzido por neutrófilos, os mesmos, em quantidades de 5x10⁴ células/poço foram colocados sobre a monocamada de células endoteliais e mantidos por diferentes períodos de tempo: 30, 60, 120, 240 minutos. Após

cada período, os neutrófilos foram retirados e a monocamada lavada 3 vezes com meio F12. Em seguida, adicionou-se aos poços 100µL de meio F12 e logo após, 10µL de uma solução de cristal violeta (0,5%) em ácido acético (30%). Depois de 10 minutos as placas foram lavadas e colocadas para secar. 100µL De metanol absoluto eram adicionados a cada poço e a leitura da densidade óptica realizada em leitor de ELISA a 620nm. O descolamento foi definido como a porcentagem de diminuição da densidade óptica (DO) em relação à monocamada de células endoteliais, sem a presença de neutrófilos.

Ensaio de viabilidade da célula endotelial pela técnica do MTT: Foi realizado o teste de MTT para determinação da viabilidade e/ou ativação celular. Após 1 hora de incubação dos neutrófilos com as células endoteliais eram adicionados 10µL de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-yl]-2,5 difeniltetrazólio) com 5mg/mL em PBS, para cada poço da placa, seguido de uma incubação por mais 3 horas em estufa de CO₂, a 37°C. Após esse período, um volume de 100µL de uma solução de dodecilsulfato de sódio a 10% (SDS10%) em HCl 0,01N foi adicionado a cada poço para dissolver os cristais formados devido à redução do MTT pelas células que permaneciam vivas. Após 18 horas, a DO era determinada em leitor de microplacas de ELISA a 540nm. O branco adotado foi o meio de cultura/SFB mais MTT-SDS. Foram incluídos poços contendo apenas os neutrófilos e outros apenas com as células endoteliais para possíveis comparações.

Quantificação da mieloperoxidase (MPO): Os sobrenadantes das co-culturas de neutrófilos e células endoteliais, nos diferentes tempos, foram retirados e centrifugados por 5 minutos a 1000 rpm para quantificação da enzima mieloperoxidase. Os sobrenadantes foram transferidos para uma placa de 96 poços aos quais foram adicionados 100µL de solução de ortofenildiamina 50% (OPD, Sigma CHEM. Co, St Louis, EUA) em 10 mL de solução tampão citrato de sódio, pH 5, contendo 10µL de 30% H₂O₂. As placas eram protegidas da luz por 10 minutos. A reação era paralisada com 50µL de 4M H₂SO₄ e, em seguida, a leitura da DO era feita em leitor de ELISA a 490 nm.

Quantificação de LTB₄: A concentração de LTB₄ nos sobrenadantes das co-culturas foi determinada por ELISA específico para LTB₄ (Pradelles et al., 1985),

utilizando reagentes Cayman Chem. Co, EUA. Foram empregadas placas de 96 poços recobertas com anticorpos de coelho anti-IgG de camundongos. A cada poço foram adicionados 50µL da amostra, 50µL do conjugado LTB₄-acetilcolinesterase e 50µL de um anti-soro anti-LTB₄ obtido em camundongos. As placas eram incubadas por 18 horas a temperatura ambiente. Em seguida, era adicionado o reagente de Ellman, que contém o substrato da enzima acetilcolinesterase. Após este procedimento a leitura era realizada com filtro de 412 nm em leitor de ELISA.

3.7.4 Contagem diferencial de linfócitos

O sangue venoso foi coletado em tubos S-Monovette 4,9 ml com EDTA (Sarstedt, Alemanha) - e armazenado em geladeira até o fim do procedimento. As amostras eram então levadas para o Laboratório Central do Hospital das Clínicas onde a contagem diferencial de linfócitos presentes nas amostras de sangue periférico foi realizada por citometria de fluxo (Becton Dickinson, USA), marcando as células com anticorpos monoclonais Multitest CD3/CD8/CD45/CD4 (Becton Dickinson, USA) para quantificação de células T CD3, CD4 e CD8; Multitest CD3/CD16+CD56/CD45/CD19 e CD2/19 e CD8/56 (Becton Dickinson, USA) para quantificação de células NK e B.

3.7.5 Perfil de citocinas

O sangue venoso foi coletado em tubos heparinizados S-Monovette 4,9 ml (Sarstedt, Alemanha) e armazenados em geladeira por no máximo 4 horas, até seu processamento. O processamento foi realizado pela colaboradora Mariko Yokoo no Laboratório de Soroepidemiologia e Imunobiologia do Instituto de Medicina Tropical da FMUSP. O sangue foi diluído com 10% (vol/vol) de meio de cultura (no. 31053, Life Technologies, Gaithersburg, MD) e incubado com LPS (Difco 055:B5, Westphal, Difco Laboratories, Detroit, MD) e/ou dexametasona -

21 -fosfato (Dex; nº D1159, Sigma, Chemical Co., St. Louis, MO), ambos dissolvidos em salina isenta de pirogênio (nº 214, Biofluids, Rockville, MD). A fim de equalizar a quantidade de sangue incubado em cada experimento padronizou-se: a 400 µL de sangue adicionou-se 50 µL de LPS ou salina e 50 µL dexametasona ou salina em uma microplaca de 48 poços (nº 3548, Costar, Cambridge, MA). Após 24 horas (YAQOOB et al., 1999; VISSER et al., 2001) e 48 horas (PETROVSKY et al., 1998) de incubação em uma atmosfera umidificada a 37 °C e 5% CO₂ a microplaca era centrifugada por 10 minutos a 2000 g a 4 °C. O plasma foi coletado por pipeta e guardado a -70 °C até análise. A dose final de 30 ng/µL LPS foi usada em todos os experimentos nos quais a produção de citocina foi inibida pela dexametasona (DERIJK et al., 1997). As análises foram realizadas em dois momentos do projeto e repetidas ao final.

Tendo em vista os custos do projeto, para análise do perfil de citocinas, selecionou-se duas de perfil Th1: Interleucina 2 (IL-2), Interferon-gama (IFN-γ) e duas de perfil TH2: Interleucina 4, Interleucina 13. O teor de linfocinas foi determinado pela técnica de ELISA (Sedgwich & Czerkinky, 1992), utilizando os anticorpos monoclonais Set FLEXIA Human IFN-gamma, Interleukin 2, Interleukin 4, Interleukin 13 (Biosource Europe SA, Belgium). O limite inferior de detecção para todas as citocinas foi de 9 pg/ml.

3.7.6 Dosagem de hormônios

O sangue foi coletado em tubos heparinizados S-Monovette 4,9 ml (Sarstedt, Alemanha) e imediatamente transportado em gelo para o Laboratório de Neurociências LIM-27 no Instituto de Psiquiatria da FMUSP, onde era prontamente centrifugado (dentro de menos de 20 minutos de sua coleta) a 3000 rpm por 30 minutos em centrífuga refrigerada mantida a 4°C. Ao término do ciclo da centrífuga o plasma era aliquotado em criotubos e armazenado em freezer a -80°C.

As dosagens plasmáticas de ACTH e cortisol foram realizadas ao fim do projeto pelo Laboratório Fleury (São Paulo) com o material armazenado. A

metodologia utilizada para dosagem de ACTH plasmático foi ensaio imunoquimioluminométrico utilizando kits Nichols (amplitude de detecção de 0 – 1.500 pg/mL), realizado por processo semi-automatizado no pipetador robotizado e luminômetro. A dosagem de cortisol sérico foi realizada por fluoroimunoensaio no kit EG&G Wallac (sensibilidade 15 nmol/L) por processo automatizado no equipamento AutoDELFIA da EG&G Wallac.

3.7.7 Dosagem de catecolaminas plasmáticas

O sangue foi coletado, centrifugado e armazenado de acordo com o procedimento descrito no item Dosagem de Hormônios.

As concentrações plasmáticas de adrenalina, noradrenalina e dopamina foram realizadas ao fim do projeto pelo Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração (São Paulo). As catecolaminas foram extraídas do plasma congelado com óxido de alumínio (alumina) e em seguida separadas por fase reversa e quantificadas em cromatógrafo líquido de alta pressão com detector eletroquímico. A 1 mL de plasma acrescentaram-se 10 mg de alumina, 300 µl de tampão Tris-EDTA, 2 M, pH 8,7 e 50 µl de padrão interno (solução de 10 ng/ml de DHBA em ácido acético 0,1 N), seguido de agitação por inversão durante 5 minutos. Após homogeneização, o sobrenadante foi desprezado e a alumina era lavada com H₂O ultra pura e submetida a agitação por inversão durante 1 minuto. Este processo de lavagem foi repetido por mais uma vez e as catecolaminas foram eluídas da resina em solução de ácido acético 0,1 N, EDTA a 5% e dissulfito de sódio a 10%. Este material foi centrifugado por 1 minuto e o sobrenadante filtrado através de filtro Millipore 0,45 µ. Uma parte deste filtrado (25µl a 50µl) foi injetada em um sistema de cromatografia de alta pressão com detector eletroquímico (HPLC). A identificação dos picos foi feita por meio da verificação dos tempos de retenção e comparação com padrões conhecidos. O cálculo baseou-se na altura dos picos e na sua relação com a altura do padrão interno (DHBA). Os limites inferiores de detecção para adrenalina e noradrenalina foram de 12,5 pg/mL, e de 25,0 pg/mL para dopamina. Os

coeficientes de variação inter-dia adotados, na concentração de 100 pg/mL, foram os seguintes: para NA=6,8%; A=7,9% e DA=7,7% e intra-dia de NA=5,5%; A=5,5% e DA=8,0%.

3.7.8 Dosagem de proteínas de fase aguda e imunoglobulinas

O sangue foi coletado em tubos com gel separador S-Monovette, 8 ml (Sarstedt, Alemanha) e os tubos armazenados em refrigerador até o fim do procedimento, quando eram transportados em gelo para o Laboratório de Neurociências - LIM-27 no Instituto de Psiquiatria da FMUSP. Os tubos eram então centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos em centrífuga refrigerada mantida a 4°C. O soro era aliquoteado em criotubos e armazenado em freezer a -80°C até processamento pelo Laboratório Central do Hospital das Clínicas.

As proteínas de fase aguda (complemento C3 e C4, haptoglobina, α -1-antitripsina e β -2 microglobulina) e imunoglobulinas (IgG, IgA, IgM, IgE) foram dosadas por nefelometria utilizando reagentes para nefelômetro Behring (Dade Behring Margurg, Alemanha).

3.7.9 Padronização da técnica de RT-PCR

O procedimento foi realizado pela pesquisadora, com a colaboração do Dr. José Ângelo Lauletta Lindoso, no Laboratório de Soroepidemiologia e Imunobiologia do Instituto de Medicina Tropical da FMUSP. Considerando que a mensuração de citocinas plasmáticas é de baixa sensibilidade, e, portanto, dificulta ou impossibilita a detecção de pequenas quantidades, optamos pela introdução da dosagem do RNA-mensageiro de citocinas como critério adicional para verificação de alterações imunes. Optou-se pelo procedimento de reação em cadeia da polimerase por transcrição reversa ("reverse transcriptase - polimerase chain reaction" = RT-PCR) para detecção de RNA mensageiro de hipoxantina

fosforibosiltransferase (HPRT), TNF- α , IFN- γ , IL-10, IL-6, IL-4, IL-2, IL-1 α em sangue periférico.

Purificação de RNA: O RNA foi extraído de células de sangue periférico separadas pelo mesmo procedimento utilizado para separação de células NK. Essas células foram armazenadas em trizol a -80° C até a purificação. Para obtenção de RNA total, 2 x 10⁶ células/mL foram incubadas com 1 mL de trizol (Gibco, EUA) e adicionado 200 μ L de clorofórmio, sendo agitadas vigorosamente. Após centrifugação a 3200 g por 15 minutos a 4 °C, coletou-se a fase aquosa e acrescentou-se o mesmo volume de isopropanol, incubando a mistura por 30 minutos a -80 °C. Após nova centrifugação a 3200 g por 15 minutos, acrescentou-se à mistura etanol absoluto e recuperou-se o sedimento por centrifugação. Deixou-se secar o sedimento por 10 minutos e ressuspendeu-se em 50 μ l de água livre de RNase.

Obtenção de cDNA a partir de RNA por transcrição reversa: Dez μ L das amostras de RNA obtidas a partir do sangue periférico de pacientes e voluntários foram adicionados a 10 μ L de uma solução contendo DTT 10mM (Gibco, EUA), dNTP 5mM (Gibco, EUA), inibidor de RNase 40U/ μ L (Gibco, EUA), Random Primers 100 pmol/ μ L (Gibco, EUA) e transcriptase reversa 200 U/ μ L (Gibco, EUA). Esta mistura foi incubada por 60 minutos a 37 °C e posteriormente por 15 minutos a 95 °C. O cDNA obtido foi guardado em freezer a -20°C até a realização da técnica de PCR.

Reação em cadeia da polimerase ("polimerase chain reaction" = PCR): Para a construção dos primers, consultou-se inicialmente Karp et al. (1993) e realizou-se a busca utilizando o nome da proteína e as palavras humano, RNAm e/ou primer na página do Nucleotide (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>) para cada um dos primers solicitados. Para confirmação dos primers já obtidos foi consultada a seqüência pelo Gene Bank (página da web do NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/sts/sts.cgi?uid=>) acrescido do número da seqüência obtido na página do Nucleotide. Os números das seqüências no UniSTS estão apresentados no Quadro 2.

Três μL de amostras de cDNA, obtidas a partir de RNA de células de sangue periférico, foram acrescidas de 47 μL das soluções de PCR mix contendo pares de primers de oligonucleotídeos para HPRT e demais citocinas testadas (agrupadas pelos tamanhos dos produtos do PCR), ajustadas para a concentração de 10 mM (2,5 μL de cada primer) (Quadro 2); dNTPs 200 mM (Gibco, EUA); taq polimerase 0,5 unidade (5 U/ μL) (Gibco, EUA) em solução tampão de PCR Tris-HCl 200mM - pH 8,4; KCl 500 mM (Gibco, EUA) e acrescida de 1 gota de óleo mineral (Sigma, EUA). A mistura da reação foi submetida a um ciclo a 94 °C, 5 minutos; 55 °C, 1 minuto; 72 °C, 1 minuto; 43 ciclos de 93 °C, 25 segundos; 55 °C, 50 segundos e 72 °C, 45 segundos; um ciclo a 93 °C, 25 segundos; 55 °C, 50 segundos; 72 °C, 5 minutos, utilizando-se termociclador (MJ Research, EUA). A amostra foi analisada por eletroforese em gel de agarose 1,5 % em tampão de corrida TAE, corado com brometo de etídio (0,5 $\mu\text{g/mL}$) e observado sob luz UV e fotografada com filme polaróide.

Quadro 2. Sequência de pares de oligonucleotídeos iniciadores, número da sequência no banco de dados da página do NCBI e tamanho esperado dos produtos utilizados na detecção dos primers de citocinas humanas, obtidas a partir de sangue periférico de sujeitos para reação em cadeia da polimerase por transcrição reversa (RT-PCR).

Proteína	Oligonucleotídeo 5'....3' (forward)	Oligonucleotídeo 3'.....5' (reverse)	Seq. UniSTS	Prod. PCR
HPRT	CGA GAT GTG ATG AAG GAG ATG G	GCA TTA TAC TGC CTG ACC AAG G		557 bp
IL-1 α	TTG TCT CAC TTG TGC AGT GTT G	CTT AAT TTG CCC ATC TGT AAT ATG G	80628	300 bp
IL-2	CTA AGT CTT GCA CTT GTC AC	GGT AAT CCA TCT GTT CAG AA	158368	396 bp
IL-4	ATG GGT CTC ACC TCC CAA CTG CT	CGA ACA CTT TGA ATA TTT CTC TCT CAT	157483	462 bp
IL-6	GGT GGC AAA AAG GAG TCA CA	TAG AAT TTA GCG TTC CAG TT	55457	247 bp
IL-10	ATG CCC CAA GCT GAG AAC CA	TCT CAA GGG GCT GGG TCA GC	NM 000572	351 bp
IFN- γ	TTG GCT TTT CAG CTC TGC AT	GGA CAA CCA TTA CTG GGA TG	158356	494 bp
TNF- α	TGA CAA GCC TGT AGC CCA T	GTC TGG GCA GGT CTA CTT T	X01394	429 bp

3.8 *Análise Estatística*

3.8.1 *Para variáveis medidas em um único momento (pré-experimento)*

Para identificação dos fatores e subfatores significativos de cada um dos instrumentos psicológicos de avaliação utilizados (TCI, Escala de Coping, IDATE-T, Beck, PANAS, EAS, PSS, Escala analógica de avaliação do experimento - ANA), que visavam estabelecer o perfil psicológico dos sujeitos da amostra, realizou-se uma análise de variância (ANOVA) univariada, utilizando cada uma das escalas (ou seus fatores e subfatores) como variável dependente e grupo e sexo como fatores fixos entre grupos.

3.8.2 *Para variáveis medidas mais de uma vez ao longo do experimento*

As variáveis psicofisiológicas (PAS, PAD, BPM, GSR) e as escalas de avaliação (IDATE-E, ESS total e VAMS) foram coletadas 5 vezes ao longo do experimento nos momentos LBE (basal), ANT (antecipatória) DES (desempenho), POS (ao fim da SFP) e FIN (30 min. após o fim da SFP).

As variáveis imunológicas celulares avaliadas foram: Linfócitos T - CD3, CD4, CD8, CD19, CD56, relação entre linfócitos T CD4/CD8, atividade citotóxica de células NK, porcentagens totais de leucócitos, linfócitos, basófilos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos e atividade citotóxica de neutrófilos. As variáveis imunes humorais testadas foram: ELISA de citocinas IL-2, IL-4, IL-13 e Interferon- γ ; fatores de complemento C3c e C4; Imunoglobulinas A, G, M e E; proteínas de fase aguda α 1-antitripsina, β 2-microglobulina e haptoglobina.

As variáveis hormonais avaliadas foram cortisol e ACTH e foram também determinados os níveis das catecolaminas noradrenalina, adrenalina e dopamina.

As variáveis imunes e hormonais avaliadas foram colhidas 3 vezes ao longo do experimento, nos momentos LBE, DES e FIN.

As variáveis psicofisiológicas, imunes e hormonais acima foram submetidas a uma análise de variância para dados com medidas repetidas utilizando o procedimento PROC MIXED do software SAS para testar os efeitos de momento experimental, grupo, sexo e interações sobre cada uma das variáveis. Quando efeitos significativos eram observados realizou-se comparações múltiplas (análise de contrastes) para identificar onde ocorriam as diferenças.

Para os itens individuais da ESS utilizou-se ANOVAs não-paramétricas de dados ordinais com medidas repetidas, calculadas pela macro elaborada por Rosa (2001), testando os efeitos de momento, grupo experimental, sexo e interações, produzidos pelo SFP. Quando efeitos de sexo não eram encontrados, a análise foi repetida excluindo a variável sexo do modelo.

Nas variáveis onde foram observados níveis indetectáveis (Adrenalina e ELISA de Interferon- γ) o resultado foi considerado como o valor do limite inferior de detecção para cada uma das dosagens.

Os resultados positivos do RT-PCR de citocinas (IL-1 α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α e IFN- γ), por serem qualitativos, foram analisados por meio de porcentagem apenas.

Plotou-se gráficos apenas para as variáveis que sofreram efeitos significativos provocados pelo procedimento. Os gráficos apresentam as médias $\pm$ 2 EPM para cada uma das variáveis. Quando efeitos de sexo foram observados foram plotados dois gráficos da mesma variável, um para o sexo feminino e outro para o sexo masculino.

3.8.3 Análise Fatorial

Realizou-se uma análise fatorial pelo método de análise dos componentes principais utilizando a rotação varimax com normalização kaiser na tentativa de

reduzir o número de variáveis a serem utilizadas como candidatas a variáveis explicativas no modelo de regressão logística para análise discriminante.

3.8.4 Análise Discriminante

Para testarmos quais características psicológicas (ou combinação delas) melhor discriminariam os pacientes com fobia social do grupo controle foi realizada uma análise discriminante por meio de regressão logística, utilizando o método stepwise. As variáveis candidatas foram os fatores da escala TCI e demais escalas que atingiram significância estatística na ANOVA, além dos dois fatores (F1 e F2) da ANA originados da análise fatorial.

3.8.5 Análises de regressão múltipla

As variáveis explicativas selecionadas foram utilizadas também para realização de análises de regressão logística pelo método stepwise, ajustando por grupo, sexo e pelo valor em LBE. O objetivo dessas análises era avaliar se características psicológicas dos sujeitos poderiam prever se o SFP produziria variações maiores em alguma das variáveis dependentes (psicofisiológicas, hormonais, imunes). As variações foram quantificadas por meio do cálculo da diferença entre os dados de cada variável no momento DES e o momento LBE. Dependendo da natureza da variável (especialmente quando o nível basal já apresentava diferença entre os grupos ou para aquelas variáveis onde havia muitos valores indetectáveis) calculou-se uma razão ($\frac{DES-LBE}{LBE}$) ou a diferença absoluta (DES - LBE) entre os momentos.

DES

3.8.6 Análise de correlação para as variações entre os momentos do experimento (DES-LBE)

Com o objetivo de investigar as correlações específicas entre as alterações produzidas pelo experimento em pares específicos de variáveis, realizou-se análises de correlação de Pearson, ajustando por grupo, sexo e grupo x sexo. As variações (delta) provocadas pelo experimento foram testadas duas a duas combinando as seguintes variáveis: PAS, BPM, cortisol, ACTH, noradrenalina, linfócitos T CD4, células NK, Linfócitos B e relação entre linfócitos TCD4/CD8.

Testou-se por análise de regressão (stepwise) a correlação entre a variação em PA sistólica (DES-LBE) e os níveis basais (LBE) das variáveis imunes e hormonais (CD4, CD56, CD19, relação CD4/CD8, cortisol, ACTH e noradrenalina) e a associação entre a variação de batimentos e os níveis basais das variáveis imunes, considerando grupo, sexo e grupo x sexo.

Os pacotes estatísticos utilizados foram os softwares SPSS versão 11.5.1 e SAS versão 8.02.

4 Resultados

4.1 Caracterização da Amostra

Foram convidados a participar do estudo 82 pessoas. Desse total, 6 abandonaram o estudo e 31 foram excluídas por motivos diversos (alterações nos exames de triagem; comorbidades com intensa sintomatologia depressiva ou ansiosa com escore acima de 15 nas escalas de Hamilton; uso de medicação; alergia) ou por não comparecimento às sessões agendadas. Após três não-comparecimentos nas datas previamente marcadas, em comum acordo com o sujeito, e confirmadas no dia anterior ou no próprio dia, o sujeito era excluído e não mais contatado. Foram testados 45 sujeitos experimentais. Devido a problemas de ordem técnica, a maioria relacionada com coleta ou armazenamento de sangue, os dados de 13 sujeitos tiveram que ser descartados. Embora tenha havido grande empenho na busca de pacientes, não foi possível conseguir um número maior de sujeitos que preenchessem os critérios para inclusão no estudo e fazer com que aqueles que eram encaminhados comparecessem às triagens marcadas, o que causou o encerramento das coletas com 32 sujeitos, 13 pacientes e 19 voluntários. Alguns resultados das análises laboratoriais não estiveram disponíveis para todos os sujeitos, portanto o tamanho da amostra final sofreu uma leve variação de acordo com a variável.

Em virtude das dificuldades em obter sujeitos que preenchessem os critérios de inclusão não foi possível parear os sujeitos por sexo, no entanto, nas demais características – idade, estado civil, ter ou não filhos e possuir emprego – houve equilíbrio entre os grupos. Não houve diferenças significativas entre os grupos em relação à idade, escolaridade e demais características sócio-demográficas (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. – Idade (Média $\pm$ 2 EPM) dos sujeitos da amostra

Variável	Condição	N	Média e erro padrão
Idade	Voluntários	19	33,84 $\pm$ 8,99
	Pacientes	13	35,92 $\pm$ 8,82

Tabela 2. – Características sócio-demográficas da amostra

Variável	Condição		N	%
Sexo	Voluntários	Feminino	7	36,8
		Masculino	12	63,2
	Pacientes	Feminino	7	53,8
		Masculino	6	46,2
Estado Civil	Voluntários	Solteiros	4	21,1
		Casados	13	68,4
		Separados	2	10,5
	Pacientes	Solteiros	3	23,1
		Casados	9	69,2
		Viúvos	1	7,7
Tem Filhos	Voluntários		14	73,7
	Pacientes		9	69,2
Empregado	Voluntários		18	94,7
	Pacientes		11	84,6
Escolaridade	Voluntários	1º grau	7	36,8
		2º grau	8	42,1
		3º grau	4	21,1
	Pacientes	1º grau	5	38,5
		2º grau	6	46,2
		3º grau	2	15,4

Em relação às mulheres, especificamente, observou-se que apenas 28,57% faziam uso de anticoncepcionais; 57,14% foram testadas na fase lútea do ciclo; 14,28% na fase folicular e 7,14% na fase ovulatória, sendo que não há informação de fase do ciclo para 3 mulheres (21,42% da amostra); nenhuma mulher foi testada durante o período menstrual.

4.2 Perfil psicológico dos pacientes e voluntários

Os resultados da ANOVA para diferenças entre grupos experimentais nas variáveis psicométricas estão descritos abaixo:

➤ *Inventário de Temperamento e Caráter*: a ANOVA indicou diferenças significativas ($\alpha=0,05$) entre os grupos em 1 dos 7 fatores e em 5 dos 25 sub-fatores (Tabela 3). Observou-se uma significância marginal no subfator ST3 auto-transcendência 3 – aceitação espiritual x materialismo

do TCI ($p=0,058$). As médias $\pm$ DP para os efeito de interação grupo x sexo são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. – Fatores e sub-fatores significativos do TCI (médias $\pm$ desvios-padrão) para efeito de grupo

Variável	Voluntários		Pacientes		P
	Média	DP	Média	DP	
HAT - esquivas ao dano: total	10,26	6,07	23,07	4,62	<0,001
HA1 - esquivas ao dano: preocupação antecipatória x otimismo	2,57	1,86	5,76	2,97	0,002
HA2 - esquivas ao dano: medo da incerteza x confiança	3,57	2,09	5,53	1,26	0,010
HA3 - esquivas ao dano: timidez x sociabilidade	2,57	2,31	6,61	1,44	<0,001
HA4 - esquivas ao dano: fadigabilidade e astenia x vigor	1,52	1,54	4,63	1,93	<0,001
RD4 - dependência gratificação: dependência x independência	2,10	1,52	4,15	1,28	<0,001

OBS.: a tabela apresenta apenas os itens que atingiram significância estatística ($p \leq 0,05$) na ANOVA.

➤ **Escala de Afeto Positivo e Negativo (PANAS):** consideramos para esse estudo somente as duas dimensões primárias da escala - afeto positivo e negativo. Apenas o afeto negativo atingiu significância ($\alpha=0,05$) na discriminação dos grupos (Tabela 4). A ANOVA demonstrou diferenças significativas entre os sexos apenas no afeto negativo da PANAS ($p=0,025$); com médias $\pm$ DP de 20,64 $\pm$ 10,78 para mulheres e 11,41 $\pm$ 8,61 para homens.

➤ **Inventário de Ansiedade Traço - IDATE-T:** a diferença entre os grupos foi significativa (Tabela 4).

➤ **Inventário de Depressão de Beck:** a diferença entre os grupos foi significativa (Tabela 4).

Tabela 4. – Efeitos significativos de grupo para escalas e inventários psicométricos de avaliação (médias $\pm$ desvios-padrão)

Escala	Item	Voluntários		Pacientes		P
		Média	DP	Média	DP	
Escala de Afeto Positivo e Negativo:	afeto negativo	12,10	8,29	21,08	11,75	0,044
Inventário de Ansiedade Traço - IDATE-T		32,47	14,11	51,16	7,67	0,001
Inventário de Depressão de Beck		4,73	5,23	14,07	10,67	0,003
Inventário de Estratégias de Coping:	confronto	3,50	1,72	5,58	3,44	0,048

OBS.: A tabela apresenta apenas os fatores das escalas que atingiram significância estatística ($p \leq 0,05$) na ANOVA.

➤ **Escala de Avaliação de Estressores Diários:** não houve diferenças significativas entre os grupos para ambos os fatores da escala.

➤ *Escala de Percepção de Estresse – PSS*: não houve diferenças significativas entre os grupos.

➤ *Inventário de Estratégias de Coping*: No fator 1 (Confronto) a ANOVA identificou diferenças significativas entre grupos (Tabela 4). Os demais 7 fatores não foram significativos.

➤ *Escala Analógica de Avaliação do Experimento (ANA)*: Cinco dos 7 itens que avaliam como o indivíduo geralmente se sente (ao longo da vida, LV) quando tem que falar em público foram significativos na distinção entre os grupos. Os grupos foram significativamente diferentes em 4 dos 8 itens que avaliam como o sujeito se sentiu tendo que falar em público durante do experimento (hoje) (Tabela 5). Interações grupo x sexo significativas foram observadas no item 4 da ANA (à vontade – desconfortável; $p=0,036$) (Tabela 6). Diferenças significativas ($\alpha=0,05$) entre os sexos foram observadas no item 12 da ANA - concentração fácil x dificuldade de concentração ($p=0,036$) com médias $\pm$ DP de $72,92\pm18,33$ para mulheres e $55,13\pm19,35$ para homens.

Tabela 5. – *Itens da Escala Analógica de Avaliação do Experimento (médias $\pm$ desvios-padrão)*

Variável	Voluntários		Pacientes		P
	Média	DP	Média	DP	
LV 1 - calmo-ansioso	55,65	25,34	85,34	10,50	0,001
LV 3 - coração pouco acelerado-muito acelerado	46,94	24,47	70,50	29,48	0,040
LV 5 - concentração fácil-dificuldade de concentração	47,76	13,81	79,81	20,63	<0,001
LV 6 - indiferente-preocupado	53,59	14,68	81,84	14,24	<0,001
LV 7 - sem tremor-tremendo muito	48,70	10,91	75,58	23,23	0,001
HOJE 11 - à vontade-desconfortável	49,05	18,69	76,00	22,42	0,003
HOJE 12 - concentração fácil-dificuldade de concentração	53,06	12,83	77,16	21,37	0,002
HOJE 13 - indiferente-preocupado	52,53	14,27	79,25	15,65	<0,001
15 - comparado com a experiência anterior	38,23	19,17	63,33	29,76	0,014

OBS.: A tabela apresenta apenas os itens que atingiram significância estatística ($p\leq0,05$) na ANOVA.

Tabela 6. – Variáveis com efeito significativo e marginal de interação grupo x sexo na ANOVA (médias ± desvios-padrão)

Variável		Voluntários		Pacientes		P
		Média	DP	Média	DP	
ANA - LV 4 – À vontade-desconfortável	Feminino	64,57	16,45	76,14	25,80	0,036
	Masculino	43,70	14,52	86,40	15,09	
TCI – Auto-trancendência 3 - aceitação espiritual x materialismo	Feminino	8,00	4,00	6,71	4,35	0,058
	Masculino	3,42	2,50	7,17	3,49	

4.3 Variáveis Medidas na Sessão Experimental

Os resultados obtidos na análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas, seguida por análise de contrastes quando efeitos de momento foram significativos estão descritos abaixo.

4.3.1 Fisiológicas

Para identificar as diferenças nas variáveis pressão arterial (sistólica e diastólica), batimentos (BPM) e resposta galvânica da pele (GSR) monitoradas durante o procedimento do SFP, submeteu-se as leituras à análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas. Quando efeitos de momento foram observados procedeu-se a análise de contrastes.

Os dados de pressão arterial sistólica (PAS) são apresentados na Figura 5. Observou-se alterações significativas na PAS em função do momento do experimento ($p < 0,001$), do grupo experimental ($p = 0,040$) e do sexo ($p < 0,001$). A análise de contrastes revelou que, na PAS, LBE é menor que ANT ($p < 0,001$), DES ($p < 0,001$) e POS ($p < 0,001$); DES é maior que POS ($p = 0,012$) e FIN ($p < 0,001$). No momento FIN, por sua vez, a PAS é menor que em ANT ($p < 0,001$) e POS ($p < 0,001$).

Pressão Arterial Sistólica

Figura 5 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público na pressão arterial sistólica de pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, em posição reclinada, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas demonstrou variações significativas ($p \leq 0,05$) em função do momento, do grupo experimental e de sexo.

Os picos de PAS dos voluntários localizam-se no momento DES, porém, nos pacientes observa-se os picos de elevação da PAS tanto em ANT como em DES (Figura 5). Pacientes apresentaram variações, em média, maiores que as apresentadas pelos voluntários. Embora tenham havido alterações significativas obedecendo a um mesmo padrão, essas permaneceram dentro dos valores normais (PAS basal < 130 mmHg e PAD < 85 mmHg) para a população brasileira (IV DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 2002) sendo que apenas 4 sujeitos apresentaram PAS basal ≥ 140 mmHg. Todos os sujeitos retornaram aos níveis basais ao fim do experimento.

Pressão Arterial Diastólica

Figura 6 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público na pressão arterial diastólica de pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, em posição reclinada, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas demonstrou variações significativas ($p \leq 0,05$) em função do momento, do grupo experimental e de sexo.

Em relação à pressão arterial diastólica (PAD; Figura 6), observou-se alterações significativas em função do momento do experimento ($p < 0,001$), do grupo experimental ($p = 0,021$) e de sexo ($p = 0,002$). A análise de contrastes revelou que em DES as médias são maiores que em LBE ($p = 0,003$) e em FIN ($p < 0,001$); as médias em FIN são menores que em ANT ($p = 0,001$). Voluntários têm médias menores que pacientes e o sexo masculino apresenta valores, em média, mais altos que o sexo feminino. Observa-se nesse parâmetro que, diferentemente da PAS, as alterações não são uniformes dentro dos grupos experimentais e não seguem um padrão de acordo com o sexo.

A variável batimentos cardíacos (BPM; Figura 7) sofreu alterações em função dos momentos do experimento ($p = 0,013$), sem efeitos de grupo e

sexo. A análise de contrastes revelou que em ANT as médias são maiores que em LBE ($p=0,024$), DES ($0,007$) e POS ($p<0,001$).

A resposta galvânica da pele (GSR) foi a única medida fisiológica cujos dados adquiridos tiveram qualidade duvidosa. Os resultados foram erráticos e inconsistentes, deixando claro que os dados obtidos foram totalmente influenciados pelos problemas técnicos, ocasionados pela calibração incorreta do aparelho. Foram tentados vários contatos com os técnicos no exterior e mesmo seguindo suas orientações não foi possível corrigir o problema. Nos resultados submetidos à transformação logarítmica o erro padrão foi muito acima do aceitável para este tipo de medida. Assim, os dados de GSR não puderam ser incluídos nesta análise.

Figura 7 – Efeitos da exposição à simulação de falar em público nos batimentos cardíacos por minuto (BPM) de pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, em posição reclinada, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas demonstrou variações significativas ($p \leq 0,05$) em função do momento experimental.

4.3.2 Escalas de Avaliação

Observou-se que o procedimento produziu efeitos significativos de interação momento x grupo experimental ($p=0,015$) na ansiedade medida pelo IDATE-E (Figura 8). A análise de contrastes mostrou que nos voluntários não houve diferenças significativas ao longo do tempo. Porém, nos pacientes, a ansiedade em LBE é significativamente menor que em ANT ($p<0,001$), DES ($p<0,001$) e POS ($p<0,001$). A ansiedade em FIN também foi menor que em ANT ($p<0,001$), DES ($p=0,002$) e POS ($p=0,002$).

Figura 8 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público na ansiedade medida pelo IDATE-E em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas demonstrou efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação momento x grupo experimental.

Os resultados da Escala de Sintomas Somáticos – ESS, que avalia os sintomas físicos de ansiedade (sensação de ansiedade), foram analisados de duas formas: para a soma total dos itens utilizou-se análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas seguida por análise de contrastes caso fossem encontrados resultados significativos. Os itens individuais, por serem ordinais, foram submetidos a ANOVAs não-paramétricas para dados ordinais com medidas repetidas testando os efeitos de momento, grupo experimental, sexo e interações. Quando não eram encontrados efeitos de sexo, a análise era repetida excluindo a variável sexo do modelo.

Na ESS total (Figura 9), o SFP produziu efeitos significativos de interação momento x grupo experimental ($p=0,006$). A análise de contrastes revelou que nos pacientes o momento LBE é menor que ANT ($p<0,001$), DES ($p=0,011$), POS ($p<0,001$) e FIN (0,004). Para verificar se o jejum prolongado, sede ou vontade de urinar (devido à duração do experimento) estariam enviesando os escores totais na ESS procedeu-se uma análise item a item.

Em relação à análise dos itens individuais, cujos níveis de significância são apresentados na tabela 7, observa-se efeito de interação grupo x sexo x momento experimental apenas para o item 14 (Figura 22). No item 8 (Figura 16) observou-se efeito de interação grupo x sexo. Nos itens para os quais houve diferença de grupos (2, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13), observou-se que os pacientes apresentam médias mais altas (Figuras 10 a 14 e 17 a 21). Nos itens 7, 11 e 13 (Figuras 15, 19 e 21, respectivamente), observou-se efeitos de momento.

Escala de Sintomas Somáticos - Total

Figura 9 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público nos sintomas somáticos de ansiedade medidos pela ESS total em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta que houve efeito de interação momento experimental x grupo.

Tabela 7. – Níveis Descritivos Significativos (valores de p) dos itens da ESS.

Itens	2	3	4	5	6	7	8
Tempo x Grupo x Sexo							
Grupo x Sexo							0,018
Tempo						0,057*	
Grupo	0,028	0,018	0,001	0,006	0,028		
Itens	9	10	11	12	13	14	15
Tempo x Grupo x Sexo							0,044
Grupo x Sexo							
Tempo			0,043		0,005		
Grupo	0,001	0,019	0,003	0,009	<0,001		

OBS: * Tendência marginal

ESS - Item 2 - Fraco

Figura 10 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no Item 2 da Escala de Sintomas Somáticos em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA não-paramétrica de dados ordinais com medidas repetidas revelou apenas efeito de grupo experimental.

ESS - Item 3 - Lento

Figura 11 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no Item 3 da Escala de Sintomas Somáticos em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA não-paramétrica de dados ordinais com medidas repetidas revelou apenas efeito de grupo experimental.

ESS - Item 4 - Com dor ou peso na cabeça

Figura 12 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no Item 4 da Escala de Sintomas Somáticos em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA não-paramétrica de dados ordinais com medidas repetidas revelou apenas efeito de grupo experimental.

ESS - Item 5 - Com tensão muscular

Figura 13 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no Item 5 da Escala de Sintomas Somáticos em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA não-paramétrica de dados ordinais com medidas repetidas revelou apenas efeito de grupo experimental.

ESS - Item 6 - Com tremor

Figura 14 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no Item 6 da Escala de Sintomas Somáticos em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA não-paramétrica de dados ordinais com medidas repetidas revelou apenas efeito de grupo experimental.

No item 7 da ESS – Com fome, observou-se um efeito marginal de momento experimental. A análise de contrastes revelou que FIN foi significativamente mais alto que LBE ($p=0,002$), ANT ($p=0,021$), DES ($p=0,024$) e POS ($p=0,001$).

ESS - Item 7 - Com fome

Figura 15 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no Item 7 da Escala de Sintomas Somáticos em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA não-paramétrica de dados ordinais com medidas repetidas revelou apenas efeito marginal de momento experimental.

ESS - Item 8 - Com sede

Figura 16 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no Item 8 da Escala de Sintomas Somáticos em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA não-paramétrica de dados ordinais com medidas repetidas revelou efeito de interação grupo experimental x sexo.

ESS - Item 9 - Com dificuldade de coordenação

Figura 17 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no Item 9 da Escala de Sintomas Somáticos em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA não-paramétrica de dados ordinais com medidas repetidas revelou apenas efeito de grupo experimental.

ESS - Item 10 - Suando

Figura 18 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no Item 10 da Escala de Sintomas Somáticos em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA não-paramétrica de dados ordinais com medidas repetidas revelou apenas efeito de grupo experimental.

ESS - Item 11 - Com palpitação

Figura 19 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no Item 11 da Escala de Sintomas Somáticos em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA não-paramétrica de dados ordinais com medidas repetidas revelou efeitos de grupo e momento experimental.

ESS - Item 12 - Com dificuldade de respirar

Figura 20 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no Item 12 da Escala de Sintomas Somáticos em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA não-paramétrica de dados ordinais com medidas repetidas revelou apenas efeito de grupo experimental.

ESS - Item 13 - Agitado

Figura 21 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no Item 13 da Escala de Sintomas Somáticos em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA não-paramétrica de dados ordinais com medidas repetidas revelou efeitos de grupo e momento experimental.

ESS - Item 14 - Com vontade de urinar

Figura 22 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no Item 14 da Escala de Sintomas Somáticos em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA não-paramétrica de dados ordinais com medidas repetidas revelou efeito de interação momento x grupo experimental x sexo.

Como utilizamos a Escala Analógica Visual de Humor – VAMS em sua versão de 20 itens, optamos por não agrupar os itens em fatores como fazem diversos autores (Zuardi et al., 1993; Hetem et al., 1993; Palma et al., 1994; Hetem et al., 1996) e analisar os itens individualmente por análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas. Os itens 1, 2, 4, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 19 e 20 foram invertidos para que os adjetivos tivessem a mesma polaridade facilitando, assim, a interpretação dos resultados.

A análise individual da VAMS revelou várias diferenças significativas. O efeito de interação momento X grupo experimental foi significativo para os itens 1, 3, 4, 6, 7, 12, 16 e 20. O efeito principal de grupo foi observado nos itens 2, 9, e 13 e o efeito do momento experimental nos itens 2, 8, 10, 13 e 14. Efeito principal de sexo foi observado apenas para o item 18. Os níveis descritivos (valores de p) para cada um dos itens estão representados na Tabela 8. As Figuras 23 a 37 apresentam os gráficos desses resultados.

Tabela 8. – Níveis Descritivos significativos (valores de p) dos itens da VAMS

Itens	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tempo x Grupo	<0,001		<0,001	0,046		0,023	<0,001			
Tempo		<0,001						0,024		0,050
Grupo		0,022							<0,001	
Itens	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Tempo x Grupo		<0,001				0,002				0,032
Tempo			0,026	0,040						
Grupo			<0,001							
Sexo		0,024						0,007		

OBS.: A tabela apresenta apenas os itens que atingiram significância estatística ($p \leq 0,05$) na ANOVA para dados com medidas repetidas.

No item 1 da VAMS (Figura 23) a análise de contrastes mostrou que tanto nos voluntários quanto nos pacientes o momento LBE é menor que ANT ($p=0,021$; $p<0,001$; respectivamente), DES ($p=0,003$; $p<0,001$), POS ($p=0,004$; $p<0,001$) e FIN ($p=0,028$; $p<0,001$). Nos pacientes, a medida FIN foi menor que ANT ($p=0,020$), DES ($p<0,001$) e POS ($p=0,001$).

Figura 23 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no item 1 da VAMS em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta que houve efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação momento X grupo experimental.

No item 2 da VAMS (Figura 24), a análise de contrastes apontou que nos voluntários e nos pacientes o momento LBE é menor que ANT ($p=0,021$; $p<0,001$, respectivamente) e DES ($p=0,05$; $p=0,001$). Nos pacientes, a medida LBE também foi menor do que POS ($p<0,001$) e FIN foi menor que ANT ($p=0,009$) e POS ($p=0,006$).

VAMS Item 2: Calmo - Ansioso

Figura 24 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no item 2 da VAMS em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta que houve efeitos significativos ($p \leq 0,05$) do momento experimental e de grupo.

No item 3 da VAMS (Figura 25) a análise de contrastes apontou que apenas nos pacientes, o momento LBE é menor que ANT ($p=0,031$), DES ($p=0,001$) e POS ($p<0,001$); FIN é menor que ANT ($p=0,007$), DES ($p<0,001$) e POS ($p<0,001$).

VAMS Item 3: Mente Clara - Confuso

Figura 25 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no item 3 da VAMS em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação momento X grupo experimental.

No item 4 da VAMS (Figura 26) a análise de contrastes apontou que apenas nos pacientes o momento LBE é menor que ANT ($p=0,040$), DES ($p=0,002$) e POS ($p<0,001$), e FIN é menor que POS ($p=0,008$).

VAMS Item 4: Bem Coordenado - Desajeitado

Figura 26 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no item 4 da VAMS em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação momento X grupo experimental.

No item 6 da VAMS (Figura 27) a análise de contrastes apontou que, apenas nos pacientes LBE é menor que ANT, DES e POS ($p < 0,001$) e que FIN é menor que ANT ($p = 0,037$), DES ($p = 0,026$) e POS ($p = 0,004$).

VAMS Item 6: Tranquilo - Agitado

Figura 27 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no item 6 da VAMS em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação momento X grupo experimental.

No item 7 da VAMS (Figura 28) de acordo com a análise de contrastes, apenas nos pacientes LBE é menor que ANT, DES, POS ($p < 0,001$) e FIN ($p = 0,028$); além disso, POS é maior que ANT ($p = 0,021$) e FIN ($p < 0,001$) e FIN é menor que DES ($p = 0,013$).

VAMS Item 7: Concentração Fácil - Dificuldade de Concentração

Figura 28 - Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no item 7 da VAMS em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação momento X grupo experimental.

No item 8 da VAMS (Figura 29) a análise de contrastes mostrou que apenas nos pacientes LBE é menor que ANT ($p=0,015$), DES ($p=0,005$), POS ($p=0,004$) e FIN ($p=0,019$).

VAMS Item 8: Satisfeito - Insatisfeito

Figura 29 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no item 8 da VAMS em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de momento experimental.

No item 9 da VAMS (Figura 30) a análise de contrastes mostrou que os pacientes apresentam médias mais altas que os voluntários ($p < 0,001$).

VAMS Item 9: Indiferente - Preocupado

Figura 30 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no item 9 da VAMS em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de grupo experimental.

No item 10 da VAMS (Figura 31) a análise de contrastes mostrou que o momento LBE é menor que ANT ($p=0,022$) e FIN é menor que ANT ($p=0,019$) e DES ($p=0,048$).

Figura 31 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no item 10 da VAMS em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de momento experimental.

No item 12 da VAMS (Figura 32) a análise de contrastes apontou que nos voluntários LBE é menor que ANT ($p=0,015$). Nos pacientes, LBE é menor que ANT, DES e POS ($p < 0,001$). Além disso, ANT é menor que DES ($p=0,041$), POS ($p=0,029$) e FIN ($p=0,011$); FIN também foi menor que DES e POS ($p < 0,001$).

Figura 32 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no item 12 da VAMS em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação momento X grupo experimental.

No item 13 da VAMS (Figura 33) as médias dos pacientes foram mais altas do que a dos voluntários ($p < 0,001$). A análise de contrastes apontou que o momento LBE é menor que DES ($p = 0,013$), POS ($p = 0,009$) e FIN ($p = 0,007$).

VAMS Item 13: Calado - Falante

Figura 33 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no item 13 da VAMS em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de momento e de grupo experimental.

No item 14 da VAMS (Figura 34) a análise de contrastes mostrou que o momento FIN é menor que LBE ($p=0,034$) e ANT ($p=0,002$).

Figura 34 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no item 14 da VAMS em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de momento experimental.

No item 16 da VAMS (Figura 35) a análise de contrastes apontou que apenas nos pacientes LBE é menor que ANT ($p=0,028$), DES e POS ($p<0,001$) e de FIN ($p=0,018$). A medida DES também é maior que ANT ($p=0,002$) e FIN ($p=0,009$); ANT é menor que POS ($p=0,031$).

VAMS Item 16: Competente - Incompetente

Figura 35 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no item 16 da VAMS em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação momento X grupo experimental.

No item 18 da VAMS (Figura 36) as médias das mulheres foram mais altas que as dos homens.

VAMS Item 18: Amistoso - Hostil

Figura 36 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no item 18 da VAMS em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de sexo.

No item 20 da VAMS (Figura 37) a análise de contrastes apontou que apenas nos pacientes LBE é menor que ANT ($p=0,014$), DES e de POS ($p=0,002$); e FIN é menor que DES ($p=0,037$) e POS ($p=0,035$).

Figura 37 – Gráfico dos efeitos da exposição à simulação de falar em público no item 20 da VAMS em pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=19$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A análise de variância multivariada para dados com medidas repetidas aponta efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação momento X grupo experimental.

4.3.3 Níveis de Catecolaminas

Nos níveis de noradrenalina (Figura 38) foram observados efeitos significativos de interação grupo experimental x sexo ($p=0,004$) e momento experimental ($p=0,011$). Nos pacientes a análise de contrastes revelou que as médias do sexo masculino foram maiores do que as do sexo feminino. Em relação à variação ao longo do experimento, os contrastes revelam que o momento DES é maior que LBE ($p=0,027$) e FIN ($p=0,004$). As dosagens de todos os sujeitos permaneceram dentro dos valores de referência aceitos para a população brasileira adulta, sangue colhido na posição deitada (112 a 658 pg/mL).

Noradrenalina Plasmática

Figura 38 – Efeitos da exposição à simulação de falar em público nos níveis plasmáticos de noradrenalina (pg/mL), dosada por cromatografia líquida de alta pressão com detecção eletroquímica, em pacientes com fobia social ($n=12$) e controles ($n=18$) na posição deitada. Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas demonstrou efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação sexo x grupo e do momento experimental.

Embora as dosagens de adrenalina em sangue periférico de todos os sujeitos tenham permanecido dentro dos valores de referência aceitos para a população brasileira adulta, sangue colhido na posição deitada (inferior a 50 pg/mL), observamos níveis indetectáveis (abaixo de 12,5 pg/mL) em 56% das amostras. Para essas amostras, adotou-se o valor do limite inferior de detecção como resultado corrigido.

Observou-se efeitos significativos da interação grupo x sexo ($p=0,040$) e do momento experimental ($p=0,032$) nos níveis de adrenalina (Figura 39). A análise de contrastes mostrou que nos voluntários de sexo masculino os níveis em LBE são menores do que em DES ($p=0,016$) e FIN ($p<0,001$).

Adrenalina Plasmática

Figura 39 – Efeitos da exposição à simulação de falar em público nos níveis plasmáticos de adrenalina (pg/mL), dosada por cromatografia líquida de alta pressão com detecção eletroquímica, em pacientes com fobia social (n=12) e controles (n=18). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, no mesmo horário (9:00 a.m.), na posição deitada. Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas demonstrou efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação sexo x grupo e do momento experimental.

Embora a dopamina plasmática tenha sido dosada, seus níveis foram indetectáveis em 100% das amostras.

4.3.4 Níveis Hormonais

Os níveis de ACTH plasmático (Figura 40) não apresentaram significância para distinção entre pacientes e voluntários (grupo), porém mostraram efeitos significativos de sexo ($p < 0,001$) e momento experimental ($p < 0,001$). Observou-se efeitos marginais de interação grupo x momento experimental ($p = 0,051$) e momento experimental x sexo ($p = 0,057$). A análise de contrastes apontou que o sexo masculino apresentou

médias significativamente mais altas que o feminino e que os níveis no momento DES foram significativamente mais altos do que em LBE ($p<0,001$) e FIN ($p<0,001$). Todos os sujeitos apresentaram níveis dentro dos valores de referência (de 10 a 60 pg/mL) para a população brasileira adulta, em condições basais, entre as 7:00 e 10:00 da manhã.

Figura 40 - Efeitos da exposição à simulação de falar em público nos níveis plasmáticos de ACTH (pg/mL), dosado por ensaio imunoquimioluminométrico, em pacientes com fobia social ($n=11$) e controles ($n=18$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas demonstrou efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de sexo e de momento experimental.

Os níveis de cortisol plasmático (Figura 41) não foram significativamente diferentes entre os grupos, nem entre os sexos, apresentando significância apenas para efeitos do momento experimental ($p=0,009$). Observou-se um aumento significativo nos níveis de cortisol plasmático durante o SFP (momento DES) em relação aos níveis basais em LBE ($p=0,002$). Os níveis plasmáticos de cortisol retornaram a níveis próximos aos basais (não há diferenças significativas entre o momento LBE e FIN), ao fim do procedimento.

Figura 41 - Efeitos da exposição à simulação de falar em público nos níveis plasmáticos de cortisol ($\mu\text{g/dL}$), dosado por cromatografia líquida de alta pressão, em pacientes com fobia social ($n=10$) e controles ($n=18$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas demonstrou apenas efeitos significativos ($p \leq 0,05$) do momento experimental.

4.3.5 Variáveis Imunes

4.3.5.1 Celulares

Os dados indicam que o procedimento experimental foi um estímulo de intensidade e duração suficiente para produzir alterações significativas nas porcentagens de algumas subpopulações celulares imunes circulantes no sangue periférico. Parte das alterações manifestaram-se como aumento percentual e outras como redução. Todos os sujeitos apresentaram contagens e porcentagens de células circulantes dentro dos valores de referência para a população brasileira adulta. Em média, as alterações foram mais marcantes nos sujeitos do sexo masculino do que feminino e retornaram a níveis médios próximos aos basais ao fim do experimento.

Observou-se efeitos significativos da interação momento experimental x grupo x sexo ($p=0,039$) na porcentagem de linfócitos B (CD 19⁺) circulantes no sangue periférico (Figura 42). Sujeitos do sexo masculino e pacientes do sexo feminino apresentaram redução na porcentagem de linfócitos B circulantes no momento DES, o que não foi observado em voluntárias do sexo feminino. A análise de contrastes revelou que para pacientes do sexo masculino o momento DES é menor que FIN ($p=0,016$). Para voluntários do sexo masculino, DES é menor que LBE ($p<0,001$) e FIN ($p=0,001$). Para pacientes do sexo feminino, LBE é maior que DES ($p=0,012$) e FIN ($p=0,047$).

Figura 42 - Efeitos da exposição à simulação de falar em público nas porcentagens de linfócitos B CD19⁺ circulantes no sangue periférico de pacientes com fobia social ($n=10$) e controles ($n=18$). Imunofenotipagem realizada por citometria de fluxo. Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas demonstrou efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação momento experimental x grupo x sexo.

A análise de variância para dados com medidas repetidas mostrou que para os linfócitos T (CD 3⁺) o SFP produziu efeitos significativos de interação momento experimental x sexo ($p=0,003$) com redução na porcentagem de

células CD3⁺ circulantes durante o procedimento, especialmente no sexo masculino (Figura 43). Os contrastes apontaram que nos sujeitos do sexo masculino o momento DES é menor que LBE e FIN ($p<0,001$). Nos sujeitos do sexo feminino, DES é menor que FIN ($p=0,046$), mas não é diferente de LBE. As reduções nas porcentagens de células CD3⁺ circulantes são maiores no sexo masculino do que no feminino.

Figura 43 – Efeitos da exposição à simulação de falar em público nas porcentagens de linfócitos T CD3⁺ circulantes no sangue periférico de pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=18$). Imunofenotipagem realizada por citometria de fluxo. Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas demonstrou efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação momento x sexo.

A porcentagem de linfócitos T Helper CD4⁺ (Figura 44) circulantes no sangue periférico foi afetada significativamente pelo SFP sofrendo efeito de interação momento x sexo ($p=0,013$), o que provocou uma redução na porcentagem de células circulantes no momento DES. A análise de contrastes revelou que no sexo feminino o momento DES é menor que LBE ($p<0,001$) e que FIN ($p=0,004$). Para o sexo masculino DES também é menor que LBE e FIN ($p<0,001$). Observa-se, no entanto, que há um comportamento

aparentemente inverso dos grupos em função do sexo. No sexo feminino as médias das voluntárias são mais altas e apresentam menor variação (em relação a LBE) do que as médias de pacientes. No sexo masculino, pacientes apresentam médias mais altas e voluntários apresentam os maiores decréscimos médios em DES, comparados a LBE.

Figura 44 – Efeitos da exposição à simulação de falar em público nas porcentagens de linfócitos T CD4⁺ circulantes no sangue periférico de pacientes com fobia social (n=12) e controles (n=18). Imunofenotipagem realizada por citometria de fluxo. Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas demonstrou efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação momento experimental x sexo.

A porcentagem de linfócitos T CD8⁺ (Figura 45) não sofreu efeitos significativos de grupo, sexo ou momento experimental.

Linfócitos T CD8+

Figura 45 – Efeitos da exposição à simulação de falar em público nas porcentagens de linfócitos T CD8+ circulantes no sangue periférico de pacientes com fobia social ($n=13$) e controles ($n=18$). Imunofenotipagem realizada por citometria de fluxo. Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas não demonstrou efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de grupo, momento experimental ou sexo.

A relação entre $CD4^+/CD8^+$ (Figura 46) apresentou significância apenas para o momento experimental ($p < 0,001$). Os contrastes revelaram que os valores em DES são menores que em LBE ($p = 0,019$) e em FIN ($p = 0,049$). Observa-se que as alterações na relação entre $CD4/CD8$ refletem principalmente as alterações de $CD4$, uma vez que não foram observadas alterações significativas em $CD8$. Embora não tenha atingido significância estatística, observa-se um comportamento inverso dos grupos em função do sexo dos sujeitos, com pacientes apresentando médias mais altas no sexo masculino e voluntários apresentando médias mais altas no sexo feminino. A queda (não significativa) na taxa média de DES em relação a LBE (e FIN) é maior no sexo masculino.

Relação entre Linfócitos T CD4⁺/CD8⁺

Figura 46 – Efeitos da exposição à simulação de falar em público nas taxa de linfócitos T CD4⁺/CD8⁺ circulantes no sangue periférico de pacientes com fobia social (n=12) e controles (n=18). Imunofenotipagem realizada por citometria de fluxo. Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas demonstrou efeitos significativos ($p \leq 0,05$) do momento experimental.

A porcentagem de células NK (CD56⁺) circulantes no sangue periférico (Figura 47) mostrou efeitos significativos de interação momento experimental x sexo ($p < 0,001$). A análise de contrastes revelou que tanto no sexo feminino quanto no masculino as porcentagens de células circulantes no momento DES são maiores que em LBE ($p = 0,004$; $p < 0,001$, respectivamente) e que em FIN ($p = 0,020$; $p < 0,001$). Mais uma vez observa-se maior variação em relação ao LBE em homens do que em mulheres e um comportamento inverso dos grupos em função do sexo.

Avaliou-se também a atividade citotóxica *in vitro* da sub-população de células NK. Não foram observadas alterações significativas em função do grupo, sexo ou momento experimental nessa variável.

Células NK - CD 56+

Figura 47 – Efeitos da exposição à simulação de falar em público na porcentagem de células NK CD56⁺ circulantes no sangue periférico de pacientes com fobia social (n=12) e controles (n=18). Imunofenotipagem realizada por citometria de fluxo. Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas demonstrou efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação momento experimental x sexo.

Nas demais contagens de populações leucocitárias (neutrófilos, eosinófilos, basófilos) não foram observados efeitos de momento experimental, sexo ou grupo. Realizou-se ainda testes da atividade citotóxica *in vitro* de neutrófilos, mas também não foram observados efeitos significativos de momento, grupo ou sexo. Em virtude do tamanho reduzido da amostra não foi possível tirar conclusões acerca dos resultados dessa análise.

4.3.5.2 Humorais

O procedimento de SFP parece ter sido pouco eficiente em produzir alterações humorais nos parâmetros monitorados. Dentre as variáveis que avaliam os níveis séricos das proteínas do sistema imune e de fase aguda:

complemento C3c, complemento C4, imunoglobulinas A, D, G, E e M, haptoglobina, β -2-microglobulina e α -1-antitripsina, observou-se efeito significativo em apenas duas variáveis. Os níveis séricos do Complemento C3c (Figura 48) apresentaram efeito de grupo ($p=0,033$), sendo que os pacientes apresentaram médias mais altas que os voluntários. Nos níveis séricos de alfa-1-antitripsina (Figura 49) houve efeito de interação grupo x sexo ($p=0,028$). Apenas no sexo masculino houve diferenças significativas entre os grupos ($p=0,025$), com pacientes apresentando médias mais elevadas que controles.

Dentre os testes de ELISA realizados nas culturas de 24 e 48 horas para investigar a presença de 4 citocinas (Interferon- γ , IL-13, IL-10 e IL-2) no sangue periférico, apenas o Interferon- γ (Figura 50), na cultura de 24 horas, apresentou níveis detectáveis, assim mesmo, só para alguns poucos sujeitos. A ANOVA revelou efeitos significativos de interação momento x grupo experimental x sexo ($p=0,027$).

Figura 48 – Efeitos da exposição à simulação de falar em público nos níveis séricos do Complemento C3c, dosados por nefelometria, no sangue periférico de pacientes com fobia social ($n=12$) e controles ($n=18$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas apenas demonstrou efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de grupo.

Figura 49 – Efeitos da exposição à simulação de falar em público nos níveis séricos de α -1-antitripsina, dosados por nefelometria, no sangue periférico de pacientes com fobia social ($n=12$) e controles ($n=18$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas demonstrou efeitos significativos ($p \leq 0,05$) interação grupo x sexo.

A análise de contrastes apontou que apenas os pacientes do sexo masculino apresentam níveis mais altos em DES do que em LBE e FIN ($p < 0,001$). Entretanto, os níveis detectáveis estiveram abaixo dos níveis relatados em outros estudos semelhantes. A análise de novas alíquotas do mesmo material registrou níveis indetectáveis para todos os sujeitos, em todos os momentos, para todas as citocinas testadas, o que sugere que pode ter havido degradação do material ou falha no processamento das amostras.

ELISA - Culturas de sangue total de 24h - Interferon Gama

Figura 50 – Efeitos da exposição à simulação de falar em público nos níveis de Interferon- γ (pg/mL) em sobrenadante de cultura de sangue periférico total de pacientes com fobia social ($n=12$) e controles ($n=14$), dosado por ELISA, em culturas de 24 horas de LPS ($30 \text{ ng}/\mu\text{L}$). Todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento, no mesmo horário (9:00 a.m.). Os símbolos indicam as médias (± 2 EPM). A ANOVA para dados com medidas repetidas demonstrou efeitos significativos ($p \leq 0,05$) de interação momento $\times$ grupo experimental $\times$ sexo. No sexo masculino o momento DES é significativamente mais alto que LBE e FIN.

4.3.5.3 RT-PCR de Citocinas

Foi realizado RT-PCR para verificação da produção de citocinas nas amostras de células mononucleares de sangue periférico. As citocinas investigadas foram IL-1- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, IFN- γ , e TNF- α .

O procedimento de RT-PCR qualitativo revelou a expressão de mRNA para IL-6 em células mononucleares de sangue periférico nos 3 momentos do experimento, independentemente do grupo (Figuras 51 a 53). As demais citocinas não foram detectadas.

Figura 51 – Foto (negativo) RT-PCR de citocinas em gel de agarose a 1,5%, momento LBE. Amostras testadas para HPRT, IL-1- α , IL-2, IL-4, IL-10, IL-13, IFN- γ , e TNF- α . Observa-se apenas a presença de uma banda de 246bp (seta azul) que corresponde ao tamanho da sequência de IL-6.

Figura 52 - Foto (negativo) RT-PCR de citocinas em gel de agarose a 1,5%, momento DES. Amostras testadas para HPRT, IL-1- α , IL-2, IL-4, IL-10, IL-13, IFN- γ , e TNF- α . Observa-se a presença de uma banda de 246bp (seta azul) que corresponde ao tamanho da sequência de IL-6 e uma banda de 557bp (seta verde) que corresponde ao tamanho de banda para a sequência de HPRT. As demais bandas observadas não correspondem a nenhuma das citocinas testadas.

Figura 53 – Foto (negativo) RT-PCR de citocinas em gel de agarose a 1,5%, momento FIN. Amostras testadas para HPRT, IL-1- α , IL-2, IL-4, IL-10, IL-13, IFN- γ , e TNF- α . Observa-se a presença de uma banda de 246bp (seta azul) que corresponde ao tamanho da sequência de IL-6.

Realizou-se a extração do mRNA em dois momentos. No primeiro utilizou-se parte das amostras e observou-se a presença de IL-6, além do controle positivo hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase (HPRT). No segundo momento repetiu-se a extração das amostras anteriormente analisadas (novas alíquotas) e incluiu-se novas amostras. Nesse segundo

momento o controle positivo HPRT não foi mais identificado em nenhuma das amostras, embora IL-6 tenha sido detectável.

As tabelas 9 e 10 apresentam, respectivamente, os dados dos sujeitos experimentais que apresentaram respostas positivas para HPRT e IL-6. Em virtude de serem dados qualitativos realizou-se apenas uma análise descritiva com as porcentagens de resposta por grupo.

Tabela 9.- *N (número de sujeitos) e porcentagens de respostas positivas para HPRT por momento do experimento*

		LBE		DES		FIN		Total
GRUPO		Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	
Voluntário	N	9	1	6	4	7	3	10
	%	90%	10%	60%	40%	70%	30%	
Paciente	N	7	3	7	3	5	5	10
	%	70%	30%	70%	30%	50%	50%	

Tabela 10. – *N (número de sujeitos) e porcentagens de respostas positivas para IL-6 por momento do experimento*

		LBE		DES		FIN		Total
GRUPO		Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	
Voluntário	N	6	4	4	6	4	6	10
	%	60%	40%	40%	60%	40%	60%	
Paciente	N	3	7	5	5	2	8	10
	%	30%	70%	50%	50%	20%	80%	

4.4 Análise Fatorial

As escalas submetidas à análise fatorial foram TCI, Coping e ANA. A análise fatorial do TCI revelou alta consistência interna entre os subfatores e fatores originais, portanto, foram mantidos os subfatores que atingiram significância na ANOVA. Na Escala de Coping, como apenas o fator 1 (confronto) havia atingido significância na ANOVA, optou-se por considerar apenas esse fator na análise.

A análise fatorial dos itens da escala ANA revelou que os itens poderiam ser agrupados em 4 fatores, apresentados na Tabela 11. Os itens 1 a 7 – como geralmente se sente falando em público; 11 e 12 – desconforto e

difficuldade de concentração durante o experimento poderiam ser grupados em um mesmo fator (denominado F1). Já os demais (como se sentiu no experimento – itens 8 a 10 e 13 a 15), embora estivessem distribuídos em 3 outros fatores, poderiam ser agrupados em outro fator (F2).

Tabela 11. – Componentes da variância para a escala ANA

Componentes		Extraction Sums of Squared Loadings			Rotation Sums of Squared Loadings		
		Total	% da Variância	Cumulat. %	Total	% da Variância	Cumulat. %
1 - (itens 1 a 7, 11 e 12)	Fator 1	8,185	54,570	54,570	5,524	36,824	36,824
2 - (itens 8, 9 e 13)		1,591	10,607	65,177	2,479	16,524	53,347
3 - (item 15)	Fator 2	1,323	8,823	73,999	2,223	14,817	68,164
4 - (itens 10 e 14)		1,175	7,831	81,830	2,050	13,666	81,830

Método de extração: Análise dos componentes principais. Método de rotação: Varimax com normalização Kaiser.

4.5 Análise discriminante para grupos

Para testarmos quais características psicológicas (ou combinação delas) melhor discriminariam o grupo de pacientes com fobia social do grupo de controles foi realizada uma análise discriminante por meio de regressão logística, utilizando o método stepwise. As variáveis candidatas foram os fatores da escala TCI (tabela 3) e demais escalas que atingiram significância estatística na ANOVA (tabela 4) além dos dois fatores da ANA originados da análise fatorial.

Os resultados da análise de regressão apontaram que a variável HAT (Esquiva ao Dano - Total), do TCI (Inventário de Personalidade de Cloninger), é a que melhor discrimina os dois grupos, com concordância de 95,1% e área sob a curva ROC de 0,960 (Figura 54). Para um ponto de corte de 17, a sensibilidade (proporção de casos positivos identificados corretamente) é de 92,3% e a especificidade (proporção de casos negativos identificados corretamente) é de 94,7%.

Figura 54 – Gráfico da curva ROC para o fator Esquiva ao Dano - Total do TCI. O fator Esquiva ao Dano Total da Escala TCI é a soma dos escores de 4 subfatores: preocupação antecipatória, medo da incerteza, timidez, fadigabilidade e astenia. Para um ponto de corte de 17 a sensibilidade é de 92,3% e a especificidade é de 94,7%. Área sob a curva ROC= 0,96.

4.6 Análises de regressão múltipla

As variáveis explicativas selecionadas (itens das escalas que apresentaram significância estatística para distinção dos grupos na ANOVA - tabelas 3 e 4 - e os itens da escala ANA agrupados em dois fatores (F1 e F2) foram utilizadas também para realização de análises de regressão pelo método stepwise, ajustando por grupo, sexo e pelo valor em LBE.

Os resultados da análise de regressão revelaram diversas correlações significativas, apresentadas abaixo.

Dentre os subfatores relevantes do fator esquiva ao dano - TCI, os que apresentaram-se associados às variáveis psicofisiológicas, hormonais e imunes na análise de regressão múltipla foram: HA2 (medo da incerteza x confiança), HA3 (timidez x sociabilidade) e HA4 (fadigabilidade e astenia x vigor).

A variável “confiança” (HA2) mostrou-se positivamente associada à variação durante o experimento em: proteínas de fase aguda C4 ($p < 0,001$; $r^2_{\text{parcial}} = 0,412$); α -1-antitripsina ($p = 0,012$; $r^2_{\text{parcial}} = 0,252$); e variação nas porcentagens de linfócitos totais ($p = 0,007$; $r^2_{\text{parcial}} = 0,168$) e T CD4

($p=0,045$; $r^2_{\text{parcial}}=0,062$). A associação foi negativa com a variação no item 1 da VAMS - alerta ($p=0,025$; $r^2_{\text{parcial}}=0,049$), e com a variação nas porcentagens de leucócitos ($p=0,007$; $r^2_{\text{parcial}}=0,232$).

A variável "sociabilidade" (HA3) mostrou-se negativamente associada à variação, durante o experimento, nos níveis de noradrenalina ($p=0,044$; $r^2_{\text{parcial}}=0,121$) e à variação nas porcentagens de eosinófilos ($p=0,002$; $r^2_{\text{parcial}}=0,316$).

A variável "vigor" (HA4) mostrou-se positivamente associada à variação, durante o experimento, no item 3 da VAMS - confuso ($p=0,047$; $r^2_{\text{parcial}}=0,093$) e à variação nos níveis de complemento C4 ($p=0,041$; $r^2_{\text{parcial}}=0,086$). "Vigor" mostrou-se negativamente associada ao item 16 da VAMS - incompetente ($p=0,017$; $r^2_{\text{parcial}}=0,097$).

O subfator "independência" da variável dependência gratificação da TCI - RD4 mostrou-se positivamente associado à variação da PAS ($p=0,013$; $r^2_{\text{parcial}}=0,233$), mas negativamente associado à variação da atividade citotóxica de células NK ($p=0,005$; $r^2_{\text{parcial}}=0,282$) e à variação nos níveis de Complemento C3c ($p=0,001$; $r^2_{\text{parcial}}=0,320$).

O subfator "apatia" da variável autodirecionamento da TCI - SD3 mostrou-se positivamente associado à variação nos níveis de Complementos C3c ($p=0,039$; $r^2_{\text{parcial}}=0,091$) e C4 ($p=0,032$; $r^2_{\text{parcial}}=0,113$) e à variação nas porcentagens de eosinófilos ($p=0,032$; $r^2_{\text{parcial}}=0,125$), mas negativamente associado à variação na porcentagem de linfócitos T CD4 ($p=0,028$; $r^2_{\text{parcial}}=0,089$).

A variável afeto positivo da escala PANAS mostrou-se negativamente associada à variação na porcentagem de linfócitos T CD4 ($p=0,047$; $r^2_{\text{parcial}}=0,056$), à variação nos escores dos itens da VAMS: 3 - confuso ($p=0,024$; $r^2_{\text{parcial}}=0,143$) e 7 - dificuldade de concentração ($p=0,028$; $r^2_{\text{parcial}}=0,097$); e positivamente associada à variação dos escores dos itens da VAMS: 4 - desajeitado ($p=0,011$; $r^2_{\text{parcial}}=0,108$) e 16 - incompetente ($p=0,034$; $r^2_{\text{parcial}}=0,094$).

A variável afeto negativo da escala PANAS mostrou-se associada à variação nos escores do item 17 da VAMS - deprimido ($p=0,009$; $r^2_{\text{parcial}}=0,234$), e negativamente à variação em BPM ($p=0,022$; $r^2_{\text{parcial}}=0,111$), à variação na atividade citotóxica de células NK ($p=0,031$; $r^2_{\text{parcial}}=0,100$) e à variação nos níveis de interferon-gama ($p=0,004$; $r^2_{\text{parcial}}=0,182$).

O IDATE-traço mostrou-se positivamente associado à variação na porcentagem de linfócitos T CD4 ($p=0,042$; $r^2_{\text{parcial}}=0,050$).

O Inventário de Depressão de Beck mostrou-se positivamente associado aos níveis de interferon-gama ($p=0,011$; $r^2_{\text{parcial}}=0,205$) e negativamente associado à variação no item 2 da VAMS - ansioso ($p=0,013$; $r^2_{\text{parcial}}=0,135$).

A PSS mostrou-se negativamente associada à variação nos escores do item 5 da VAMS - triste ($p=0,018$; $r^2_{\text{parcial}}=0,163$) e à variação nos níveis de noradrenalina ($p=0,012$; $r^2_{\text{parcial}}=0,227$).

Na Escala de Coping, o fator 1 – confronto – mostrou-se positivamente associado ao item 9 da VAMS - preocupado ($p=0,009$) e à variação na porcentagem de leucócitos ($p=0,012$; $r^2_{\text{parcial}}=0,156$). O fator 6 – Fuga e Esquiva – mostrou-se positivamente associado ao item 1 da VAMS - alerta ($p=0,021$; $r^2_{\text{parcial}}=0,064$) e negativamente à variação na PAD ($p=0,031$; $r^2_{\text{parcial}}=0,158$).

Na Escala Analógica de Avaliação do Experimento (ANA) o fator 1, mostrou-se negativamente associado à variação nos itens da VAMS: 12 - excitado ($p=0,011$; $r^2_{\text{parcial}}=0,109$), 20 - retraído ($p=0,021$; $r^2_{\text{parcial}}=0,139$) e à variação na porcentagem de linfócitos totais (CD3) ($p=0,023$; $r^2_{\text{parcial}}=0,096$); O fator 1 mostrou-se positivamente associado à variação nos escores totais da ESS ($p=0,025$; $r^2_{\text{parcial}}=0,149$), IDATE-E ($p=0,003$; $r^2_{\text{parcial}}=0,219$), e variação nas porcentagens de monócitos ($p=0,020$; $r^2_{\text{parcial}}=0,163$).

Ainda na Escala Analógica de Avaliação do Experimento (ANA) o fator 2 foi negativamente associado à variação nos escores da ESS total

($p=0,015$; $r^2_{\text{parcial}}=0,143$) e à variação na porcentagem de linfócitos T CD4 ($p=0,016$; $r^2_{\text{parcial}}=0,180$) e de linfócitos B ($p=0,049$; $r^2_{\text{parcial}}=0,105$); e positivamente associado à variação na porcentagem de células NK ($p=0,009$; $r^2_{\text{parcial}}=0,166$).

4.7 Análise de correlação para as variações entre os momentos do experimento (DES-LBE)

Com o objetivo de testar duas a duas as variações nas seguintes variáveis: PAS, BPM, cortisol, ACTH, noradrenalina, linfócitos T CD4, células NK, Linfócitos B e relação entre linfócitos TCD4/CD8 realizou-se análises de correlação de Pearson, ajustando por grupo, sexo e grupo x sexo.

Apenas atingiram significância estatística as seguintes correlações entre pares: a variação de cortisol mostrou-se positivamente correlacionada à variação de ACTH ($r=0,636$ e $p=0,001$), ajustadas por sexo, grupo e sexo x grupo. A variação nas porcentagens de linfócitos T CD4+ mostrou-se negativamente correlacionada à variação nas porcentagens de células NK ($r=0,649$; $p<0,001$) e positivamente correlacionada à variação na relação entre linfócitos T CD4/CD8 ($r=0,696$; $p<0,001$); ajustadas por sexo, grupo e sexo x grupo. A variação nas porcentagens de células NK também mostrou-se negativamente correlacionada à variação nas porcentagens de linfócitos B ($r=0,428$; $p=0,025$), ajustadas por sexo, grupo e sexo x grupo.

Testou-se ainda por análise de regressão (stepwise) a correlação entre a variação em PA sistólica (DES-LBE) e os níveis basais (LBE) das variáveis imunes e hormonais (CD4, CD56, CD19, relação CD4/CD8, cortisol, ACTH, e noradrenalina) e a associação entre a variação de batimentos e os níveis basais das variáveis imunes, considerando grupo, sexo e grupo x sexo. Observou-se uma associação positiva ($p=0,041$) entre a variação na PAS e a contagem basal de linfócitos T CD4+ ($p=0,041$; $r^2_{\text{parcial}}=0,172$); observou-se também uma associação negativa entre a variação nos batimentos e o nível basal de cortisol dos sujeitos ($p=0,040$; $r^2_{\text{parcial}}=0,152$).

5 Discussão

É conhecida a grande complexidade no estudo de variáveis imunológicas e sua correlação com situações ligadas ao estresse, tanto pelas dificuldades metodológicas inerentes às próprias variáveis, quanto pelo controle das situações experimentais.

Diversas questões de ordem técnica, tais como o tamanho reduzido da amostra, podem ter limitado a magnitude dos efeitos ora observados. Neste estudo, o tamanho reduzido da amostra foi ocasionado por um critério estrito adotado na seleção dos sujeitos: o cuidado com a exclusão de doenças inflamatórias e auto-imunes que pudessem interferir nos parâmetros avaliados e, do ponto de vista psiquiátrico, a exclusão de diagnósticos comórbidos. A limitação na extrapolação dos dados é uma consequência inevitável, uma vez que uma amostra com tais características não é totalmente representativa da população de indivíduos com fobia social. Por outro lado, por se tratar de uma população pouco estudada sob o ponto de vista psiconeuroimunológico, é importante procurar aumentar a homogeneidade da amostra na tentativa de minimizar a interferência de variáveis intervenientes. A diferença nos números de sujeitos em cada grupo prejudicou o pareamento dos mesmos, contudo não se observou diferenças significativas entre os grupos, ou sexos, quanto às variáveis sócio-demográficas.

A despeito da falta de pareamento por sexo, algumas variáveis sofreram efeito de gênero. São de particular importância as influências do sexo sobre variáveis hormonais e imunes. Em relação às mulheres, especificamente, apenas cerca de 25% da amostra fazia uso de anticoncepcionais e a maioria foi testada na fase lútea do ciclo (onde há predomínio da secreção de progesterona e, em menor grau, de estradiol). Rohleder et al. (2001) observaram que, embora ocorram variações nas respostas aos glicocorticóides em função da fase do ciclo, a reatividade do eixo HPA ao estresse psicológico em mulheres na fase lútea é semelhante à reatividade de homens. Sendo assim, acreditamos termos obtido um perfil hormonal um pouco menos heterogêneo, minimizando suas influências sobre a reatividade do eixo HPA nas mulheres testadas.

Os resultados obtidos indicam que o modelo experimental, o teste de simulação de falar em público, foi eficiente para induzir manifestações nos sujeitos experimentais de intensidade e duração detectáveis em diversos parâmetros psicofisiológicos, hormonais e imunes, tanto celulares quanto humorais, afetando diferentemente indivíduos com fobia social e controles.

O objetivo da utilização de diversas escalas e inventários foi o de aumentar o escopo de investigação de características psicológicas particulares nos indivíduos com fobia social que os distingam dos controles e que expliquem as alterações encontradas. Para isso, realizaram-se diversas análises empregando métodos diferentes com o propósito de compor um painel que fornecesse informações complementares sempre que possível. Os resultados estão, em geral, de acordo com a literatura e indicam que algumas características psicológicas e comportamentais particulares podem ser utilizadas como preditores de respostas fisiológicas elevadas frente o estresse.

Considerados conjuntamente, os dados das escalas de avaliação indicam que, do ponto de vista psicológico, como esperado, há uma diferença estável entre os perfis dos grupos. Dentre as diferenças, destaca-se o padrão de comportamento frente a situações potencialmente ameaçadoras ao longo de sua vida.

O TCI (Inventário de Temperamento e Caráter de Cloninger), construído a partir de um modelo de personalidade psicobiológico de 7 fatores, desenvolvido por Cloninger; Svrakic; Przybeck (1993), busca integrar em um instrumento os aspectos de temperamento (englobando traços de determinação hereditária, e portanto apenas parcialmente afetados pelo ambiente), e de caráter (moldáveis a partir de aprendizagem propiciada pela interação com o ambiente ao longo do desenvolvimento) (FUENTES et al., 2000).

Dentre os traços de temperamento avaliados pelo TCI observou-se que apenas 1 dos 7 fatores (fator esquiva ao dano) teve todos os seus subfatores atingindo significância estatística para distinção entre os grupos.

O fator esquiva ao dano, descrito como “tendência hereditária a inibir ou cessar comportamentos perante sinais de estímulos aversivos, a fim de evitar punição” (CLONINGER; SVRAKIC; PRZYBECK, 1993) é composto por 4 subfatores: preocupação antecipatória x otimismo, medo da incerteza x confiança, timidez x sociabilidade e fadigabilidade e astenia x vigor. Os resultados indicam importantes comportamentos de esquiva associados a expectativas pessimistas e desgaste emocional precoce frente a situações potencialmente danosas. Aparentemente, os sujeitos com fobia social interpretam que o dano pode não ser potencial ou remoto, mas sim inevitável e iminente.

No fator dependência de gratificação – “tendência hereditária a persistir em responder de maneira intensa a sinais de recompensa, visando à obtenção de prêmio” (CLONINGER; SVRAKIC; PRZYBECK, 1993) apenas o subfator dependência x independência atingiu significância. Esse resultado evidencia que para fóbicos sociais há uma necessidade aumentada de recompensas mais intensas e/ou freqüentes.

Dentre os fatores de caráter destaca-se apenas 1 subfator que atingiu significância estatística, com efeito de interação grupo experimental x sexo, o subfator aceitação espiritual x materialismo do fator auto-trancendência. Esse fator é definido como “identificação de si mesmo como uma parte integrante da unidade de todas as coisas, de um todo interdependente” (CLONINGER; SVRAKIC; PRZYBECK, 1993). Mulheres voluntárias têm escores mais altos para materialismo. Em seguida vêm os escores dos homens com fobia social, mulheres com fobia social, sendo os escores mais baixos encontrados entre controles homens. Isso pode representar uma limitação tanto na busca de estratégias alternativas de apoio quanto na expansão da rede de contatos sociais geralmente associadas a grupos religiosos.

Os dados do TCI indicam que a população de indivíduos com fobia social distingue-se da população de controles pelas seguintes características: traços de uma estrutura hereditária de temperamento mais esquiva e retraída - marcada por preocupação antecipatória, insegurança, timidez e fadigabilidade – baixa tolerância à frustração e dependência constante e intensa de gratificações

externas. Em termos de caráter, o que se pode observar dentre os indivíduos com fobia social é um maior materialismo nos homens do que nas mulheres, expresso pelos escores no subfator aceitação espiritual do TCI. De acordo com estes traços haveria nos indivíduos com fobia social uma retração, com pouca exposição a situações consideradas de risco e conseqüente limitação do repertório de relacionamento social, retroalimentando a patologia. A análise discriminante confirma essa diferença estável de temperamento entre os grupos por meio dos altos índices de especificidade (proporção de casos negativos identificados corretamente) e sensibilidade (proporção de casos positivos identificados corretamente) para o fator esquia ao dano. Escores acima de 17 no fator esquia ao dano são fortes indicadores de um temperamento esquivo, que pode estar associado à fobia social.

Alguns estudos confirmam a associação entre fobia social e o temperamento esquivo. O traço de personalidade mais proeminente encontrado em fóbicos sociais, com ou sem a presença de transtorno evitativo de personalidade, é a esquia ao dano (MARTEINSDOTTIR et al.; 2003). Em uma amostra de 178 fóbicos sociais com ou sem depressão, foram observados escores elevados para esquia ao dano, além de escores mais baixos em auto-direcionamento (PÉLISSOLO et al.; 2002). Em uma população de 120 pacientes com transtornos ansiosos e afetivos, a dimensão de temperamento relevante para distinção entre os pacientes e controles foi a esquia ao dano (BALL; SMOLIN; SHEKHAR, 2002). A gravidade da doença e a presença de transtornos depressivos comórbidos contribuíram independentemente para os escores de esquia ao dano. Os dados parecem indicar que o traço de temperamento esquivo, apesar de presente na fobia social, não é característica exclusiva da patologia, mas sim de transtornos ansiosos e afetivos em geral.

Achados de alguns estudos apóiam essa visão. Há evidências de associação entre o traço comportamental de esquia ao dano e alterações na função serotoninérgica em diversas patologias e até mesmo em humanos saudáveis. Observou-se que dois dos subfatores da esquia ao dano (preocupação antecipatória e medo da incerteza) poderiam desempenhar o papel de fatores de risco para transtornos de humor por sua associação com uma

alteração genética (polimorfismo funcional no promotor do gene transportador de serotonina) (GERRA et al., 2000).

As outras escalas que exploram dimensões de ansiedade e depressão como o IDATE-T (ansiedade), a PANAS (afetos positivo e negativo) e a Beck (depressão), confirmam a diferença entre os grupos, com escores consistentemente mais elevados, em todas, entre os indivíduos com fobia social. Além disso, os traços observados nas escalas são consistentes com os traços de temperamento e caráter medidos pelo TCI. Embora tenham sido excluídos indivíduos com escores acima de 15 (sintomatologia depressiva ou ansiosa moderada) nas escalas HAM-D e HAM-A e que preenchessem critérios para outra categoria diagnóstica (como depressão, transtorno de pânico) não é possível excluir totalmente a presença de sintomatologia ansiosa e depressiva e de comorbidades sub-clínicas.

Os dados do IDATE-T, os escores de depressão do Beck e afeto negativo da PANAS (“o quanto uma pessoa pode sentir-se constrangida, desconfortável e insatisfeita ao invés de sentir-se bem” (ANDRADE; GORENSTEIN, 2000) são coerentes com o diagnóstico clínico realizado por meio da Entrevista SCID e são consistentes com o modelo de ansiedade e depressão de três partes proposto por Watson e Clark (1984) *apud* Andrade e Gorenstein (2000). O modelo propõe que a ansiedade e a depressão apresentam um componente de sobreposição composto por sintomas inespecíficos de ambos – o afeto negativo - além dos aspectos particulares de cada construto (baixo afeto positivo na depressão e hiperestimulação autonômica na ansiedade). A gravidade do quadro e as comorbidades interagem de forma que quadros mais leves apresentam maior sobreposição, devido ao fator inespecífico, enquanto que casos mais graves têm a predominância de fatores específicos.

A escala de “*coping*” (definido por SAVOIA, 2000, como uma resposta com o objetivo de aumentar, criar ou manter a percepção de controle pessoal) e a PSS são dinâmicas (representam características menos estáveis ao longo da vida da pessoa). Ambas exploram em maior profundidade as habilidades “adaptativas” do indivíduo frente a eventos diários e situações estressantes cotidianas, influenciando e sendo influenciadas pela personalidade (SAVOIA,

2000). Uma maior rigidez do funcionamento psíquico do indivíduo e a falta de habilidade e alternativas comportamentais para solução de problemas acarretariam aumento no nível de estresse experienciado pelo sujeito, especialmente em situações sociais. Apesar dos demais fatores não terem atingido significância estatística, o que se observou foi consistente com o esperado: indivíduos com fobia social apresentaram escores mais altos que controles no fator "confronto" da escala de "*coping*", o que confirma o estilo de enfrentamento menos adaptativo e mais uma vez corrobora os achados do TCI.

A PSS é uma escala elaborada para avaliar o impacto que aborrecimentos diários, eventos mais importantes e alterações na disponibilidade de recursos de enfrentamento têm na vida da pessoa (COHEN; WILLIAMSON, 1988). Além disso, segundo os mesmos autores, foi elaborada para investigar o quanto os respondentes acham sua vida imprevisível, incontrolável e sobrecarregada. A escala pode ser utilizada para observar melhor o processo pelo qual diversos moderadores da relação entre um estressor objetivo e uma patologia/transtorno comportamental operam. Os escores da PSS, ao contrário do esperado, não evidenciaram uma diferença entre grupos, o que pode ter ocorrido devido ao tamanho reduzido da amostra. A ANOVA utilizando apenas grupo experimental como fator entre grupos revelou diferenças significativas entre controles e fóbicos sociais ($p=0,039$; média $\pm$ DP - controles $14,11\pm 7,53$ e fóbicos sociais $20,25\pm 7,75$) porém, essa diferença desaparece quando sexo é incluído como fator entre grupos.

De maneira geral, o comportamento manifesto dos indivíduos com fobia social durante o experimento era permanecerem calados ou falarem muito pouco durante o tempo que lhes era dado para o discurso em frente à câmera de vídeo. Por outro lado, os controles falavam bastante, muitas vezes se repetindo, mas procurando seguir as instruções. Uma extrapolação da situação experimental poderia indicar que, em situações cotidianas, a excessiva preocupação e expectativas negativas dos fóbicos sociais poderiam desviar a atenção de estímulos ambientais diversos para eventos internos (coração disparado, rubor) e/ou estímulos percebidos como negativos (tom crítico ou ar de reprovação de outrem), congruentes com a crença ativa e reforçada no repertório do indivíduo.

Como já mencionado anteriormente, fóbicos reagem à tarefa de falar em público atribuindo um maior componente emocional (associado ao medo) à tarefa que controles sem a patologia, que a processam de maneira mais avaliativa, não relacionada ao medo. Essa percepção aumentaria a sensação de inadequação e retroalimentaria a patologia, afastando cada vez mais o paciente do meio social (ARGYROPOULOS, BELL & NUTT; 2001). Efetivamente, para o leigo que observa a situação, o fóbico social é uma pessoa que não reage, ou quando o faz age de forma estranha, sem fixar o olhar. Essa “falta de reação” frente às instruções ou até a uma simples conversa pode, e geralmente provoca, irritação no observador/interlocutor, ocasionando comentários em tom crítico ou atitudes de afastamento, sinais interpretados de maneira fortemente negativa pelo paciente que assim confirma e reforça sua crença de fracasso e inadequação.

É importante ressaltar mais uma vez que a amostra de indivíduos com fobia social que participou do experimento pode não ser totalmente representativa da população clínica. Os sujeitos que efetivamente ingressaram no estudo o faziam voluntariamente e muitos já haviam participado de outros estudos ou realizado algum tipo de tratamento. Possivelmente, os casos mais graves foram aqueles que não compareciam às entrevistas e ou sessão experimental agendadas, muitos por dificuldade de se expor para pedir informações para chegar ao hospital.

O alto índice de absenteísmo nas consultas de triagem, mesmo após remarcações e confirmação do comparecimento por parte dos sujeitos, está possivelmente associado às características de personalidade dos fóbicos sociais aliadas à preocupação antecipatória envolvendo a ida ao hospital. Os sujeitos que efetivamente participaram do estudo já conheciam o hospital ou alguém próximo os acompanhou nas ocasiões necessárias. Poucos responderam aos cartazes espalhados, tendo a maioria sido encaminhados por colegas ou parentes. Um fato interessante é que uma parte significativa dos pacientes que participaram do estudo faziam ou já tinham feito parte de algum grupo de teatro. Provavelmente o efeito “bola de neve”, no qual uma pessoa contacta outra, contribuiu para isso.

Dentre os sujeitos testados, os dados do item 4 da escala ANA – o quanto o sujeito geralmente se sente desconfortável quando tem que falar em público – sugerem que embora mulheres (controles e fóbicas) apresentem escores intermediários de desconforto, fóbicos sociais homens apresentam os escores mais altos para o item, o que pode indicar maior gravidade dos sintomas.

Há poucos estudos que investigam especificamente a diferença entre grupos (controles e sujeitos com patologias psiquiátricas) frente ao SFP, particularmente com fóbicos sociais. No entanto, em relação às variáveis fisiológicas medidas ao longo do experimento, os resultados são consistentes com a literatura. Uma exceção é a resposta galvânica da pele. Como já mencionado anteriormente, esses resultados inconsistentes parecem refletir uma falha na aquisição dos dados, que infelizmente não foi solucionada devido à falta de suporte técnico dos representantes da Laffayette no Brasil.

Os dados acerca dos efeitos do momento experimental, grupo e sexo na PAS, PAD e BPM indicam que o experimento foi eficiente em induzir alterações significativas e observáveis nos sujeitos e que os grupos e sexos foram afetados diferentemente. Os efeitos do momento experimental são consistentes com os encontrados em diversos outros estudos (GOLDSTEIN et al., 1987; GUIMARÃES et al., 1989; HETEM et al., 1993; ZUARDI et al., 1993; HETEM et al., 1996; GUIMARÃES; MBAYA; DEAKIN, 1997; BENSCHOP et al., 1998; MILLER et al., 1999; GRAEFF et al., 2003).

A diferença entre grupos, pressuposto do presente estudo, confirmou-se nos parâmetros psicofisiológicos avaliados. Os indivíduos com fobia social apresentaram níveis semelhantes de ansiedade (medida pelas alterações significativas nas variáveis psicofisiológicas) tanto no momento ANT quanto DES (alta ansiedade antecipatória e de desempenho), diferentemente dos controles (que apresentaram maior ansiedade no momento DES – ansiedade de desempenho). Nos estudos com indivíduos com outros tipos de patologias (transtorno de pânico) não foram encontrados relatos com esse tipo de perfil de resposta frente à tarefa de falar em público. Encontrou-se apenas estudos relatando correlações entre grupos com escores altos e baixos em certas dimensões de personalidade (ex.: baixa extroversão), com maior ou menor

reatividade da PA sistólica, diastólica e batimentos além de parâmetros neuroendócrinos e imunes (MILLER et al.; 1999) frente à tarefa de falar em público.

Grossman et al. (2001) não encontraram diferenças entre fóbicos sociais mais idosos (média de idade de 65 anos) e controles não ansiosos em relação a medidas fisiológicas, muito embora tenham encontrado diferenças de sexo. Naquele estudo mulheres com fobia social mostraram hiperresponsividade hemodinâmica e autonômica (PAS e PAD mais altas desde o basal, maior aumento em resposta ao estímulo estressor e maior frequência de BPM), enquanto homens fóbicos não apresentaram diferenças significativas nesses parâmetros em relação aos controles.

Além do trabalho de Grossman et al. (2001) há poucos relatos acerca de diferenças em medidas fisiológicas entre os sexos; especialmente em fobia social. Encontra-se, no entanto, ampla literatura a respeito de diferenças entre parâmetros hemodinâmicos (PAS, PAD e BPM) em homens e mulheres saudáveis submetidos a estresse agudo (ALLEN et al., 1993; HERBERT et al., 1994; MILLS, 1995; BENSCHOP et al., 1998; LARSON; ADER; MOYNIHAN, 2001). Benschop et al. (1998) citam que alguns autores como Herbert et al. (1994) e Mills (1995) relatam diferenças de gênero na reatividade cardiovascular a estressores agudos e que essas variam em função do estressor. Por exemplo: o estresse de falar em público é considerado pelos autores como um tipo de estresse que evocaria respostas mais específicas no gênero feminino.

Os dados apontam que homens apresentaram maior ativação periférica simpática, com níveis mais altos em PAS e PAD, ao longo de todo o procedimento, o que estaria de acordo com os achados de Girdler et al. (1990)¹; Allen et al. (1993)² e Stoney; Davis e Matthews³ (1987) *apud* Benschop et al. (1998). Esses estudos apontam que homens tendem a apresentar maior

¹ GIRDLER, S. S.; TURNER, J. R.; SHERWOOD, A. et al. Gender differences in blood pressure control during a variety of behavioral stressors. **Psychosom Med**, v. 52, 571-591, 1990.

² ALLEN, M. T.; STONEY, C. M.; OWENS, J. F.; MATTHEWS, K. A. Hemodynamic adjustments to laboratory stress: the influence of gender and personality. **Psychosom Med**, v. 55(6), p. 505-17, 1993.

³ STONEY, C. M.; DAVIS, M.C.; MATTHEWS, K. A. Sex differences in physiological responses to stress and in coronary heart disease: a causal link? **Psychophysiology**, v. 24(2), p.127-31, 1987.

reatividade vascular (mudanças na PA) enquanto mulheres tendem a apresentar maior reatividade cardíaca (BPM). Hetem et al. (1996) não encontraram diferenças significativas entre os sexos nos parâmetros PAD e BPM em controles submetidos ao SFP, o que é consistente com nossos dados de BPM. De acordo com Dimsdale e Moss (1980) e Ward et al. (1983) tanto o estresse de falar em público quanto o de esforço mental estariam associados a um aumento em BPM enquanto que o aumento em PAS e PAD seria mais pronunciado no estresse de falar em público, o que é consistente com o encontrado.

Os resultados do IDATE-E, o item 2 da VAMS (Calmo-Ansioso) e o ESS-total devem ser considerados conjuntamente, uma vez que pretendem medir a mesma variável e apresentam uma configuração e resultados semelhantes na análise de variância para dados com medidas repetidas. Essas escalas indicam que o SFP foi eficiente para induzir ansiedade, mas que os grupos foram diferentemente afetados pelo procedimento.

A escala VAMS é mais sensível às variações na ansiedade ao longo do procedimento do que o IDATE-E, como já havia sido observado anteriormente (GUIMARÃES; ZUARDI; GRAEFF, 1987; GRAEFF et al., 2003; ZUARDI et al., 1993). O gráfico do item 2 da VAMS aponta que o pico de ansiedade de ambos os grupos ocorre no momento ANT. A análise de contrastes também revela diferenças. No IDATE-E, apenas nos indivíduos com fobia social, observa-se LBE e FIN significativamente diferentes das demais medidas intermediárias. Já no item ansiedade da VAMS, observa-se um aumento de ansiedade antecipatória em resposta ao SFP para ambos os grupos.

Os escores dos fóbicos sociais no IDATE-E, VAMS 2 (ansioso), ESS total e ESS 11 (com palpitação) registram o momento ANT significativamente mais alto que as demais medidas intermediárias; indicativo de maior ansiedade antecipatória em resposta ao SFP. A comparação com os dados de BPM sugere que, embora controles não tenham uma percepção de ansiedade antecipatória aumentada, como demonstram os dados de IDATE-E, VAMS 2 e ESS 11 (com palpitação), apresentam um aumento significativo em BPM no momento ANT, com médias até ligeiramente mais altas que indivíduos com fobia social; muito

embora o aumento observado em controles não seja acompanhado por um aumento em PAS, como ocorre com fóbicos sociais.

Os efeitos observados nessas variáveis, parecem corroborar os dados de personalidade. Embora as diferenças em BPM, PAS e PAD apresentem uma variação pequena e dentro dos limites da normalidade, os dados indicam que a interpretação subjetiva do significado dessas alterações seja diferente nos dois grupos. Como a nenhum dos sujeitos foi dito precisamente qual seria a tarefa desempenhada – todos foram informados que desempenhariam uma tarefa cognitiva a ser sorteada no dia – a expectativa, relatada especialmente pelos indivíduos com fobia social, acerca do que teria que ser feito os manteve “tensos”. Acreditamos que a preocupação antecipatória causada pelo desconhecimento acerca da tarefa a ser realizada estaria presente desde o início da sessão experimental para todos os sujeitos. Contudo, a análise individual dos itens e a dos fatores da escala ANA (agrupados pela análise fatorial) aponta que, indivíduos com fobia social, estão mais atentos e reconhecem as alterações neurovegetativas produzidas por situações sociais como mais intensas.

A própria situação experimental, onde havia infusão de solução salina para permitir a coleta de sangue e a conexão do indivíduo a diversos equipamentos, não permitia que os sujeitos relaxassem completamente. Acrescendo-se a isso, a incerteza acerca de seu desempenho na tarefa ter sido adequado (especialmente por serem informados na instrução que seu comportamento estava sendo avaliado e que deveriam sair-se melhor que os outros – Anexo 18) pode (de fato pretendia) ter aumentado o estresse. Essas crenças provavelmente sustentaram os efeitos observados no IDATE-E, VAMS 2 (calmo-ansioso) e ESS total e podem ter influenciado outras alterações onde os níveis basais mostraram-se elevados.

Para investigar se a escala ESS estaria sendo enviesada pelo aumento em sintomas relacionados ao jejum prolongado e ao tempo em que os sujeitos permaneciam sentados na mesma posição, realizamos a análise dos itens individuais. As alterações percebidas pelos sujeitos parecem, em sua maioria, terem sido provocadas pelo procedimento de SFP, com exceção dos itens “com fome” (7) e “com vontade de urinar” (14) mais provavelmente associados ao tempo de duração do experimento.

Os itens da VAMS em geral apontam maiores alterações nos indivíduos com fobia social do que em controles. Na maioria dos itens as médias dos indivíduos com fobia social são consistentemente mais altas que as dos controles. Os resultados da VAMS apontam mais uma vez a eficiência do procedimento em induzir alterações de humor nos sujeitos afetando diferentemente indivíduos com fobia social e controles.

Os efeitos de interação grupo x sexo e momento experimental observados nos níveis de adrenalina e noradrenalina estão de acordo com os achados de Condren et al. (2002). O grupo com maiores médias foi o de indivíduos com fobia social do sexo masculino, sendo que houve maior variação significativa nos níveis no momento DES. Embora no sexo feminino não se observem diferenças entre os grupos ao longo de todo o experimento e a variação média entre o momento DES e o LBE seja de cerca de 25 pg/ml, nos homens há uma diferença basal entre os grupos, com médias entre os pacientes quase duas vezes mais altas que as dos controles. O procedimento provocou uma ativação noradrenérgica muito maior nos pacientes homens, o que pode indicar que esse grupo é mais susceptível ao teste de SFP e sua sintomatologia pode ser mais grave. A associação negativa entre a variação nos níveis de noradrenalina e a sociabilidade e percepção de estresse confirmam a maior susceptibilidade ao SFP nos indivíduos com fobia social do sexo masculino.

Para a adrenalina, a despeito da maior parte das dosagens apresentarem níveis indetectáveis na HPLC, observou-se perfis opostos entre os grupos e sexos. No sexo feminino, as dosagens da maior parte das voluntárias foram indetectáveis, o que pode representar uma baixa ativação adrenérgica nesse grupo, consistente com os achados de Condren et al. (2002). Nos homens, observa-se uma diferença basal entre controles e fóbicos sociais, com controles apresentando médias mais altas (cerca de duas vezes) que indivíduos com fobia social, aumentando progressivamente até o fim do experimento.

Para o ACTH, os efeitos marginais de interação momento x grupo e momento x sexo talvez atingissem significância estatística com o aumento da amostra. Os efeitos observados de sexo e momento experimental, com médias mais elevadas para o sexo masculino durante todos os momentos do

experimento e maior variação no momento DES, revelam uma maior ativação do eixo HPA em resposta ao procedimento nos homens.

O perfil de liberação de cortisol durante o SFP aponta um aumento na liberação plasmática entre os momentos LBE e DES, contrário ao declínio circadiano normal. Não se observou efeito de grupo (que confirmaria uma ativação basal do eixo HPA em fóbicos sociais) nem de sexo. A ausência de efeitos significativos de grupo nas concentrações plasmáticas de cortisol e ACTH em resposta ao estresse é consistente com os resultados de alguns estudos (POTTS et al., 1991; UHDE et al., 1994; MARTEL et al., 1999). Outros pesquisadores (NESSE et al., 1985; FURLAN et al., 2001; CONDREN et al., 2002), mesmo não tendo encontrado diferenças basais entre os grupos, observaram uma variação maior (elevação) nos níveis de cortisol em fóbicos sociais do que controles em resposta a tarefas de indução de estresse. Embora fatores como protocolos de indução de estresse, magnitude das respostas e outras variáveis possam ter interferido nos resultados, a literatura apresenta indícios de uma ativação crônica basal do eixo HPA em indivíduos com fobia social.

A investigação da presença ou não de alterações nas variáveis imunes de sujeitos com fobia social é o objetivo principal do presente estudo. Observou-se que, a despeito da relativamente curta duração do procedimento (cerca de 2 horas) e dos sujeitos estarem cientes de que por ser um estudo em laboratório poderiam interromper o procedimento a qualquer momento, foi possível provocar mudanças significativas em parâmetros imunes celulares e humorais.

Consistentemente com a literatura (SEGERSTROM; MILLER, 2004), os dados sugerem uma ativação mais inespecífica do sistema imune como um todo e uma regulação para baixo nas subpopulações celulares específicas (Linfócitos T helper CD4⁺, por exemplo), refletindo uma redistribuição dos tipos celulares envolvidos na resposta imunológica entre os diversos compartimentos do organismo. Isso seria consistente com a teoria proposta por Dhabhar e McEwen (2001) *apud* Segerstrom e Miller (2004) na qual estressores agudos que desencadeiam reações do tipo fuga ou luta causariam a redistribuição das células imunes para os compartimentos nos quais possam agir mais rápida e eficientemente contra agressões. Segundo o modelo bifásico proposto por esses

autores, o estresse agudo aumentaria e o estresse crônico diminuiria a resposta imune. Outro aspecto que merece atenção é que o procedimento, embora tenha afetado indivíduos com fobia social e controles diferentemente sob o ponto de vista psicológico, não produziu, em geral, alterações imunes celulares que afetassem os grupos diferentemente.

É importante ressaltar que essas variáveis (imunes e hormonais) apenas foram avaliadas em três momentos (LBE, DES e FIN) e embora seja pouco provável (uma vez que os efeitos principais observados foram de interação momento experimental x sexo), não é possível identificar se houve alterações maiores que acompanharam as alterações hemodinâmicas e os picos de ansiedade no momento ANT ou DES. Em outras palavras, não foi possível identificar se ocorreram alterações imunes em indivíduos com fobia social maiores no momento ANT do que em DES (ansiedade de desempenho), acompanhando a ansiedade antecipatória (como observaram BREZNITZ et al, 1998).

Observou-se, principalmente nos homens, uma mudança no balanço entre os tipos celulares no sangue periférico, registrando-se uma redução numérica nas subpopulações responsáveis por uma resposta imune mais específica ou dependentes de ativação. Em geral diminuíram: Linfócitos T CD3⁺ totais (CD4⁺ e CD8⁺ juntos), linfócitos TCD4⁺, linfócitos B (CD19⁺) e relação entre linfócitos T helper/supressores. A redução nas porcentagens de linfócitos T CD3 e a na relação CD4⁺/CD8⁺ refletiu principalmente a alteração na quantidade de linfócitos TCD4⁺ circulantes. Registrou-se um aumento percentual, mas não de atividade funcional, na população de células NK (CD 56⁺). O aumento nas porcentagens de células NK é a alteração mais frequentemente encontrada na literatura em resposta ao estresse agudo (SEGERSTROM; MILLER, 2004). A redução nas porcentagens de CD4⁺ e na taxa de linfócitos T helper/supressores é consistente com os resultados de outros estudos (ex.: BROSSCHOT et al., 1992; MARSLAND et al., 1995; COHEN e HERBERT, 1996; MAES et al., 1998; HENNIG; NETTER; VOIGHT, 2001). Os autores relatam que esses parâmetros parecem ser os mais sensíveis, respondendo rapidamente (em poucos minutos) a variações provocadas por estímulos agudos, não relacionados assim à cronicidade ou a

possíveis perturbações prévias de eixo HPA, supostamente presente nos indivíduos com fobia social.

Em relação às alterações observadas nas demais subpopulações celulares (eosinófilos, neutrófilos, basófilos, monócitos) a literatura é menos consistente apresentando divergências acerca da presença de alterações e em que sentido (aumento, redução) elas ocorrem. Quanto à atividade citotóxica de neutrófilos, a pequena amostra não nos permitiu tirar conclusões a partir dos dados.

Benschop et al. (1998) apontam que estressores agudos induzem alterações quantitativas e qualitativas diferentes na liberação de noradrenalina e adrenalina. Embora ambos ativem α e β_2 adrenoreceptores, a adrenalina estimula mais intensamente β_2 adrenoreceptores. A literatura sugere que, dentre as linhagens linfocitárias, as células NK são as mais responsivas em situações de estresse agudo e que são reguladas predominantemente via β_2 adrenoreceptores. Schedlowski et al. (1996) relatam que a infusão de noradrenalina induz apenas um pequeno aumento no número de células NK – geralmente irrelevante se comparado com o resultado obtido após a infusão de adrenalina – o que também causa aumento nos batimentos cardíacos. Para Benschop et al. (1998) há correlação mais forte entre NK e batimentos em mulheres, indicando que diferenças individuais, secreção de adrenalina e ativação de β_2 adrenoreceptores torna-se manifesta em investigações que utilizam estressores agudos. Os dados, contudo, apontam que indivíduos do sexo masculino apresentaram maior ativação adrenérgica durante o experimento, manifestando maiores alterações médias nas contagens celulares em relação ao basal e em relação às mulheres.

Alterações nos níveis de cortisol, ACTH e catecolaminas plasmáticas também afetam os processos de transporte e “homing” de linfócitos (BROSSCHOT et al., 1992) e estão relacionadas à redistribuição celular, uma vez que há diferentes distribuições nos tipos e quantidades de receptores de membrana para essas substâncias em diferentes grupos celulares.

Manuck et al. (1991); Marsland et al. (1995); Maes et al (1997) e Hennig; Netter e Voight (2001) citam diversos artigos onde se verifica que a liberação de

catecolaminas afeta o número de células no sangue periférico de maneira direta. Para os autores, uma alta ativação simpática correlaciona-se positivamente com maiores números de células CD8⁺ e CD56⁺. Nossos dados também não confirmam as associações entre as variações hormonais e as variações em contagens celulares.

Observou-se apenas uma correlação positiva entre as variações nos níveis de ACTH e cortisol produzidas pelo experimento. Os resultados aqui apresentados, não confirmam a correlação entre ativação simpática e aumentos nas contagens de linfócitos T citotóxicos e células NK diretamente por meio das análises estatísticas (possivelmente devido ao tamanho reduzido da amostra). Entretanto, maiores contagens de células NK ocorreram no grupo com maior ativação noradrenérgica: indivíduos com fobia social do sexo masculino. Verificou-se, independentemente, que há uma associação negativa entre a percepção de estresse e sociabilidade e a variação nos níveis de noradrenalina, além de uma associação positiva entre o nível de ansiedade no experimento (medido pela ANA) e a variação em células NK. Isso é sugestivo de maior susceptibilidade ao SFP nos fóbicos sociais do sexo masculino (e talvez maior gravidade dos sintomas) se comparado às mulheres com fobia social.

Para a realização do ELISA de citocinas em culturas de sangue periférico total selecionou-se duas representativas de cada padrão de resposta imune (Th1 e Th2) que estivessem relacionadas ao desvio de imunidade humoral. As análises foram realizadas em duas etapas: a primeira com a metade da amostra colhida até julho de 2001 e a segunda com todas as amostras, repetindo a análise nas amostras já testadas.

Observou-se a produção de IFN- γ nas culturas de 24 horas em parte dos indivíduos com fobia social da primeira amostra. A segunda testagem revelou que nenhum dos sujeitos apresentou níveis detectáveis para qualquer das citocinas ao longo de todo o experimento. Identificou-se posteriormente um problema com a armazenagem das amostras ocorrido no final de 2002, o que pode ter degradado o material. Sendo assim, os dados do ELISA são apenas ilustrativos e precisam ser considerados cuidadosamente levando em consideração que as amostras indetectáveis podem não refletir uma ausência da

produção dessa citocina mas sim um problema técnico. Segerstrom e Miller (2004), em sua meta-análise acerca dos efeitos do estresse psicológico sobre o sistema imune, relatam o aumento na produção de IL-6 e IFN- γ em resposta ao estresse agudo como o achado mais comum dos estudos que avaliam esses parâmetros. Os interferons são uma classe de citocinas de uso clínico em doenças virais e câncer, mas também produzem neurotoxicidade aumentando a incidência de sintomatologia depressiva (MENKES e MACDONALD, 2000). Há relatos de níveis elevados de IFN- γ em pacientes com depressão refratária (KUBERA et al., 2001) que são reduzidos com medicação antidepressiva. A presença de IFN- γ nas culturas de sangue periférico de indivíduos com fobia social seria compatível com os traços depressivos e dificuldades de concentração, dentre outros sintomas, apresentados por fóbicos sociais, podendo ou não estar associada a esses sintomas. O presente estudo não nos permite tirar quaisquer conclusões.

Os dados do RT-PCR não revelaram mRNA para IFN- γ nas células de sangue periférico nas amostras testadas, como era esperado. Uma possível explicação seria que o material foi extraído de amostras de células de sangue periférico armazenadas em nitrogênio líquido e que por não estarem protegidas contra a digestão por nucleases podem ter tido a transcrição gênica inibida e o mRNA degradado (STORDEUR; ZHOU; GOLDMAN, 2002). A presença de IL-6 nas amostras, mesmo naquelas em que não se identificou o controle positivo HPRT, é compatível com a literatura, embora não tenham sido encontrados artigos mencionando especificamente a expressão de IL-6 em fóbicos sociais submetidos a estresse agudo. Páth et al. (1997), utilizando dentre outras a técnica de RT-PCR, verificaram que IL-6 é um potente ativador do eixo HPA que aparentemente exerce seus efeitos agudos via hipotálamo e hipófise, aumentando a secreção de cortisol e regulando a resposta de estresse na adrenal. Goebel et al. (2000) observaram a secreção de IL-6 em resposta à tarefa de falar em público e enfatizam sua ação pró-inflamatória, indutora da secreção de proteínas de fase aguda. Os autores ainda sugerem uma associação entre os níveis de catecolaminas *in vivo* e a produção de IL-6 *in vitro*. Uma vez que não foi realizado ELISA para essa citocina, observou-se que houve expressão de mRNA para IL-6 em alguns sujeitos e supomos que houve secreção endócrina dessa

citocina. Os dados não nos permitem inferir efeitos de momento experimental, grupo, sexo ou interações nem testar correlações.

Nas proteínas do sistema complemento C3 e C4, apenas C3c mostrou diferença de grupo, com fóbicos sociais mostrando valores maiores que controles. Não houve diferenças entre fóbicos sociais e controles. Os aumentos encontrados em complemento C3c nas condições deste experimento são mais compatíveis com a ativação de situação pró-inflamatória, como a descrita em outras situações de estresse crônico (MAES et al., 1997), onde há ativação de eixo HPA e a liberação de citocinas pró-inflamatórias. As proteínas do sistema complemento, servem como indicadores de processos inflamatórios agudos e crônicos inespecíficos e participam particularmente no processo de opsonização de microorganismos e agentes particulados. Suas sínteses podem ser ativadas tanto por meio da ativação do eixo HPA quanto pela liberação de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 e IL-6. Embora os aumentos nessas situações costumem ser discretos, quando ocorre uma ativação nos processos imunológicos ativos costuma haver diminuição de seus valores devido a seu acoplamento aos patógenos.

Dentre as proteínas de fase aguda, a alfa-1-antitripsina foi a única que sofreu efeito de interação grupo x sexo. Não foram encontrados estudos relatando efeitos semelhantes. A ausência de alterações em imunoglobulinas e demais proteínas de fase aguda em resposta ao estresse agudo é consistente com os resultados de alguns estudos. Tendo em vista que as imunoglobulinas são parâmetros que dependem de uma ativação mais específica (por um antígeno), não se esperava observar alterações, muito embora alguns estudos relatem alterações na secreção de IgA salivar em resposta ao estresse agudo – vídeo e teste de memória (BOSCH et al., 2001) e de falar em público (OHIRA, 2004). As alterações em Igs e proteínas de fase aguda são mais consistentes em estudos que avaliam estressores naturalísticos como estresse acadêmico (MAES et al. 1997) ou imunização (COHEN; MILLER; RABIN, 2001). A variação nos níveis de proteínas de fase aguda em resposta ao estresse pode estar associada a mecanismos de coping, traços de personalidade, níveis de hormônios sexuais e

glicocorticóides, contudo, há poucas evidências que permitam afirmar se há e como se dá a inter-relação entre essas funções.

Consideradas conjuntamente, as alterações encontradas parecem sugerir que mesmo tipos mais amenos de estresse causam alterações pequenas, porém significativas, em alguns dos elementos do sistema imune. Talvez, situações que provoquem maiores níveis de estresse produzam uma ativação ou supressão importante da imunidade do organismo a ponto de alterar a susceptibilidade a doenças. Existem ainda evidências de que as alterações imunológicas são inversamente relacionadas com a capacidade do indivíduo de lidar com os eventos estressores. A avaliação do estressor (potencial para causar danos) e as estratégias de enfrentamento específicas estariam relacionadas com a resposta imunossupressora ou imunoestimuladora (OLFF, 1999) e a experiência prévia de cada indivíduo com eventos estressores (PIKE et al., 1997; BROSSCHOT et al., 1994), o que justificaria a busca de correlação entre padrões individuais de resposta e atividade imunológica.

Com base na observação dos dados obtidos é possível supor que exista uma espécie de “limiar” de ativação imunológica. Esse limiar, que representaria o nível mínimo que um estímulo precisaria atingir para provocar uma resposta imune específica, seria variável em função de diversos fatores que envolvem desde o estado emocional, o estado nutricional, o nível de estresse no momento, a percepção de dano iminente, até o próprio tipo de estresse aplicado. Para que uma alteração provoque uma dada resposta mais específica e robusta do sistema imune seria necessário superar esse limiar. Essa “zona de tamponamento” permite que estímulos menores de diversas ordens mobilizem apenas o que seria necessário caso um dano pequeno ocorresse.

Em termos evolutivos, a existência desse mecanismo de “limiar de disparo” (analogamente ao sistema nervoso) é extremamente funcional. A prontidão total e constante do sistema imune tem um custo metabólico alto para um retorno potencial incerto. Se o animal mobilizasse todos os seus recursos frente a qualquer ameaça estes se esgotariam rapidamente e a exaustão o tornaria mais vulnerável a ataques (MAIER; WATKINS, 1998). Além disso, o “comportamento de doença” associado a uma ativação específica seria

desfavorável numa situação de fuga ou luta. Estados de constante ativação do sistema imune geralmente estão associados a doenças auto-imunes com efeitos deletérios sobre o organismo.

Por outro lado, se alterações ocorressem apenas frente a ameaças muito importantes ou na presença de danos efetivos e/ou intensos o organismo não teria tempo de responder eficientemente, mesmo tendo um bom estoque energético e metabólico e as lesões provavelmente levariam à morte (MAIER; WATKINS, 1998). A premissa do mecanismo proposto por Dhabhar e McEwen (1997) e modificado posteriormente por Sapolsky (1998) e Dopp et al (2000) *apud* Segerstrom e Miller (2004) é que respostas imunes naturais (inespecíficas) são mais adequadas para administrar complicações potenciais de situações com risco de morte do que respostas imunes específicas. Respostas inespecíficas podem ser ativadas mais rapidamente requerendo que menos energia seja desviada de outros sistemas corporais que apóiam a resposta de fuga ou luta. Além disso, respostas inespecíficas são suficientes para lidar com lesões/agressões circunscritas e sinalizar caso o estímulo se prolongue ou seja muito importante.

Esse limiar provavelmente atua em diversos níveis. No sistema endócrino não há sinais de que a liberação de peptídios obedeça a ele, e talvez não haja realmente vantagem em manter uma “zona de tamponamento” devido a sua importância regulatória sobre os outros sistemas. No entanto, a secreção de co-fatores, conjuntamente com a descarga endócrina (como por exemplo a de citocinas liberadas endocrinamente pelo hipotálamo, ou a de proteínas de fase aguda); a liberação de peptídios cerebrais como β -endorfinas, encefalinas e melatonina (SEGERSTROM; MILLER, 2004); além do engajamento em comportamentos que modifiquem o sistema imune (KIECOLT-GLASER; GLASER, 1988) talvez sejam adjuvantes necessários para sinalização e/ou o gatilho da resposta imune específica.

Há evidências de que estressores específicos ativariam determinados circuitos cerebrais diferentes, dependendo do estressor e de outros fatores pessoais. Sendo assim, causariam a secreção de peptídios, citocinas e neurotransmissores ativando seletivamente partes mais suscetíveis do sistema

imune, tanto por suas características em termos de inervação simpática, quanto pela densidade e afinidade dos receptores de membrana presentes nas populações celulares. Para que essas alterações sejam significativas para o desencadeamento de doenças ou para provocar alterações mais intensas precisariam atingir um nível mais alto, por sua duração ou por sua intensidade devido à redundância dos componentes do sistema imune (SEGERSTROM; MILLER, 2004). Embora diversos estudos busquem comprovar a correlação entre estresse e a manifestação e/ou desenvolvimento de patologias, a revisão da literatura aponta que há pouca ou nenhuma evidência ligando alterações imunes associadas ao estresse, em sujeitos saudáveis, à vulnerabilidade do organismo a doenças (SEGERSTROM; MILLER, 2004).

Nesse contexto, estudos de laboratório, por mais aversivos ou bem controlados, ainda serão situações breves, onde os sujeitos têm controle, podendo evitar a situação ou interrompê-la a qualquer momento. Os sujeitos sabem que não serão expostos a situações antiéticas e muito menos que ameacem sua vida ou sua saúde mental. O conjunto dessas informações e cognições pode fazer com que os indivíduos interpretem o estressor como menos ameaçador, talvez ativando preferencialmente no cérebro circuitos corticais superiores (pré-frontais) ao invés de vias subcorticais (complexo amigdaloide, hipocampo), como parece ocorrer com indivíduos com fobia social durante a tarefa de falar em público (TILLFORS et al., 2001; FURMARK et al., 2002). Interessante, contudo, é que, embora ocorra essa ativação de vias subcorticais (e portanto uma interpretação mais emocional ou ameaçadora da situação do experimento), isso não ocasionou diferenças no padrão de respostas imunes ao estressor agudo, independentemente de uma ativação (ou sensibilização) prévia do eixo HPA.

O estudo de variáveis imunológicas e sua correlação com situações ligadas ao estresse apresentam limitações inerentes à complexidade dos fatores envolvidos. Conforme apontado por Ader et al. (1995), o componente imunológico estudado, a estimulação imunogênica, a qualidade e quantidade da estimulação imunogênica, bem como sua relação temporal com o estresse, e as

características biológicas do grupo estudado são variáveis que podem interferir nos resultados.

Estudos de laboratório podem fornecer indícios importantes de que vias estão ou não associadas e quais são relevantes para um determinado tipo de estresse ou estressor, porém, a generalização desses achados e a compreensão profunda da inter-relação entre as variáveis envolvidas ainda é limitada e requer muita pesquisa.

6 *Conclusão*

Observou-se nesse estudo que fóbicos sociais não diferem significativamente de controles sem patologias psiquiátricas na maioria dos parâmetros neuroendócrinos, hormonais e imunes observados. Embora indivíduos com fobia social relatem alterações psicológicas mais robustas frente ao SFP, e apresentem características de personalidade que os tornam mais susceptíveis ao estresse, essas alterações não se traduzem em alterações imunes de mesma intensidade. O estresse de falar em público parece ter afetado todos os sujeitos, produzido alterações em parâmetros imunes mais inespecíficos e de pequena magnitude, geralmente afetando o sexo masculino mais que o feminino, mas não afetando diferentemente fóbicos sociais e controles. Limitações técnicas impediram a verificação de outros parâmetros e suas influências e correlações com as demais variáveis. Mais estudos são necessários para investigar alterações em parâmetros mais sensíveis e refinados que possam esclarecer maiores detalhes acerca da complexa interação entre personalidade, sistema imune e eixo HPA, particularmente na população de fóbicos sociais.

Referências Bibliográficas

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. **Cellular and Molecular Immunology**. 4. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2000.

ACKERMAN, K. D.; MARTINO, M.; HEYMAN, R.; MOYNA, N. M.; RABIN, B. S. Stressor-induced alteration of cytokine production in multiple sclerosis patients and controls. **Psychosom. Med.**, v. 60, n. 4, p. 484-491, 1998.

ADER, R.; COHEN, N.; FELTEN, D. Psychoneuroimmunology: interactions between the nervous system and the immune system. **Lancet**, v. 345, p. 99-103, 1995.

ALLEN, M. T.; STONEY, C. M.; OWENS, J. F.; MATTHEWS, K. A. Hemodynamic adjustments to laboratory stress: the influence of gender and personality. **Psychosom. Med.**, v. 55, n. 6, p. 505-517, 1993.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**. 4 ed. Washington, DC: American Psychiatric Association, 1994.

ANDRADE, L. H. S. G.; GORENSTEIN, C. Aspectos gerais das Escalas de Avaliação de Ansiedade. In: GORENSTEIN, C.; ANDRADE, L. H. S. G.; ZUARDI, A. W. **Escalas de Avaliação Clínica em Psiquiatria e Psicofarmacologia**. 1. ed. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. Cap. 15, p. 139-144.

ANDRADE, L. H. S. G.; LOLIO, C. A.; GENTIL FILHO, V.; LAURENTI, R. Epidemiologia dos transtornos mentais em uma área definida de captação da cidade de São Paulo, Brasil. **Rev. Psiq. Clin.**, v. 26, n.5, p. 257-261, 1999.

ANDRADE, L.; WALTERS, E. E.; GENTIL FILHO, V.; LAURENTI, R. Prevalence of ICD-10 mental disorders in a catchment area in the city of São Paulo, Brazil. **Soc. Psychiatry Psychiatr. Epidemiol.**, v. 37, n. 7, p. 316-325, 2002.

ARGYROPOULOS, S. V.; BELL, C. J.; NUTT, D. J. Brain function in social anxiety disorder. **Psychiatr. Clin. North Am.**, v. 24, n. 4, p. 707-722, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS NBR 6023: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BALL, S.; SMOLIN, J.; SHEKHAR A. A psychobiological approach to personality: examination within anxious outpatients. **J. Psychiatr. Res.**, v. 36, n. 2, p. 97-103, 2002.

BARROS, M. A. M. T.; ANTUNES, I.; BARROS, R. T. Corticosteróides: ação inflamatória e imunossupressora em glomerulonefrites In: CRUZ, J.; BARROS, R. T.; Cruz, H. M. M. C. **Atualidades em nefrologia** 6. 6. ed. São Paulo, SP: Sarvier, 2000, v.1, p. 109-118.

BECK, A. T.; WARD, C. H.; MENDELSON, M.; MOCK, J.; ERBAUGH, G. An

Inventory for Measuring Depression. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.4, p. 53-63, 1961.

BENSCHOP R. J.; GODAERT, G. L.; GEENEN, R.; BROSSCHOT, J. F.; DE SMET, M. B.; OLFF, M.; HEIJNEN, C. J.; BALLIEUX, R. E. Relationships between cardiovascular and immunological changes in an experimental stress model. **Psychol. Med.**, v. 25, n. 2, p. 323-327, 1995.

BENSCHOP, R.J.; GEENEN, R.; MILLS, P. J.; NALIBOFF, B. D.; KIECOLT-GLASER, J. K.; HERBERT, T. B.; VAN DER POMPE, G.; MILLER, G. E.; MATTHEWS, K. A.; GODAERT, G. L. R.; GILMORE, S. L.; GLASER, R.; HEWIJNEN, C. J.; DOPP, J. M.; BIJLSMA, W. J.; SOLOMON, G. F.; CACIOPPO, J. T. Cardiovascular and immune responses to acute psychological stress in young and old women: a meta-analysis. **Psychosom. Med.**, v. 60, p. 290-296, 1998.

BIAGGIO, A. M. B.; NATALÍCIO, L. **Manual para o Inventário de Ansiedade Traço-Estado (IDATE)**. Rio de Janeiro: Centro Editor de Psicologia Aplicada-CEPA, 1979.

BIONDI, M. e PANCHERI, P. Clinical research strategies in psychoneuroimmunology: a review of 46 human research studies (1972-1992) In: LEONARD, B. E.; MILLER, K. (Ed.) **Stress, the Immune System and Psychiatry**. Chichester: John Wiley & Sons, 1995. Cap 5., p. 85-111.

BOND, A. J.; LADER, M. The use of analogue scales in rating subjective feelings. **Br. J. Psychol.**, v. 47, p. 211-218, 1974.

BOSCH, J. A.; GEUS, E. J. C.; KELDER, A.; VEERMAN, E. C. I.; HOOGSTRATEN, J.; AMERONGEN, A. V. N. Differential effects of active versus passive coping on secretory immunity. **Psychophysiology**, v. 38, n. 5, p. 836-846, 2001.

BOYCE, W. T.; CHESNEY, M.; ALKON, A.; TSCHANN, J. M.; ADAMS, S.; CHESTERMAN, B.; COHEN, F.; KAISER, P.; FOLKMAN, S.; WARAS, D. Psychobiologic reactivity to stress and childhood respiratory illnesses: results of two prospective studies. **Psychosom. Med.**, v. 57, p. 411-422, 1995.

BREZNITZ,

BROSSCHOT, J. F.; BENSCHOP, R. J.; GODAERT, G. L.; OLFF, M.; DE SMET, M.; HEIJNEN, C. J.; BALLIEUX, R. E. Influence of life stress on immunological reactivity to mild psychological stress. **Psychosom. Med.**, v. 56, p. 216-224, 1994.

BROSSCHOT, J. F.; BENSCHOP, R. J.; GODAERT, G. L. R.; DE SMET, M. B. M.; OLFF, M.; HEIJNEN, C. J.; BALLIEUX, R. E. Effects of experimental psychological stress on distribution and function of peripheral blood cells. **Psychosom. Med.**, v. 54, p. 394-406, 1992.

BURLESON, M.H.; MALARKEY, W. B.; CACIOPPO, J. T.; POEHLMANN, K. M.; KIECOLT-GLASER, J. K.; BERNTSON, G. G.; GLASER, R. Postmenopausal hormone replacement: effects on autonomic, neuroendocrine, and immune reactivity to brief psychological stressors. **Psychosom. Med.**, v. 60, n.1, p. 17-25, 1998.

BUSKE-KIRSCHBAUM, A.; KIRSCHBAUM, C.; STIERLE, H.; JABAIJ, L.; HELLHAMMER, D. Conditioned manipulation of natural killer (NK) cells in humans using a discriminative learning protocol. **Biol. Psychol.**, v. 38, n. 2-3, p. 143-55, 1994.

CLONINGER, C. R.; SVRAKIC, D. M.; PRZYBECK, T. R. A psychobiological model of temperament and character. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 50, p. 975-990, 1993.

COHEN, H.; HERBERT, T. B. Health Psychology: Psychological Factors and Physical Disease from the Perspective of Human Psychoneuroimmunology. **Annu. Rev. Psychol.**, v. 47, p. 113-142, 1996.

COHEN, S.; KAMARCK, T.; MERMELSTEIN, R. A global measure of perceived stress. **J. Health Soc. Behav.**, v. 24, p. 385-396, 1983.

COHEN, S.; MANUCK, S. B. Stress, reactivity, and disease. **Psychosom. Med.**, v. 57, p. 423-426, 1995.

COHEN, S.; MILLER, G. E.; RABIN, B. S. Psychological stress and antibody response to immunization: a critical review of the human literature. **Psychosom Med**, v. 63, p. 7-18, 2001.

COHEN, S.; WILLIAMSON, G. Perceived stress in a probability sample of the United States. In: SPACAPAN, S.; OSKAMP, S. The social psychology of **health**: Claremont Symposium on applied social psychology. Newbury Park, CA: Sage, 1988. Cap 3., p.31-67.

CONDREN, R. M.; O'NEILL, A.; RYAN, M. C.; BARRETT, P.; THAKORE, J. H. HPA axis response to a psychological stressor in generalised social phobia. **Psychoneuroendocrinology**, v. 27, p. 693-703, 2002.

COVELLI, V.; MAFFIONE, A. B.; NACCI, C.; TATO, E.; JIRILLO, E. Stress, Neuropsychiatric disorders and immunological effects exerted by benzodiazepines. **Immunopharmacol. Immunotoxicol.**, v. 20, p. 199-209, 1998.

DANTZER, R.; KELLEY, K. W. Stress and immunity: an integrated view of relationships between the brain and the immune system. **Life Sci.**, v. 44, n. 26, p. 1995-2008, 1989.

DAYAS, C. V.; BULLER, K. M.; CRANE, J. W.; XU, Y.; DAY, T. A. Stressor categorization: acute physical and psychological stressors elicit distinctive

recruitment patterns in the amygdala and in medullary noradrenergic cell groups. **Eur. J. Neurosci.**, v. 14, n. 7, p. 1143-1152, 2001.

DEAK, T.; NGUYEN, K. T.; COTTER, C. S.; FLESHNER, M.; WATKINS, L.R.; MAIER, S. F.; SPENCER, R. L. Long-term changes in mineralocorticoid and glucocorticoid receptor occupancy following exposure to an acute stressor. **Brain Res.**, v. 847, n. 2, p. 211-220, 1999.

DELONGIS, A.; FOLKMAN, S.; LAZARUS, R. S. The impact of daily stress on health and mood: psychological and social resources as mediators. **J. Pers. Soc. Psychol.**, v. 54, n. 3, p. 486-495, 1988.

DERIJK, R.; MICHELSON, D.; KARP, B.; PETRIDES, J.; GALLIVEN, E.; DEUSTER, P.; PACIOTTI, G.; GOLD, P. W.; STERNBERG, E. Exercise and circadian rhythm-induced variations in plasma cortisol differentially regulated interleukin 1-Beta, IL-6, and tumor necrosis factor-alfa production in humans: high sensitivity of TNF-alfa and resistance of IL-6. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 82, p. 2182-2191, 1997.

DHABHAR, F. S.; MCEWEN, B. S. Bidirectional effects of stress and glucocorticoid hormones on immune function: Possible explanations for paradoxical observations. In: ADER, R.; FELTEN, D. L.; COHEN, N. **Psychoneuroimmunology**. 3. ed. San Diego, CA: Academic Press, 2001. p. 301-338.

DHABHAR, F. S.; MCEWEN, B. S. Acute stress enhances while chronic stress suppresses cell-mediated immunity in vivo: a potential role for leukocyte trafficking. **Brain Behav. Immun.**, v. 11, n. 4, p. 286-306, 1997.

DIMSDALE, J. E.; MOSS, J. Short-term catecholamine response to psychological stress. **Psychosom. Med.**, v. 42, p. 493-497, 1980.

DIMSDALE, J. E.; YOUNG, D.; MOORE, R.; STRAUSS, H. W. Do plasma norepinephrine levels reflect behavioral stress? **Psychosom. Med.**, v. 49, n. 4, p. 375-82, 1987.

DOPP J. M.; MILLER, G. E.; MYERS, H. F.; FAHEY, J. L. Increased natural killer-cell mobilization and cytotoxicity during marital conflict. **Brain Behav. Immun.**, v. 14, n. 1, p. 10-26, 2000.

DUNN, A. J. Psychoneuroimmunology: introduction and general perspectives. In: LEONARD, B. E.; MILLER, K. (Ed.) **Stress, the Immune System and Psychiatry**. Chichester: John Wiley & Sons, 1995.

FIRST, M. B.; SPITZER, R. L.; GIBBON, M.; WILLIAMS, J. B. **Entrevista Estruturada para o DSM IV - Transtornos do Eixo I**. Tradução de Marcelo Tavares. Brasília, 1994.

FOLKMAN, S.; LAZARUS, R. S. If it changes it must be a process: Study of

emotion and coping during three stages of a college examination. **J. Pers. Soc. Psychol.**, v. 48, p. 150-170, 1985.

FUENTES, D. TAVARES, H.; CAMARGO, C.H.P.; GORENSTEIN, C. Inventário de temperamento e caráter de Cloninger – validação da versão em português. In: Gorenstein, C.; Andrade, L.H.S.G.; Zuardi, A.W. (Ed.) **Escala de avaliação clínica em psiquiatria e psicofarmacologia**. São Paulo: Lemos Editorial; 2000. Cap. 38, p. 363-376.

FURLAN, P. M.; DEMARTINIS, N.; SCHWEIZER, E.; RICKELS, K.; LUCKI, I. Abnormal salivary cortisol levels in social phobic patients in response to acute psychological but not physical stress. **Biol. Psychiatry**, v.50, n. 4, p.254-259, 2001.

FURMARK, T.; TILLFORS, M.; EVERZ, P.; MARTEINSDOTTIR, I.; GEVERT, O.; FREDRIKSON, M. Social phobia in the general population: prevalence and sociodemographic profile. **Soc. Psychiatry Psychiatr. Epidemiol.**, v. 34, n. 8, p. 416-424, 1999.

FURMARK, T.; TILLFORS, M.; MARTEINSDOTTIR, I.; FISCHER, H.; PISSIOTA, A.; LANGSTROM, B.; FREDRIKSON, M. Common changes in cerebral blood flow in patients with social phobia treated with citalopram or cognitive-behavioral therapy. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 59, n. 5, p. 425-433, 2002.

GERRA, G.; ZAIMOVIC, A.; TIMPANO, M.; ZAMBELLI, U.; DELSIGNORE, R.; BRAMBILLA, F. Neuroendocrine correlates of temperamental traits in humans. **Psychoneuroendocrinology**, v. 25, n. 5, p. 479-496, 2000.

GLASER, R.; KIECOLT-GLASER, J. K.; BONNEAU, R. H.; MALARKEY, W.; KENNEDY, S.; HUGHES, J. Stress-induced modulation of the immune response to recombinant hepatitis B vaccine. **Psychosom. Med.**, v. 54, n. 1, p. 22-29, 1992.

GLYNN, L. M.; CHRISTENFELD, N.; GERIN, W. Gender, Social Support, and Cardiovascular Responses to Stress. **Psychosom. Med.**, v. 61, p. 234-242, 1999.

GOEBEL, M. U.; MILLS, P. J.; IRWIN, M. R.; ZIEGLER, M. G. Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor- α Production After Acute Psychological Stress, Exercise, and Infused Isoproterenol: Differential Effects and Pathways. **Psychosom. Med.**, v. 62, p. 591-598, 2000.

GOLDSTEIN, D. S.; EISENHOFER, G.; SAX, F. L.; KEISER, H. R.; KOPIN, I. J. Plasma norepinephrine pharmacokinetics during mental challenge. **Psychosom. Med.**, v. 49, p. 591-605, 1987.

GORENSTEIN, C.; GENTIL, V.; MELO, M.; LOTUFO-NETO, F.; LAURIANO, V. Mood improvement in "normal" volunteers. **J. Psychopharmacol.**, v. 12, p. 246-251, 1998.

GORENSTEIN, C.; LOTUFO-NETO, F.; MELO, M.; LAURIANO, V.; GUERRA DE ANDRADE, L.; GENTIL, V. Untreated psychopathology of candidates to "normal volunteers". **J. Clin. Psychopharmacol.**, v. 17, n. 3, p. 238-239, 1997.

GRAEFF, F. G.; PARENTE, A.; DEL-BEN, C. M.; GUIMARÃES, F. S. Pharmacology of human experimental anxiety. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 36, p.421-432, 2003.

GRAEFF, F. G.; SILVA, M.; DEL BEN, C. M.; ZUARDI, A. W.; HETEM, L. A.; GUIMARÃES, F. S. Comparison between two models of experimental anxiety in healthy volunteers and panic disorder patients. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v. 25, n. 7-8, p. 753-759, 2001.

GROSSMAN, P.; WILHELM, F. H.; KAWACHI, I.; SPARROW, D. Gender Differences in Psychophysiological Responses to Speech Stress Among Older Social Phobics: Congruence and Incongruence Between Self-Evaluative and Cardiovascular Reactions. **Psychosom. Med.**, v. 63, p. 765-777, 2001.

GUIMARÃES, F. S.; KOHEM, C. L.; GUS, G.; FILLMANN, H. S.; DE-VECINO, M. C. A.; DE-PAOLI, C. L.; RIBEIRO, A. M. S.; TEIXEIRA, C. C.; WANNMACHER, L. A simple simulated public speaking test for evaluating anxiolytic drugs. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 22, p. 1083-1089, 1989.

GUIMARÃES, F. S.; MBAYA, P. S.; DEAKIN, J. F. W. Ritanserin facilitates anxiety in a simulated public-speaking paradigm. **J. Psychopharmacol.**, v. 11, p. 225-231, 1997.

GUIMARÃES, F. S.; ZUARDI, A. W.; GRAEFF, F. G. Effect of chlorimipramine and maprotiline on experimental anxiety in humans. **J. Psychopharmacol.**, v. 1, p. 184-192, 1987.

HAMILTON, M. The assessment of anxiety states by rating. **Br. J. Med. Psychol.**, v. 32, n. 1, p. 50-55, 1959.

HAMILTON, M. Rating scale for depression. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.**, v. 23, p. 56-62, 1960.

HENNIG, J.; NETTER, P.; VOIGT, K.H. Cortisol mediates redistribution of CD8+ but not of CD56+ cells after the psychological stress of public speaking. **Psychoneuroendocrinology**, v. 26, p. 673-687, 2001.

HERBERT, T. B.; COHEN, S.; MARSLAND, A. L.; BACHEN, E. A.; RABIN, B. S.; MULDOON, M. F.; MANUCK, S. B. Cardiovascular reactivity and the course of immune response to an acute psychological stressor. **Psychosom. Med.**, v. 56, p. 337-344, 1994.

HETEM, L. A. B.; SOUZA, C. J.; GUIMARÃES, F. S.; ZUARDI, A. W. & GRAEFF, F. G. Effect of d-fenfluramine on human experimental anxiety. **Psychopharmacology**, v. 127, p. 276-282, 1996.

HETEM, L. A. B.; SOUZA, C. J.; GUIMARÃES, F. S.; ZUARDI, A. W.; GRAEFF, F. G. Efeito da d-fenfluramina na ansiedade induzida por uma simulação de falar em público. **Rev. ABPAPAL**, v. 15, n. 4, p. 139-145, 1993.

JEZOVA, D.; MAKATSORI, A.; DUNCKO, R.; MONCEK, F.; JAKUBEK, M. High trait anxiety in healthy subjects is associated with low neuroendocrine activity during psychosocial stress. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 28, n. 8, p.1331-1336, 2004.

JOHANSSON, G.; LAAKSO, M. L.; KARONEN, S. L.; PEDER, M. Examination stress affects plasma levels of TSH and thyroid hormones differently in females and males. **Psychosom. Med.**, v. 49, n. 4, p. 390-396, 1987.

KANNER, A. D.; COYNE, J. C.; SCHAEFER, C.; LAZARUS, R. S. Comparison of two modes of stress measurement: daily hassles and uplifts versus major life events. **J. Behav. Med.**, v. 4, p. 1-39, 1981.

KARP, C. L.; EL-SAFI, S. H.; WYNN, T. A.; SATTI, M. M.; KORDOFANI, A. M.; HASHIM, F. A.; HAG-ALI, M.; NEVA F. A.; NUTMAN, T. B.; SACKS, D. L. In vivo cytokine profiles in patients with kala-azar. Marked elevation of both interleukin-10 and interferon-gamma. **J. Clin. Invest.**, v. 91, n. 4, p. 1644-1648, 1993.

KESSLER, R. C.; STANG, P.; WITTCHEN, H. U.; STEIN, M.; WALTERS, E. E. Lifetime co-morbidities between social phobia and mood disorders in the US National Comorbidity Survey. **Psychol. Med.**, v. 29, n. 3, p. 555-567, 1999.

KIECOLT-GLASER, J. K.; GARNER, W.; SPEICHER, C.; PENN, G. M.; HOLLIDAY, J.; GLASER, R. Psychosocial modifiers of immunocompetence in medical students. **Psychosom. Med.**, v. 46, n. 1, p. 7-14, 1984.

KIECOLT-GLASER, J. K.; GLASER, R. Methodological issues in behavioral immunology research with humans. **Brain Behav. Immun.**, v. 2, p. 67-78, 1988.

KIRSCHBAUM, C.; KUDIELKA, B. M.; GAAB, J.; SCHOMMER, N. C.; HELLHAMMER, D. H. Impact of gender, menstrual cycle phase, and oral contraceptives on the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. **Psychosom. Med.**, v. 61, n. 2, p. 154-162, 1999.

KIRSCHBAUM, C.; WUST, S.; HELLHAMMER, D. Consistent sex differences in cortisol responses to psychological stress. **Psychosom. Med.**, v. 54, n. 6, p. 648-657, 1992.

KNAPP, P. H.; LEVY, E. M.; GIORGI, R. G.; BLACK, P. H.; FOX, B. H.; HEEREN T. C. Short-term immunological effects of induced emotion. **Psychosom. Med.**, v. 54, n. 2, p. 133-148, 1992.

KUBERA, M.; KENIS, G.; BUDZISZEWSKA, B.; BOSMANS, E.; SCHARPE, S.;

BASTA-KAIM, A.; MAES, M. Lack of a modulatory effect of imipramine on glucocorticoid-induced suppression of interferon-gamma and interleukin-10 production in vitro. **Pol. J. Pharmacol.**, v. 53, n. 3, p. 289-294, 2001.

LARSON, M. R.; ADER, R.; MOYNIHAN, J. A. Heart Rate, Neuroendocrine, and Immunological Reactivity in Response to an Acute Laboratory Stressor. **Psychosom. Med.**, v. 63, p. 493-501, 2001.

LEONARD, B. E. Stress and the immune system: Immunological aspects of depressive illness. In: LEONARD, B. E.; MILLER, K. (Ed.) **Stress, the Immune System and Psychiatry**. Chichester: John Wiley & Sons, 1995.

LIANG, S. W.; JEMERIN, J. M.; TSCHANN, J. M.; WARA, D. W.; BOYCE, W. T. Life events, frontal electroencephalogram laterality, and functional immune status after acute psychological stressors in adolescents. **Psychosom Med**, v. 59, n. 2, p. 178-186, 1997.

LOPEZ, J. F.; AKIL, H.; WATSON, S. J. Neural circuits mediating stress. **Biol. Psychiatry**, v. 46, n. 11, p. 1461-1471, 1999.

LORBERBAUM, J. P.; KOSE, S.; JOHNSON, M. R.; ARANA, G. W.; SULLIVAN, L. K.; HAMNER, M. B.; BALLENGER, J. C.; LYDIARD, R. B.; BRODRICK, P. S.; BOHNING, D. E.; GEORGE, M. S. Neural correlates of speech anticipatory anxiety in generalized social phobia. **Neuroreport**, v. 15, n. 18, p. 2701-2705, 2004.

MAES, M.; HENDRIKS, D.; VAN GASTEL, A.; DEMEDTS, P.; WAUTERS, A.; NEELS, H.; JANCA, A.; SCHARPE, S. Effects of psychological stress on serum immunoglobulin, complement and acute phase protein concentrations in normal volunteers. **Psychoneuroendocrinology**, v. 22, n. 6, p. 397-409, 1997.

MAES, M.; SCHARPE, S.; VAN GROOTEL, L.; UYTENBROECK, W.; COOREMAN, W.; COSYNS, P.; SUY, E. Higher alfa-1-antitrypsin, haptoglobin, ceruloplasmin and lower retinol-binding protein plasma levels during depression: further evidences for the existence of an acute phase response. **J. Affect. Disord.**, v. 24, p. 183-192, 1992.

MAES, M.; SONG, C.; LIN, A.; DE JONGH, R.; VAN GASTEL, A.; KENIS, G.; BOSMANS, E.; DE MEESTER, I.; BENOY, I.; NEELS, H.; DEMEDTS, P.; JANCA, A.; SCHARPÉ, S.; SMITH, R. S. The effects of Psychological stress on humans: increased production of pro-inflammatory cytokines and a Th1-like response in stress-induced anxiety. **Cytokine**, v. 10, p. 313-318, 1998.

MAIER, S. F.; WATKINS, L. R. Cytokines for Psychologists: Implications of bi-directional immune-to-brain communication for understanding behaviour, mood and cognition. **Psychol. Rev.**, v. 105, p. 83-107, 1998.

MANUCK, S. B.; COHEN, S.; RABIN, B. S.; MULDOON, M. F.; BACHEN, E. A.

Individual differences in cellular immune response to stress. (1991). *Psychological Science* 2: 111-115. In: COHEN, H.; HERBERT, T. B. *Health Psychology: Psychological Factors and Physical Disease from the Perspective of Human Psychoneuroimmunology*. **Annu. Rev. Psychol.**, v. 47, p. 113-142, 1996.

MARSLAND, A. L.; MANUCK, S. B.; FAZZARI, T. V.; STEWART, C. J.; RABIN, B. S. Stability of individual differences in cellular immune responses to acute psychological stress. **Psychosom. Med.**, v. 57, p. 295-298, 1995.

MARTEINSDOTTIR, I.; TILLFORS, M.; FURMARK, T.; ANDERBERG, U. M.; EKSELIUS, L. Personality dimensions measured by the Temperament and Character Inventory (TCI) in subjects with social phobia. **Nord. J. Psychiatry**, v. 57, n. 1, p. 29-35, 2003.

MARTEL, F. L.; HAYWARD, C.; LYONS, D. M.; SANBORN, K.; VARADY, S.; SCHATZBERG, A. F. Salivary cortisol levels in socially phobic adolescent girls. **Depress Anxiety**, v. 10, n. 1, p. 25-27, 1999.

MCNAIR, D. M.; FRANKENTHALER, L. M.; CZERLINSKY, T.; WHITE, T. W.; SASSON, S.; FISHER, S. Simulated public speaking as a model of clinical anxiety. **Psychopharmacology**, v. 77, p. 7-10, 1982.

MENKES, D. B.; MACDONALD, J. A. Interferons, serotonin and neurotoxicity. **Psychol. Med.**, v. 30, n. 2, p. 259-268, 2000.

MILLER, G. E.; COHEN, S. Psychological interventions and the immune system: a meta-analytic review and critique. **Health Psychol.**, v. 20, n. 1, p. 47-63, 2001.

MILLER, G. E.; COHEN, S.; RABIN, B. S.; SKONER, D. P. & DOYLE, W. J. Personality and Tonic Cardiovascular, Neuroendocrine, and Immune Parameters. **Brain Behav. Immun.**, v. 13, n. 2, p. 109-123, 1999.

MILLS, P. J.; BERRY, C. C.; DIMSDALE, J. E.; ZIEGLER, M. G.; NELESEN, R. A.; KENNEDY, B. P. Lymphocyte subset redistribution in response to acute experimental stress: Effects of gender, ethnicity, hypertension and the sympathetic nervous system. **Brain Behav. Immun.**, v. 9, p. 61-69, 1995.

MORENO, R. A.; MORENO, D. H. Escalas de avaliação para depressão de Hamilton (HAM-D) e Montgomery-Åsberg (MADRS). In: GORENSTEIN, C.; ANDRADE, L. H. S. G.; ZUARDI, A. W. **Escalas de Avaliação Clínica em Psiquiatria e Psicofarmacologia**. 1. ed. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. Cap. 9, p. 71-88.

MORMEDE, P.; DANTZER, R.; MICHAUD, B.; KELLEY, K. W.; LE MOAL, M. Influence of stressor predictability and behavioral control on lymphocyte reactivity, antibody responses and neuroendocrine activation in rats. **Physiol. Behav.**, v. 43, n. 5, p. 577-583, 1988.

MÜLLER, N.; ACKENHEIL, M. Psychoneuroimmunology and the cytokine action in the CNS: implications for psychiatric disorders. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 22, p. 1-33, 1998.

MÜLLER, N.; ACKENHEIL, M. The immune system and Schizophrenia. In: LEONARD, B. E.; MILLER, K. (Ed.) **Stress, the Immune System and Psychiatry**. Chichester: John Wiley & Sons, 1995.

NALIBOFF, B. D.; BENTON, D.; SOLOMON, G.F.; MORLEY, J. E.; FAHEY, J. L.; BLOOM, E. T.; MAKINODAN, T.; GILMORE, S. L. Immunological changes in young and old adults during brief laboratory stress. **Psychosom. Med.**, v. 53, n. 2, p. 121-132, 1991.

NESSE, R. M.; CURTIS, G. C.; THYER, B. A.; MCCANN, D. S.; HUBER-SMITH, M. J.; KNOPF, R. F. Endocrine and cardiovascular responses during phobic anxiety. **Psychosom. Med.**, v. 47, n. 4, p. 320-332, 1985.

NUNES, D. F. **História Natural da infecção pelo HIV: Avaliação da atividade "Natural Killer"**. 96 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

O'CONNOR, K. A.; JOHNSON, J. D.; HANSEN, M. K.; WIESELER FRANK, J. L.; MAKSIMOVA, E.; WATKINS, L. R.; MAIER, S. F. Peripheral and central proinflammatory cytokine response to a severe acute stressor. **Brain Res.**, v. 991, n. 1-2, p. 123-132, 2003.

OHIRA, H. Social support and salivary secretory immunoglobulin A response in women to stress of making a public speech. **Percept Mot Skills**, v. 98, n. 3, p.1241-50, 2004.

OLFF, M.; BROSSCHOT, J. F.; GODAERT, G. L.; BENSCHOP, R. J.; BALLIEUX, R. E.; HEIJNEN, C. J.; DE SMET, M. B. M.; URSIN, H. Modulatory effects of defense and coping on stress induced changes in endocrine and immune parameters. **Int. J. Behav. Med.**, v. 2, p. 85-103.

OLFF, M. Stress, Depression and immunity: the role of defense and coping styles. **Psychiatry Res.**, v. 85, p. 7-15, 1999.

PACAK, K.; PALKOVITS, M.; KVETNANSKY, R.; YADID, G.; KOPIN, I. J.; GOLDSTEIN, D. S. Effects of various stressors on in vivo norepinephrine release in the hypothalamic paraventricular nucleus and on the pituitary-adrenocortical axis. **Ann. N. Y. Acad.Sci.**, v. 771, p. 115-130, 1995.

PALMA, S. M.; GUIMARÃES, F. S.; ZUARDI, A. W. Anxiety induced by simulated public speaking and stroop color word test in healthy subjects: effects of different trait-anxiety levels. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 27, p. 2895-2902, 1994.

PÄTH, G.; BORNSTEIN, S. R.; EHRHART-BORNSTEIN, M.; SCHERBAUM, W. A.

Interleukin-6 and the Interleukin-6 Receptor in the Human Adrenal Gland: Expression and Effects on Steroidogenesis. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 82, p. 2343-2349, 1997.

PELISSOLO, A. ; ANDRE, C. ; PUJOL, H. ; YAO, S. N. ; SERVANT, D. ; BRACONNIER, A. ; ORAIN-PELISSOLO, S. ; BOUCHEZ, S. ; LEPINE, J. P. Personality dimensions in social phobics with or without depression. **Acta Psychiatr. Scand.**, v. 105, n. 2, p. 94-103, 2002.

PETROVSKY, N.; HARRISON, L. C. The chronobiology of human cytokine production. **Int. Rev. Immunol.**, v. 16, n. 5-6, p. 635-649, 1998.

PIKE, J. L.; SMITH, T. L.; HAUGER, R. L.; NICASSIO, P. M.; PATTERSON, T. L.; MCCLINTICK, J.; COSTLOW, C.; IRWIN, M. R. Chronic life stress alters sympathetic, neuroendocrine, and immune responsivity to an acute psychological stressor in humans. **Psychosom. Med.**, v. 59, p. 447-457, 1997.

POTTS, N. L.; DAVIDSON, J. R.; KRISHNAN, K. R.; DORAISWAMY, P. M.; RITCHIE, J. C. Levels of urinary free cortisol in social phobia. **J. Clin. Psychiatry**, v. 52, p. 41-42, 1991. Suppl.

PRADELLES, P.; GRASSI, J.; MACLOUF, J. Enzyme immunoassays of eicosanoids using acetylcholine esterase as label: an alternative to radioimmunoassay. **Anal. Chem.**, v. 57, n. 7, p. 1170-1173, 1985.

RAPAPORT, M. H. Circulating lymphocyte phenotypic surface markers in anxiety disorder patients and normal volunteers. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 43, p. 458-463, 1998.

RAPAPORT, M. H. ; STEIN, M. B. Serum interleukin-2 and soluble interleukin-2 receptor levels in generalized social phobia. **Anxiety**, v. 1, p. 50-53, 1994.

REICHENBERG, A.; YIRMIYA, R.; SCHULD, A.; KRAUS, T.; HAACK, M.; MORAG, A.; POLLMACHER, T. Cytokine-Associated Emotional and Cognitive Disturbances in Humans. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 58, p. 445-452, 2001.

RIETVELD, S.; VAN BEEST, I.; EVERAERD, W. Stress-induced breathlessness in asthma. **Psychol. Med.**, v. 29, n. 6, p. 1359-1366, 1999.

ROHLER, N.; SCHOMMER, N. C.; HELLHAMMER, D. H.; ENGEL, R.; KIRSCHBAUM, C. Sex differences in glucocorticoid sensitivity of proinflammatory cytokine production after psychosocial stress. **Psychosom. Med.**, v. 63, n. 6, p.966-972, 2001.

ROSA, P. **Análise não-paramétrica de dados ordinais com medidas repetidas**. 34 p. Dissertação (Mestrado) - IME, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

SAPOLSKY, R. M. **Why zebras don't get ulcers: An updated guide to stress, stress-related disease, and coping**. 1. ed. New York: Freeman, 1998.

SAVOIA, M. G. Escalas de eventos vitais e de estratégias de enfrentamento (coping). In: GORENSTEIN, C.; ANDRADE, L. H. S. G.; ZUARDI, A. W. **Escalas de Avaliação Clínica em Psiquiatria e Psicofarmacologia**. 1. ed. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. Cap. 39, p. 377-386.

SCHEDLOWSKI, M.; HORSCH, W.; OBERBECK, R.; BENSCHOP, R. J.; JACOBS, R.; RAAB, H. R.; SCHMIDT, R. E. Catecholamines modulate human natural killer (NK) cell circulation and function via spleen-independent $\beta 2$ adrenergic mechanisms. **J. Immunol.**, v. 156, p. 93-99, 1996.

SEDGWICK, J. D.; CZERKINSKY, C. Detection of cell-surface molecules secreted products of single cell and cellular proliferation by enzyme immunoassay. **J. Immunol. Methods**, v. 150, p. 159-175, 1992.

SEGERSTROM, S. C.; MILLER, G. E. Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry. **Psychol. Bull.**, v. 130, n. 4, p. 601-630, 2004.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. III Consenso Brasileiro de Hipertensão Arterial. Campos do Jordão, 1998. Disponível em: http://www.sbh.org.br/documentos/consenso3_documento.htm. Acesso em 05 jan. 2004.

SPIELBERGER, C. D.; GORSUCH, R. L.; LUSHENE, R. E. **Manual for the Trait-Trait Anxiety Inventory**. Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press, 1970.

STEIN, D. J.; WESTENBERG, H. G.; LIEBOWITZ, M. R. Social anxiety disorder and generalized anxiety disorder: serotonergic and dopaminergic neurocircuitry. **J. Clin. Psychiatry**, v. 63, p. 12-19, 2002, Suppl 6.

STEIN, M. B. Neurobiological perspectives on social phobia: from affiliation to zoology. **Biol. Psychiatry**, v. 44, n. 12, p. 1277-1285, 1998.

STORDEUR P.; ZHOU L.; GOLDMAN M. Analysis of spontaneous mRNA cytokine production in peripheral blood. **J. Immunol. Methods**, v. 261, n. 1-2, p. 195-197, 2002.

STRATAKIS, C. A; CHROUSOS, G. P. Neuroendocrinology and pathophysiology of the stress system. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 771, p. 1-18, 1995.

TAVARES, M. A Entrevista Estruturada para o DSM-IV In: CUNHA, J. A. **Psicodiagnóstico V: Técnicas Diagnósticas**. 5 ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 2000, v.1, p. 75-86.

TERSMAN, Z.; COLLINS, A.; ENEROTH, P. Cardiovascular responses to psychological and physiological stressors during the menstrual cycle. **Psychosom. Med.**, v. 53, n. 2, p. 185-197, 1991.

TILLFORS, M.; FURMARK, T.; MARTEINSDOTTIR, I.; FISCHER, H.; PISSIOTA, A.; LANGSTROM, B.; FREDRIKSON, M. Cerebral Blood Flow in Subjects With Social Phobia During Stressful Speaking Tasks: A PET Study. **Am. J. Psychiatry**, v. 158, p. 1220-1226, 2001.

TOFFOLI, G.; CORONA, G.; TOLUSSO, B.; SARTOR, F.; SORIO, R.; MINI, E.; BOIOCCHI, M. Resistance to methotrexate in SKOV-3 cell lines after chronic exposure to carbamazepine is associated with a decreased expression of folate receptor. **Int. J. Cancer**, v. 85, n. 5, p. 683-690, 2000.

TSIGOS, C.; CHROUSOS, G. P. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. **J. Psychosom. Res.**, v. 53, n. 4, p. 865-871, 2002.

UHDE, T. W.; TANCER, M. E.; GELERNTER, C. S.; VITTONE, B. J. Normal urinary free cortisol and postdexamethasone cortisol in social phobia: comparison to normal volunteers. **J. Affect. Disord.**, v. 30, n. 3, p. 155-161, 1994.

VAN DE KAR, L. D.; BLAIR, M. L. Forebrain pathways mediating stress-induced hormone secretion. **Front. Neuroendocrinol.**, v. 20, n. 1, p. 1-48, 1999.

VISSER, J.; GRAFFELMAN, W.; BLAUW, B.; HASPELS, I.; LENTJES, E.; DE KLOET, E. R.; NAGELKERKEN, L. LPS-induced IL-10 production in whole blood cultures from chronic fatigue syndrome patients is increased but supersensitive to inhibition by dexamethasone. **J. Neuroimmunol.**, v. 119, n. 2, p. 343-349, 2001.

WADEE, A. A.; KUSCHKE, R. H.; KOMETZ, S.; BERK, M. Personality factors, stress and immunity. **Stress Health**, v. 17, p. 25-40, 2001.

WARD, M. M.; MEFFORD, I. N.; PARKER, S. D.; CHESNEY, M. A.; TAYLOR, C. B.; KEEGAN, D. L.; BARCHAS, J. D. Epinephrine and norepinephrine responses in continuously collected human plasma to a series of stressors. **Psychosom. Med.**, v. 45, p. 471-486, 1983.

WATSON, D.; CLARK, L. A. Negative affectivity: the disposition to experience aversive emotional states. **Psychol. Bull.**, v. 96, p. 465-490, 1984.

WATSON, D.; CLARK, L. A.; TELLEGEN, A. Development and validation of brief measures of Positive and Negative Affect: The PANAS Scales. **J. Pers. Soc. Psychol.**, v. 54, p. 1063-1070, 1988.

WITTCHEN, H-U.; FEHM, L. Epidemiology and natural course of social fears and social phobia. **Acta Psychiatr. Scand.**, v. 108, Suppl. 417, p. 4-18, 2003.

YAQOOB, P.; NEWSHOLME, E. A.; CALDER, P. C. Comparison of cytokine production in cultures of whole human blood and purified mononuclear cells. **Cytokine**, v. 11, n. 8, p. 600-605, 1999.

ZUARDI, A. W.; COSME, R. A.; GRAEFF, F. G.; GUIMARÃES, F. S. Effects of ipsapirone and cannabidiol on human experimental anxiety. **J. Psychopharmacol.**, v. 7, p. 82-88, 1993.

8 Anexos

Anexo 1
ESCALA DE AVALIAÇÃO DE HUMOR – VAMS

Nome: _____ Data: ____/____/____

1. Avalie como você se sente em relação aos itens abaixo. Cada pergunta é respondida colocando um traço vertical na linha de resposta.

2. Considere a linha como o representando a gama completa de cada dimensão.

3. Coloque um traço vertical na posição que melhor se ajusta ao que você sente.

4. Considere os extremos da linha como a sensação máxima.

5. RESPONDA COMO VOCÊ SE SENTE NO MOMENTO EM RELAÇÃO A CADA ITEM.

ALERTA	_____	SONOLENTO
ANSIOSO	_____	CALMO
MENTE CLARA	_____	CONFUSO
DESAJEITADO	_____	BEM COORDENADO
ALEGRE	_____	TRISTE
TRANQUILO	_____	AGITADO
CONCENTRAÇÃO FÁCIL	_____	DIFICULDADE DE CONCENTRAÇÃO
SATISFEITO	_____	INSATISFEITO
PREOCUPADO	_____	INDIFERENTE
IRRITADO	_____	TOLERANTE
MENTE LENTA	_____	MENTE ACELARADA
EXCITADO	_____	RELAXADO
FALANTE	_____	CALADO
DISTRAÍDO	_____	ATENTO
BEM DISPOSTO	_____	INDISPOSTO
INCOMPETENTE	_____	COMPETENTE
DEPRIMIDO	_____	EUFÓRICO
AMISTOSO	_____	HOSTIL
APÁTICO	_____	MOTIVADO
RETRAÍDO	_____	SOCIÁVEL

Anexo 2 - PANAS

Essa escala consiste de palavras e frases que descrevem diferentes sentimentos e emoções. Leia cada item e então marque a resposta apropriada no espaço ao lado da palavra. Indique o quanto você vem se sentindo assim durante a última semana, incluindo o dia de hoje.

	Muito pouco ou nada	Um pouco	Moderadamente	Muito	Excessivamente		Muito pouco ou nada	Um pouco	Moderadamente	Muito	Excessivamente
alegre						ativo					
aborrecido						culpado					
atento						cheio de alegria					
retraído						nervoso					
lerdo, vagaroso						sentindo-se só					
ousado						com sono					
surpreso						empolgado					
forte						hostil					
cheio de desprezo						orgulhoso					
relaxado						agitado					
irritável						animado					
encantado						envergonhado					
inspirado						à vontade					
sem medo						apavorado					
aborrecido consigo						sonado					
triste						com raiva de si					
calmo						entusiasmado					
com medo						deprimido					
cansado						encabulado					
pasmado, assombrado						aflito					
trêmulo						culpável,					
feliz						determinado					
tímido						assustado					
sozinho						admirado,					
alerta						interessado					
chateado						detestando,					
zangado						confiante					
audacioso						cheio de energia					
melancólico						concentrado					
acanhado						descontente					

Anexo 3 IDATE - ESCALA TRAÇO

Nome: _____ Data: _____

Leia cada pergunta e faça um círculo ao redor do número à direita da afirmação que melhor indicar como você **geralmente se sente**.

Não gaste muito tempo numa única afirmação, mas tente dar a resposta que mais se aproxime de como você **se sente geralmente**.

AVALIAÇÃO

1 = Quase nunca
2 = Às vezes

3 = Frequentemente
4 = Quase sempre

01.	Sinto-me bem	1	2	3	4
02.	Canso-me facilmente	1	2	3	4
03.	Tenho vontade de chorar	1	2	3	4
04.	Gostaria de poder ser tão feliz quanto os outros parecem ser	1	2	3	4
05.	Perco oportunidades porque não consigo tomar decisões rapidamente	1	2	3	4
06.	Sinto-me descansado	1	2	3	4
07.	Sinto-me calmo(a), ponderado(a) e senhor(a) de mim mesmo	1	2	3	4
08.	Sinto que as dificuldades estão se acumulando de tal forma que não as consigo resolver	1	2	3	4
09.	Preocupo-me demais com as coisas sem importância	1	2	3	4
10.	Sou feliz	1	2	3	4
11.	Deixo-me afetar muito pelas coisas	1	2	3	4
12.	Não tenho muita confiança em mim mesmo(a)	1	2	3	4
13.	Sinto-me seguro(a)	1	2	3	4
14.	Evito ter que enfrentar crises ou problemas	1	2	3	4
15.	Sinto-me deprimido(a)	1	2	3	4
16.	Estou satisfeito(a)	1	2	3	4
17.	Às vezes, idéias sem importância me entram na cabeça e ficam me preocupando	1	2	3	4
18.	Levo os desapontamentos tão a sério que não consigo tirá-los da cabeça	1	2	3	4
19.	Sou uma pessoa estável	1	2	3	4
20.	Fico tenso(a) e perturbado(a) quando penso em meus problemas do momento	1	2	3	4

Anexo 4

IDATE - ESCALA ESTADO

Nome: _____ Data: _____

Leia cada pergunta e faça um círculo ao redor do número à direita da afirmação que melhor indicar como você **se sente agora, neste momento.**
 Não gaste muito tempo numa única afirmação, mas tente dar a resposta que mais se aproxime de como você **se sente neste momento.**

AVALIAÇÃO

1 = Absolutamente não

3 = Bastante

2 = Um pouco

4 = Muito

01.	Sinto-me calmo(a)	1	2	3	4
02.	Sinto-me seguro(a)	1	2	3	4
03.	Estou tenso(a)	1	2	3	4
04.	Estou arrependido(a)	1	2	3	4
05.	Sinto-me à vontade	1	2	3	4
06.	Sinto-me perturbado(a)	1	2	3	4
07.	Estou preocupado(a) com possíveis infortúnios	1	2	3	4
08.	Sinto-me descansado(a)	1	2	3	4
09.	Sinto-me ansioso(a)	1	2	3	4
10.	Sinto-me "em casa"	1	2	3	4
11.	Sinto-me confiante	1	2	3	4
12.	Sinto-me nervoso(a)	1	2	3	4
13.	Estou agitado(a)	1	2	3	4
14.	Sinto-me uma pilha de nervos.	1	2	3	4
15.	Estou descontraído(a)	1	2	3	4
16.	Sinto-me satisfeito(a)	1	2	3	4
17.	Estou preocupado(a)	1	2	3	4
18.	Sinto-me superexcitado(a) e confuso(a)	1	2	3	4
19.	Sinto-me alegre	1	2	3	4
20.	Sinto-me bem	1	2	3	4

Anexo 5

Escala de Avaliação de Ansiedade de Hamilton (HAM-A)

Nome: _____ Data: _____

Escolha para cada item, segundo sua experiência, a nota que corresponde à intensidade do comportamento observado. As definições que acompanham o enunciado do item são exemplos para orientação. Todos os itens devem ser cotados seguindo o esquema:

- 0 – ausente**
- 1 – Intensidade ligeira**
- 2 – Intensidade média**
- 3 – Intensidade forte**
- 4 – Intensidade máxima (Incapacitante)**

1. Humor ansioso Inquietação, temor do pior, apreensão quanto ao presente ou futuro, maus pressentimentos, irritabilidade, etc.	()
2. Tensão Sensação de tensão, fadiga, reações de sobressalto, choro fácil, tremores, sensações de cansaço, incapacidade de relaxar, agitação.	()
3. Medos Do escuro, de estranhos, de ficar só, de animais de grande porte, do trânsito, de multidões, etc.	()
4. Insônia Dificuldade de adormecer, sono interrompido, sono insatisfatório, fadiga ao acordar, sonhos penosos, pesadelos, terror noturno, etc.	()
5. Dificuldades intelectuais Dificuldades de concentração, falhas de memória, etc.	()
6. Humor deprimido Perda de interesses, oscilação de humor, depressão, despertar precoce, etc.	()
7. Somatizações motoras Dores musculares, rigidez muscular, contrações espásticas, contrações involuntárias, ranger de dentes, voz insegura, etc.	()

Total Parcial ()

8. Somatizações sensoriais Ondas de frio ou calor, sensação de fraqueza, visão borrada, sensação de picadas, formigamento, sensações auditivas de ruído, zumbidos, etc.	()
9. Sintomas cardiovasculares Taquicardia, palpitações, dores no peito, sensação de desmaio, sensação de extra-sístoles, etc.	()
10. Sintomas respiratórios Pressão ou constricção no peito, dispnéia, respiração suspirosa, sensação de sufocação, etc.	()
11. Sintomas gastrintestinais Deglutição difícil, aerofagia, dispepsia, sensação de plenitude, dor pré ou pós prandial, pirose, meteorismo, náusea, vômitos, sensação de vazio gástrico, diarreia ou constipação, cólicas	()
12. Sintomas geniturinários Polaciúria, urgência de micção, amenorréia, menorragia, frigidez, ejaculação precoce, ereção incompleta, impotência, diminuição da libido, etc.	()
13. Sintomas neurovegetativos Boca seca, palidez, ruborização, tendência à sudação, tonturas, cefaléia de tensão, etc.	()
14. Comportamento durante a entrevista Geral: tenso, pouco à vontade, inquieto, agitação das mãos (mexer, retorcer, cacoetes e tremores), franzir a testa, face tensa Fisiológico: engolir a saliva, eructações, dilatação pupilar, sudação, respiração suspirosa, etc.	()

Total Geral ()

Anexo 6

ESCALA DE HAMILTON - DEPRESSÃO

Nome _____

Data ____/____/____

Todos os itens devem ser respondidos. Assinalar com um círculo o número apropriado.

1) HUMOR DEPRIMIDO (tristeza, desesperança, desamparo, inutilidade)

- 0 Ausente.
- 1 Sentimentos relatados apenas ao ser inquirido.
- 2 Sentimentos relatados espontaneamente, com palavras.
- 3 Comunica os sentimentos não com palavras, isto é, com a expressão facial, a postura, a voz e a tendência ao choro.
- 4 Sentimentos deduzidos da comunicação verbal e não verbal do paciente.

2) SENTIMENTOS DE CULPA

- 0 Ausentes.
- 1 Auto-recriminação; sente que decepcionou os outros.
- 2 Idéias de culpa ou ruminatórias sobre erros passados ou más ações.
- 3 A doença atual é um castigo. Delírio de culpa.
- 4 Ouve vozes de acusação ou denúncia e/ou tem alucinações visuais ameaçadoras.

3) SUICÍDIO

- 0 Ausente.
- 1 Sente que a vida não vale a pena.
- 2 Desejaria estar morto ou pensa na possibilidade de sua própria morte.
- 3 Idéias ou gestos suicidas.
- 4 Tentativa de suicídio (qualquer tentativa seria marcar 4).

4) INSÔNIA INICIAL

- 0 Sem dificuldade para conciliar o sono.
- 1 Queixa-se de dificuldade ocasional para conciliar o sono. Isto é, mais de meia hora.
- 2 Queixa-se de dificuldade para conciliar o sono todas as noites.

5) INSÔNIA INTERMEDIÁRIA

- 0 Sem dificuldade.
- 1 O paciente se queixa de inquietude e perturbação durante a noite.
- 2 Acorda à noite - qualquer saída da cama marcar 2 (exceto para urinar).

6) INSÔNIA TARDIA

- 0 Sem dificuldade.
- 1 Acorda de madrugada, mas volta a dormir.
- 2 Incapaz de voltar a conciliar o sono se deixar a cama.

7) TRABALHO E ATIVIDADES

- 0 Sem dificuldade.
- 1 Pensamentos e sentimentos de incapacidade; fadiga ou fraqueza relacionada a atividades (trabalho ou passatempos).
- 2 Perda de interesse por atividades (trabalho ou passatempos) - quer diretamente relatada pelo paciente, quer indiretamente, por desatenção, indecisão e vacilação (sente que precisa esforçar-se para o trabalho ou atividade).
- 3 Diminuição do tempo gasto em atividades ou queda de produtividade. No hospital, marcar 3 se o paciente não passar ao menos 3 horas por dia em atividades externas (trabalho hospitalar ou passatempos).
- 4 Parou de trabalhar devido à doença atual. No hospital, marcar 4 se o paciente não se ocupar de outras atividades além de pequenas tarefas do leito, ou for incapaz de realizá-las sem ajuda.

8) RETARDO (lentidão de idéias e fala; dificuldade de concentração; atividade motora diminuída)

- 0 Pensamento e fala normais.
- 1 Leve retardo à entrevista.
- 2 Retardo óbvio à entrevista.
- 3 Entrevista difícil.
- 4 Estupor completo.

9) AGITAÇÃO

- 0 Nenhuma.
- 1 Inquietude.
- 2 Brinca com as mãos, com os cabelos etc.
- 3 Mexe-se, não consegue sentar quieto.
- 4 Torce as mãos, rói as unhas, puxa os cabelos, morde os lábios.

10) ANSIEDADE PSÍQUICA

- 0 Sem dificuldade.
- 1 Tensão e irritabilidade subjetivas.
- 2 Preocupação com trivialidades.
- 3 Atitude apreensiva aparente no rosto ou na fala.
- 4 Medos expressos sem serem inquiridos.

11) ANSIEDADE SOMÁTICA

0 Ausente.	Concomitantes fisiológicos da ansiedade, tais como:
1 Leve.	Gastrintestinais: boca seca, flatulência, indigestão, diarreia, cólicas, eructações
2 Moderada.	Cardiovasculares: palpitações, cefaléias.
3 Grave.	Respiratórios: hiperventilação, suspiros.
4 Incapacitante.	Frequência urinária. Sudorese.

12) SINTOMAS SOMÁTICOS GASTRINTESTINAIS

- 0 Nenhum.
- 1 Perda de apetite, mas alimenta-se voluntariamente. Sensações de peso no abdome.
- 2 Dificuldade de comer se não insistirem. Solicita ou exige laxativos ou medicações para os intestinos ou para sintomas digestivos.

13) SINTOMAS SOMÁTICOS EM GERAL

- 0 Nenhum.
- 1 Peso nos membros, nas costas ou na cabeça. Dores nas costas, cefaléia, mialgias. Perda de energia e cansaço.
- 2 Qualquer sintoma bem caracterizado e nítido marcar 2.

14) SINTOMAS GENITAIS (Sintomas como: perda da libido, distúrbios menstruais.)

- 0 Ausentes.
- 1 Leves.
- 2 Intensos.

15) HIPOCONDRIA

- 0 Ausente.
- 1 Auto-observação aumentada (com relação ao corpo).
- 2 Preocupação com a saúde.
- 3 Queixas frequentes, pedidos de ajuda, etc.
- 4 Idéias delirantes, hipocondríacas.

16) PERDA DE PESO (Marcar A ou B)

A. Quando avaliada pela história clínica.

- 0 Sem perda de peso.
- 1 Provável perda de peso associada à moléstia atual.
- 2 Perda de peso definida (de acordo com o paciente).
- 3 Não avaliada.

B. Avaliada semanalmente pelo psiquiatra responsável, quando são medidas alterações reais de peso.

- 0 Menos que 0,5 Kg de perda por semana.
- 1 Mais que 0,5 Kg de perda por semana.
- 2 Mais que 1,0 Kg de perda por semana.
- 3 Não avaliada.

17) CONSCIÊNCIA

- 0 Reconhece que está deprimido e doente.
- 1 Reconhece a doença, mas atribui-lhe causa à má alimentação, ao clima, ao excesso de trabalho, à vírus, à necessidade de repouso etc.
- 2 Nega estar doente.

18) VARIAÇÃO DIURNA

A. Observar se os sintomas são piores pela manhã ou à tarde. Caso NÃO haja variação, marcar “nenhuma”.

- 0 Nenhuma.
- 1 Pior de manhã.
- 2 Pior à tarde.

B. Quando presente, marcar a gravidade da variação. Marcar “nenhuma” caso NÃO haja variação.

- 0 Nenhuma.
- 1 Leve.
- 2 Grave.

Nota: caso haja variação diurna, só a contagem referente à sua gravidade (1 ou 2 pontos no item 18B) é que deve ser incluída na contagem final. O item 18A não deve ser computado.

19) DESPERSONALIZAÇÃO E PERDA DE NOÇÃO DE REALIDADE (Tais como: sensações de irrealidade, idéias niilistas).

- 0 Ausentes.
- 1 Leves.
- 2 Moderadas
- 3 Graves.
- 4 Incapacitantes.

20) SINTOMAS PARANÓIDES

- 0 Nenhum.
- 1 Desconfiança.
- 2 Idéias de referência.
- 3 Delírio de referência e perseguição.

21) SINTOMAS OBSESSIVOS E COMPULSIVOS

- 0 Nenhum.
- 1 Leves.
- 2 Graves.

SOMAR OS PONTOS OBTIDOS EM TODOS OS ITENS (EXCETO 18A)

CONTAGEM TOTAL: _____ **PONTOS** (Faixa de variação: 0 - 62 pontos)

NB: A aplicação da escala deve ser feita sempre pelo mesmo pesquisador.

Anexo 7

Escala de sintomas somáticos – ESS

Nome: _____ Data: _____

Avalie como você se sente em relação aos itens abaixo. Faça um círculo ao redor do número à direita da afirmação que melhor indicar **como você se sente agora, nesse momento**.

- 0** nada
- 1** muito pouco
- 2** pouco
- 3** moderadamente
- 4** muito
- 5** extremamente

1. Cansado	0	1	2	3	4	5
2. Fraco	0	1	2	3	4	5
3. Lento	0	1	2	3	4	5
4. Com dor ou peso na cabeça	0	1	2	3	4	5
5. Com tensão muscular	0	1	2	3	4	5
6. Com tremor	0	1	2	3	4	5
7. Com fome	0	1	2	3	4	5
8. Com sede	0	1	2	3	4	5
9. Com dificuldade de coordenação	0	1	2	3	4	5
10. Suando	0	1	2	3	4	5
11. Com palpitação	0	1	2	3	4	5
12. Com dificuldade de respirar	0	1	2	3	4	5
13. Agitado	0	1	2	3	4	5
14. Com vontade de urinar	0	1	2	3	4	5
15. Com náusea ou mal estar gástrico	0	1	2	3	4	5
16. Com boca seca	0	1	2	3	4	5
17. Com visão turva	0	1	2	3	4	5
18. Com tonturas	0	1	2	3	4	5
19. Com vontade de evacuar	0	1	2	3	4	5
20. Com formigamentos	0	1	2	3	4	5

Anexo 8

Escala de avaliação do experimento – ANA

NOME: _____ **DATA:** ____/____/____

INSTRUÇÕES

1. Responda abaixo colocando um traço vertical na linha de resposta.
2. Considere a linha como o representando a gama completa de cada dimensão.
3. Coloque um traço vertical na posição que melhor se ajusta ao que você sentiu.
4. Considere os extremos da linha como a sensação máxima.

DAS EXPERIÊNCIAS QUE VOCÊ TEVE DE FALAR EM PÚBLICO AO LONGO DE SUA VIDA, COMO VOCÊ SE SENTIU NAQUELAS OCASIÕES:

ANSIOSO		CALMO
SUANDO MUITO		SUANDO POUCO
COM O CORAÇÃO POUCO ACELERADO		COM O CORAÇÃO MUITO ACELERADO
À VONTADE		DESCONFORTÁVEL
CONCENTRAÇÃO FÁCIL		DIFICULDADE DE CONCENTRAÇÃO
PREOCUPADO		INDIFERENTE
SEM TREMOR		TREMENDO MUITO

COMO VOCÊ SE SENTIU HOJE EM RELAÇÃO À EXPERIÊNCIA DE FALAR EM PÚBLICO (DESCONSidere OS DEMAIS PROCEDIMENTOS COMO COLETA DE SANGUE, ETC):

ANSIOSO		CALMO
SUANDO MUITO		SUANDO POUCO
COM O CORAÇÃO POUCO ACELERADO		COM O CORAÇÃO MUITO ACELERADO
À VONTADE		DESCONFORTÁVEL
CONCENTRAÇÃO FÁCIL		DIFICULDADE DE CONCENTRAÇÃO
PREOCUPADO		INDIFERENTE
SEM TREMOR		TREMENDO MUITO

COMPARE A EXPERIÊNCIA DA FALAR EM PÚBLICO DE HOJE COM A QUE VOCÊ CONSIDEROU A PIOR OU A MAIS DIFÍCIL QUE VOCÊ JÁ TEVE DURANTE SUA VIDA:

MELHOR QUE NA NA EXPERIÊNCIA ANTERIOR		PIOR QUE NA EXPERIÊNCIA ANTERIOR
---	--	-------------------------------------

Anexo 9

INVENTÁRIO DE DEPRESSÃO DE BECK

Nome: _____ Data: ____ / ____ / ____

Este questionário consiste em 21 grupos de afirmações. Depois de ler cuidadosamente cada grupo, faça um círculo em torno do número (0, 1, 2, ou 3) próximo à afirmação, em cada grupo, que descreva melhor como você tem se sentido na última semana, incluindo hoje. Se várias afirmações num grupo parecerem se aplicar igualmente bem, faça um círculo em cada uma. Tome o cuidado de ler todas as afirmações, em cada grupo, antes de fazer a sua escolha.

1. 0 Não me sinto triste.
 1 Eu me sinto triste.
 2 Estou sempre triste e não consigo sair disso.
 3 Estou tão triste ou infeliz que não consigo suportar.
2. 0 Não estou especialmente desanimado quanto ao futuro.
 1 Eu me sinto desanimado quanto ao futuro.
 2 Acho que nada tenho a esperar.
 3 Acho o futuro sem esperança e tenho a impressão de que as coisas não podem melhorar.
3. 0 Não me sinto um fracasso.
 1 Acho que fracassei mais do que uma pessoa comum.
 2 Quando olho para trás, na minha vida, tudo que posso ver é um monte de fracassos.
 3 Acho que, como pessoa, sou um completo fracasso.
4. 0 Tenho tanto prazer em tudo como antes.
 1 Não sinto mais prazer nas coisas como antes.
 2 Não encontro um prazer real em mais nada.
 3 Estou insatisfeito ou aborrecido com tudo.
5. 0 Não me sinto especialmente culpado.
 1 Eu me sinto culpado grande parte do tempo.
 2 Eu me sinto culpado na maior parte do tempo.
 3 Eu me sinto sempre culpado.
6. 0 Não acho que esteja sendo punido.
 1 Acho que posso ser punido.
 2 Creio que vou ser punido.
 3 Acho que estou sendo punido.
7. 0 Não me sinto decepcionado comigo mesmo.
 1 Estou decepcionado comigo mesmo.
 2 Estou enojado de mim.
 3 Eu me odeio.
8. 0 Não me sinto de qualquer modo pior que os outros.
 1 Sou crítico em relação a mim por minhas fraquezas ou erros.
 2 Eu me culpo sempre por minhas falhas.
 3 Eu me culpo por tudo de mal que acontece.
9. 0 Não tenho quaisquer idéias de me matar.
 1 Tenho idéias de me matar mas não as executaria.
 2 Gostaria de me matar.
 3 Eu me mataria se tivesse oportunidade.
10. 0 Não choro mais que o habitual.
 1 Choro mais agora do que costumava.
 2 Agora, choro o tempo todo.
 3 Costumava ser capaz de chorar, mas agora não consigo mesmo que o queira.

11. 0 Não sou mais irritado agora do que já fui.
1 Fico molestado ou irritado mais facilmente do que costumava.
2 Atualmente sinto-me irritado o tempo todo.
3 Absolutamente não me irrita com as coisas que costumavam irritar-me.
12. 0 Não perdi o interesse nas outras pessoas.
1 Interesse-me menos do que costumava pelas outras pessoas.
2 Perdi a maior parte do meu interesse nas outras pessoas.
3 Perdi todo o meu interesse nas outras pessoas.
13. 0 Tomo decisões mais ou menos tão bem como em outra época.
1 Adio minhas decisões mais do que costumava.
2 Tenho maior dificuldade em tomar decisões do que antes.
3 Não consigo mais tomar decisões.
14. 0 Não sinto que minha aparência seja pior do que costumava ser.
1 Preocupo-me por estar parecendo velho ou sem atrativos.
2 Sinto que há mudanças permanentes em minha aparência que me fazem parecer sem atrativos.
3 Considero-me feio.
15. 0 Posso trabalhar mais ou menos tão bem quanto antes.
1 Preciso de um esforço extra para começar qualquer coisa.
2 Tenho que me esforçar muito até fazer qualquer coisa.
3 Não consigo fazer nenhum trabalho.
16. 0 Durmo tão bem quanto de hábito.
1 Não durmo tão bem quanto costumava.
2 Acordo uma ou duas horas mais cedo do que de hábito e tenho dificuldade de voltar a dormir.
3 Acordo várias horas mais cedo do que costumava e tenho dificuldades de voltar a dormir.
17. 0 Não fico mais cansado que de hábito.
1 Fico cansado com mais facilidade do que costumava.
2 Sinto-me cansado ao fazer quase qualquer coisa.
3 Estou cansado demais para fazer qualquer coisa.
18. 0 Meu apetite não está pior do que de hábito.
1 Meu apetite não é tão bom quanto costumava ser.
2 Meu apetite está muito pior agora.
3 Não tenho mais nenhum apetite.
19. 0 Não perdi muito peso se é que perdi alguma ultimamente.
1 Perdi mais de 2,5 Kg.
2 Perdi mais de 5,0 Kg.
3 Perdi mais de 7,5 Kg.
Estou deliberadamente tentando perder peso, comendo menos: SIM () NÃO ()
20. 0 Não me preocupo mais que o de hábito com minha saúde.
1 Preocupo-me com problemas físicos como dores e aflições ou perturbações no estômago ou prisão de ventre.
2 Estou muito preocupado com problemas físicos e é difícil pensar em muito mais que isso.
3 Estou tão preocupado com meus problemas físicos que não consigo pensar em outra coisa.
21. 0 Não tenho observado qualquer mudança recente em meu interesse sexual.
1 Estou menos interessado por sexo que costumava.
2 Estou bem menos interessado em sexo atualmente.
3 Perdi completamente o interesse por sexo.

Anexo 10

Escala de Percepção de Estresse

Nome: _____

Data: _____

As questões nessa escala perguntam acerca de seus sentimentos e pensamentos durante o último mês. Em cada caso, lhe será pedido que indique *com que frequência* você se sentiu ou pensou de certa maneira. Embora algumas das questões sejam semelhantes, existem diferenças entre elas e você deve tratar cada uma como uma questão separada. A melhor abordagem é responder cada questão rapidamente. Isso significa que você não deve contar quantas vezes sentiu-se de determinada maneira mas sim indicar a alternativa que represente uma boa estimativa.

Para cada questão escolha a partir das seguintes alternativas:

- 0 nunca**
- 1 quase nunca**
- 2 às vezes**
- 3 freqüentemente**
- 4 muito freqüentemente**

1. No último mês, com que frequência você ficou contrariado por causa de algo que aconteceu inesperadamente?	0 1 2 3 4
2. No último mês, com que frequência você se sentiu incapaz de controlar as coisas importantes de sua vida?	0 1 2 3 4
3. No último mês, com que frequência você se sentiu nervoso e “estressado(o)”?	0 1 2 3 4
4. No último mês, com que frequência você se sentiu confiante em sua habilidade em lidar com problemas pessoais?	0 1 2 3 4
5. No último mês, com que frequência você sentiu que as coisas estavam acontecendo como você desejava?	0 1 2 3 4
6. No último mês, com que frequência você achou que não podia lidar com todas as coisas que tinha que fazer?	0 1 2 3 4
7. No último mês, com que frequência você foi capaz de controlar irritações em sua vida?	0 1 2 3 4
8. No último mês, com que frequência você sentiu que estava por cima?	0 1 2 3 4
9. No último mês, com que frequência você ficou com raiva por causa de coisas que ocorreram que estavam fora de seu controle?	0 1 2 3 4
10. No último mês, com que frequência você sentiu que havia tantas dificuldades se acumulando que você não podia superá-las?	0 1 2 3 4

Anexo 11

TCI

Neste encarte você encontrará afirmações que as pessoas usam para descrever suas ações, opiniões, interesses e outros sentimentos pessoais.

Cada afirmação pode ser respondida como **VERDADEIRO** ou **FALSO**. Leia as afirmações e decida qual alternativa descreve melhor você. Tente descrever como você **NORMALMENTE** ou **GERALMENTE** age e sente e não apenas como você está se sentindo exatamente agora.

COMO RESPONDER O QUESTIONÁRIO

Para responder cada questão, basta fazer um círculo ao redor da letra V, que significa VERDADEIRO, ou da letra F, que significa FALSO, no número correspondente à questão.

Nós pedimos que você traga na sua próxima vinda ao hospital.

Leia cada frase com atenção, mas não perca tempo demais para decidir a resposta.

Responda **TODAS** as questões, mesmo que você não tenha certeza se a resposta melhor é **VERDADEIRO** ou **FALSO**.

Lembre-se, não há respostas certas ou erradas – apenas descreva suas opiniões pessoais e sentimentos.

- V F **1.** Muitas vezes tento coisas novas apenas por divertimento ou emoção, mesmo que a maioria das pessoas ache isso uma perda de tempo.
- V F **2.** Em geral sou confiante que tudo vai dar certo, mesmo em situações que deixam muitas pessoas preocupadas.
- V F **3.** Muitas vezes fico profundamente comovido por uma fala delicada ou por uma poesia.
- V F **4.** Muitas vezes sinto que sou vítima das circunstâncias.
- V F **5.** Em geral consigo aceitar as pessoas como elas são, mesmo quando são muito diferentes de mim.
- V F **6.** Acredito que milagres acontecem.
- V F **7.** Gosto de me vingar de quem me agride.
- V F **8.** Muitas vezes, quando estou concentrado em alguma coisa, perco a noção da passagem do tempo.
- V F **9.** Muitas vezes sinto que minha vida tem pouco propósito ou sentido.
- V F **10.** Gosto de ajudar a encontrar soluções para problemas para que todo mundo possa seguir em frente.
- V F **11.** Eu provavelmente conseguiria realizar mais do que faço, mas não vejo finalidade para me esforçar mais do que o necessário para ir levando.
- V F **12.** Muitas vezes me sinto tenso e preocupado em situações novas, mesmo quando os outros acham que há pouco com o que se preocupar.
- V F **13.** Muitas vezes faço as coisas baseado em como me sinto no momento, sem pensar em como elas eram feitas no passado.
- V F **14.** Geralmente faço as coisas à minha maneira — ao contrário de ceder às vontades das outras pessoas.
- V F **15.** Muitas vezes me sinto tão ligado às pessoas ao meu redor que é como se não houvesse separação entre nós.
- V F **16.** Em geral não gosto de pessoas que tenham idéias diferentes de mim.
- V F **17.** Na maioria das situações minhas reações naturais são baseadas em bons hábitos que eu tenha desenvolvido.
- V F **18.** Eu faria praticamente qualquer coisa dentro da lei para me tornar rico e famoso, mesmo que perdesse a confiança de muitos dos velhos amigos.
- V F **19.** Sou muito mais reservado e controlado do que a maioria das pessoas.

- V F **20.** Com frequência tenho que parar o que estou fazendo porque começo a me preocupar sobre o que pode estar errado.
- V F **21.** Gosto de discutir abertamente minhas experiências e sentimentos com meus amigos ao invés de guardá-los comigo.
- V F **22.** Tenho menos energia e me canso mais rapidamente do que a maioria das pessoas.
- V F **23.** Muitas vezes sou chamado de “distraído”, pois fico tão envolvido no que estou fazendo que perco de vista todo o resto.
- V F **24.** Raramente me sinto livre para escolher o que quero fazer.
- V F **25.** Muitas vezes levo em consideração os sentimentos dos outros tanto quanto os meus próprios.
- V F **26.** Na maior parte do tempo eu preferiria fazer alguma coisa um pouco arriscada (como correr de automóvel em descidas muito altas e curvas fechadas) ao contrário de ficar quieto e inativo por algumas horas.
- V F **27.** Muitas vezes evito encontrar estranhos porque fico inseguro com pessoas que não conheço.
- V F **28.** Gosto de agradar os outros o tanto quanto posso.
- V F **29.** Gosto muito mais das maneiras “antigas e comprovadas” de fazer as coisas do que experimentar maneiras “novas e melhoradas”.
- V F **30.** Em geral não sou capaz de fazer as coisas segundo a prioridade que elas têm para mim devido à falta de tempo.
- V F **31.** Frequentemente faço coisas para ajudar a proteger animais e plantas da extinção.
- V F **32.** Muitas vezes gostaria de ser mais esperto que todos os outros.
- V F **33.** Me dá satisfação ver meus inimigos sofrerem.
- V F **34.** Gosto de ser muito organizado e , sempre que posso, estabelecer regras para as pessoas.
- V F **35.** É difícil para mim manter os mesmos interesses por muito tempo porque minha atenção frequentemente se desloca para outras coisas.
- V F **36.** Pela repetição de certas práticas adquirir bons hábitos que são mais fortes que muitos impulsos momentâneos ou que a persuasão.
- V F **37.** Em geral sou tão determinado que continuo a trabalhar muito depois de várias pessoas terem desistido.
- V F **38.** Fico fascinado por muitas coisas na vida que não podem ser explicadas cientificamente.
- V F **39.** Tenho inúmeros maus hábitos que gostaria de poder superar.
- V F **40.** Muitas vezes espero que alguém providencie uma solução para meus problemas.
- V F **41.** Com frequência gasto dinheiro até “ficar liso” ou então ficar cheio de dívidas.
- V F **42.** Acho que terei muita sorte no futuro.
- V F **43.** Recupero-me mais devagar de pequenas doenças ou do estresse do que a maioria das pessoas.
- V F **44.** Não me aborreceria de ficar sozinho o tempo todo.
- V F **45.** Muitas vezes tenho lampejos inesperados da clareza de algo ou intuições enquanto estou descansando.
- V F **46.** Não me importa muito se os outros gostam de mim ou da maneira como faço as coisas.
- V F **47.** Em geral tento conseguir o que quero para mim mesmo pois, de qualquer modo, não é possível satisfazer a todos.
- V F **48.** Não tenho paciência com pessoas que não aceitam minhas opiniões.
- V F **49.** Acho que não compreendo muito bem as pessoas.
- V F **50.** 50 - Não é preciso ser desonesto para ter sucesso nos negócios.
- V F **51.** Algumas vezes me sinto tão ligado à natureza que tudo parece fazer parte de um único organismo vivo.
- V F **52.** Nas conversas me saio muito melhor ouvindo do que falando.
- V F **53.** Perco a paciência mais depressa do que a maioria das pessoas.
- V F **54.** Quando tenho que encontrar um grupo de estranhos, fico mais tímido que a maioria das pessoas.
- V F **55.** Sou mais sentimental que a maioria das pessoas.
- V F **56.** Pareço ter um “sexto sentido” que algumas vezes me permite saber o que está para acontecer.
- V F **57.** Quando alguém me machuca de alguma forma, geralmente tento revidar.
- V F **58.** Minhas atitudes são em grande parte determinadas por influências fora do meu controle.

- V F **59.** A cada dia procuro dar mais um passo em direção aos meus objetivos.
- V F **60.** Muitas vezes gostaria de ser mais forte do que todos os outros.
- V F **61.** Gosto de pensar a respeito das coisas por um longo tempo antes de tomar uma decisão.
- V F **62.** Sou mais trabalhador do que muita gente.
- V F **63.** Muitas vezes preciso tirar um cochilo ou um período de descanso extra, pois me canso facilmente.
- V F **64.** Gosto de ser útil aos outros.
- V F **65.** Mesmo que exista algum problema temporário que eu precise resolver, eu sempre acho que tudo acabará bem.
- V F **66.** É difícil para mim gostar de gastar dinheiro comigo, mesmo tendo economizado bastante.
- V F **67.** Em geral fico calmo e seguro em situações que para muitas pessoas representariam perigo físico.
- V F **68.** Gosto de guardar meus problemas para mim mesmo.
- V F **69.** Não me importo em discutir meus problemas pessoais com pessoas que conheci há pouco tempo ou superficialmente.
- V F **70.** Gosto mais de ficar em casa do que viajar ou conhecer novos lugares.
- V F **71.** Não acho que seja inteligente ajudar pessoas fracas que não podem ajudar-se elas mesmas.
- V F **72.** Não consigo ficar com a consciência tranqüila se eu tratar outras pessoas injustamente, mesmo que sejam injustas comigo.
- V F **73.** As pessoas geralmente me dizem como se sentem.
- V F **74.** Muitas vezes gostaria de ficar jovem para sempre.
- V F **75.** Normalmente fico mais aborrecido pela perda de um grande amigo do que a maioria das pessoas.
- V F **76.** Algumas vezes me senti como se fizesse parte de algo sem limites ou fronteiras no tempo e no espaço.
- V F **77.** Algumas vezes sinto uma ligação espiritual com outras pessoas que não posso explicar em palavras.
- V F **78.** Tento ser atencioso aos sentimentos dos outros, mesmo que eles tenham sido injustos comigo no passado.
- V F **79.** Gosto quando as pessoas podem fazer tudo o que querem sem regras rígidas ou regulamentos.
- V F **80.** Provavelmente ficaria descontraído e seguro ao encontrar um grupo de estranhos, mesmo se eu fosse comunicado que eles não eram cordiais.
- V F **81.** Normalmente fico mais preocupado que alguma coisa possa dar errado no futuro do que a maioria das pessoas.
- V F **82.** Em geral penso sobre todos os fatos detalhadamente antes de tomar uma decisão.
- V F **83.** Acho mais importante ser simpático e compreensivo com os outros do que ser prático e racional.
- V F **84.** Muitas vezes sinto uma forte sensação de unidade com tudo que está ao meu redor.
- V F **85.** Muitas vezes gostaria de ter poderes especiais como o Super-Homem.
- V F **86.** As pessoas me controlam demais.
- V F **87.** Gosto de compartilhar o que aprendi com outras pessoas.
- V F **88.** As experiências religiosas me ajudaram a compreender o verdadeiro propósito de minha vida.
- V F **89.** Frequentemente aprendo muito com as pessoas.
- V F **90.** A repetição de certas práticas tem me permitido ficar bom em muitas coisas que me ajudam a ser bem sucedido.
- V F **91.** Em geral consigo fazer os outros acreditarem em mim, mesmo quando sei que o que estou dizendo é exagerado ou mentiroso.
- V F **92.** Preciso de muito descanso extra, de apoio ou de que me transmitam confiança para me recuperar de pequenas doenças ou tensões.
- V F **93.** Sei que há regras no modo de viver que ninguém pode violar sem que venha a sofrer mais tarde.
- V F **94.** Não quero ser mais rico do que todos.
- V F **95.** Eu arriscaria de bom grado a própria vida para fazer do mundo um lugar melhor.
- V F **96.** Mesmo depois de pensar a respeito de alguma coisa por um longo tempo, aprendi a

confiar mais nos meus sentimentos do que em minhas razões lógicas.

- V F **97.** Algumas vezes senti que minha vida estava sendo dirigida por uma força espiritual maior do que qualquer ser humano.
- V F **98.** Em geral gosto de ser mau com quem foi mau comigo.
- V F **99.** Tenho reputação de ser muito prático e de não agir pelas emoções.
- V F **100.** É fácil para mim organizar meus pensamentos enquanto falo com alguém.
- V F **101.** Muitas vezes reajo tão fortemente à notícias inesperadas que digo ou faço coisas de que me arrependo.
- V F **102.** Fico profundamente comovido por apelos sentimentais (por exemplo, quando me pedem para ajudar crianças aleijadas).
- V F **103.** Normalmente me esforço muito mais do que a maioria das pessoas, pois quero sempre fazer o melhor de que sou capaz.
- V F **104.** Tenho tantos defeitos que não gosto muito de mim.
- V F **105.** Tenho pouquíssimo tempo para procurar soluções a longo prazo para meus problemas.
- V F **106.** Muitas vezes não posso lidar com os problemas porque não sei o que fazer.
- V F **107.** Muitas vezes gostaria de poder parar o tempo.
- V F **108.** Odeio tomar decisões baseadas somente em minhas primeiras impressões.
- V F **109.** Prefiro gastar dinheiro do que economizá-lo.
- V F **110.** Normalmente tenho facilidade em exagerar a verdade para contar uma história mais engraçada ou fazer uma piada com alguém.
- V F **111.** Mesmo havendo problemas numa amizade, quase sempre tento mantê-la apesar de tudo.
- V F **112.** Se eu ficar embaraçado ou humilhado, supero isso rapidamente.
- V F **113.** É extremamente difícil ajustar-me a mudanças em minha forma costumeira de fazer as coisas porque fico muito tenso, cansado ou preocupado.
- V F **114.** Normalmente exijo razões práticas muito boas antes de aceitar mudar minhas antigas maneiras de fazer as coisas.
- V F **115.** Preciso muito da ajuda dos outros para me treinar a adquirir bons hábitos.
- V F **116.** Acho que percepção extrasensorial (PES, como telepatia ou premonição) é realmente possível.
- V F **117.** Gostaria de ter amigos próximos e calorosos ao meu lado a maior parte do tempo.
- V F **118.** Com freqüência fico tentando a mesma coisa repetidas vezes, mesmo não tendo tido muito sucesso por um longo tempo.
- V F **119.** Quase sempre estou relaxado e despreocupado, mesmo quando quase todos estão com medo.
- V F **120.** Acho filmes e canções tristes um tanto chatos.
- V F **121.** As circunstâncias muitas vezes me forçam a fazer coisas contra a minha vontade.
- V F **122.** Sinto dificuldade em tolerar pessoas que sejam diferentes de mim.
- V F **123.** Acho que a maioria das coisas tidas como milagres são apenas acaso.
- V F **124.** Eu gostaria mais de ser gentil do que me vingar quando alguém me agride.
- V F **125.** Muitas vezes fico tão encantado com o que estou fazendo que fico totalmente concentrado naquilo - é como se eu estivesse “desligado” do tempo e do espaço.
- V F **126.** Não acho que eu tenha um verdadeiro sentido de objetivo para minha vida.
- V F **127.** Tento cooperar com os outros tanto quanto é possível.
- V F **128.** Estou satisfeito com as minhas realizações e tenho pouco desejo de fazer melhor.
- V F **129.** Muitas vezes me sinto tenso e preocupado em situações desconhecidas, mesmo quando os outros acham que não há risco algum.
- V F **130.** Muitas vezes sigo meus instintos, palpites ou intuições sem examinar completamente todos os detalhes.
- V F **131.** As outras pessoas muitas vezes acham que sou independente demais porque não faço o que elas querem.
- V F **132.** Muitas vezes sinto uma forte ligação espiritual ou emocional com todos que me cercam.
- V F **133.** Em geral é fácil para mim gostar de pessoas que tenham valores diferentes dos meus.
- V F **134.** Tento trabalhar o mínimo possível, mesmo quando os outros esperam mais de mim.
- V F **135.** Ter bons hábitos tornou-se uma “segunda natureza” em mim — eles são ações

expontâneas e automáticas quase que o tempo todo.

- V F **136.** Não me preocupa o fato de que, muitas vezes, os outros sabem mais do que eu a respeito de alguma coisa.
- V F **137.** Em geral tento me imaginar no lugar da outra pessoa, para poder realmente compreendê-la.
- V F **138.** Princípios como justiça e honestidade desempenham papel pequeno em alguns aspectos da minha vida.
- V F **139.** Sei economizar dinheiro melhor que a maioria das pessoas.
- V F **140.** Raramente deixo-me aborrecer ou frustrar: quando as coisas não vão bem, simplesmente passo para outras atividades.
- V F **141.** Mesmo quando os outros acham que isso não é importante, freqüentemente insisto em fazer as coisas de modo rigoroso e ordeiro.
- V F **142.** Sinto-me muito confiante e seguro em quase todas as situações sociais.
- V F **143.** Meus amigos têm dificuldades em saber como me sinto porque raramente lhes falo a respeito das minhas opiniões pessoais.
- V F **144.** Odeio mudar meu modo de fazer as coisas, mesmo se muita gente me diz que há um modo novo e melhor de fazê-las.
- V F **145.** Acho tolice acreditar em coisas que não podem ser explicadas cientificamente.
- V F **146.** Gosto de imaginar meus inimigos sofrendo.
- V F **147.** Tenho mais energia e demoro mais a cansar do que a maioria das pessoas.
- V F **148.** Gosto de prestar muita atenção aos detalhes em tudo o que faço.
- V F **149.** Muitas vezes paro o que estou fazendo porque fico preocupado, mesmo quando meus amigos me dizem que tudo vai dar certo.
- V F **150.** Muitas vezes gostaria de ser mais poderoso do que todo mundo.
- V F **151.** Em geral sou livre para escolher o que vou fazer.
- V F **152.** Com freqüência fico tão envolvido no que estou fazendo que, por algum tempo, esqueço de onde estou .
- V F **153.** Membros de uma equipe raramente recebem sua parte justa.
- V F **154.** Na maior parte do tempo, eu preferiria fazer alguma coisa arriscada (como saltar de pára-quedas ou voar de asa delta) do que ficar quieto e inativo por algumas horas.
- V F **155.** Como eu, freqüentemente, gasto muito dinheiro impulsivamente, fica difícil para mim economizar dinheiro, mesmo para algum projeto especial como umas férias.
- V F **156.** Não saio do meu caminho para favorecer outra pessoa.
- V F **157.** Não fico tímido com estranhos de jeito nenhum.
- V F **158.** Freqüentemente cedo aos desejos dos amigos.
- V F **159.** Gasto a maior parte do tempo fazendo coisas que parecem necessárias mas não realmente importantes para mim.
- V F **160.** Não acho que princípios religiosos ou éticos acerca do que é certo ou errado devam ter muita influência em decisões de negócio.
- V F **161.** Muitas vezes tento colocar de lado meus próprios julgamentos, de modo que eu consiga compreender melhor o que as outras pessoas estão vivenciando.
- V F **162.** Muitos dos meus hábitos tornam difícil para mim realizar objetivos que valem a pena.
- V F **163.** Tenho feito verdadeiros sacrifícios pessoais com a intenção de fazer do mundo um lugar melhor - como tentar evitar guerras, pobreza e injustiças.
- V F **164.** Nunca me preocupo com coisas terríveis que poderiam acontecer no futuro.
- V F **165.** Quase nunca fico tão agitado a ponto de perder o controle.
- V F **166.** Muitas vezes desisto de um trabalho se ele demora muito mais do que pensei que fosse demorar.
- V F **167.** Prefiro começar uma conversa do que ficar esperando que os outros falem comigo.
- V F **168.** Na maior parte do tempo perdôo logo qualquer um que tenha agido errado comigo.
- V F **169.** As minhas ações são em grande parte determinadas por influências fora do meu controle.
- V F **170.** Muitas vezes tenho de mudar minhas decisões, porque eu tivera um palpite falso ou me enganara em minha primeira impressão.
- V F **171.** Prefiro esperar que alguém tome a iniciativa e indique o modo de fazer as coisas.
- V F **172.** Em geral respeito as opiniões dos outros.
- V F **173.** Tive algumas experiências que tornaram meu papel na vida tão claro para mim que me

senti muito entusiasmado e feliz.

- V F **174.** Me divirto em comprar coisas para mim.
- V F **175.** Acredito ter eu mesmo experimentado a percepção extrasensorial.
- V F **176.** Acredito que meu cérebro não esteja funcionando adequadamente.
- V F **177.** Meu comportamento é fortemente guiado por certos objetivos que estabeleci para minha vida.
- V F **178.** De modo geral é tolice promover o sucesso de outras pessoas.
- V F **179.** Muitas vezes gostaria de poder viver para sempre.
- V F **180.** Normalmente gosto de ficar indiferente e “desligado” das outras pessoas.
- V F **181.** É mais provável eu chorar em um filme triste do que a maioria das pessoas.
- V F **182.** Recupero-me de pequenas doenças ou estresse mais rapidamente do que a maioria das pessoas.
- V F **183.** Muitas vezes quebro regras e regulamentos quando acho que posso me safar bem disso.
- V F **184.** Preciso exercitar muito mais o desenvolvimento de bons hábitos antes que seja capaz de confiar em mim mesmo em diversas situações tentadoras.
- V F **185.** Gostaria que as pessoas não falassem tanto quanto falam.
- V F **186.** Todos deveriam ser tratados com dignidade e respeito, mesmo que eles pareçam ser insignificantes ou maus.
- V F **187.** Gosto de tomar decisões rápidas para que eu possa levar adiante o que tem que ser feito.
- V F **188.** Em geral tenho sorte em tudo o que tento fazer.
- V F **189.** Em geral, estou certo de que posso facilmente fazer coisas que muitas pessoas considerariam perigosas (como, por exemplo, dirigir um automóvel em alta velocidade numa pista molhada ou escorregadia).
- V F **190.** Não vejo sentido em continuar trabalhando em algo a não ser que haja uma grande possibilidade de que dê certo.
- V F **191.** Gosto de explorar novas maneiras de fazer as coisas.
- V F **192.** Gosto mais de economizar dinheiro do que gastá-lo com divertimentos ou emoções.
- V F **193.** Os direitos individuais são mais importantes do que as necessidades de qualquer grupo.
- V F **194.** Já tive experiências pessoais nas quais me senti em contato com um poder espiritual divino e maravilhoso.
- V F **195.** Já tive momentos de muita alegria nos quais subitamente tive uma sensação clara e profunda de estar intimamente ligado a tudo o que existe.
- V F **196.** Bons hábitos tornam mais fácil para mim fazer as coisas da maneira que quero.
- V F **197.** A maioria das pessoas parecem mais desembaraçadas do que eu.
- V F **198.** Os outros e as circunstâncias, muitas vezes, são os responsáveis por meus problemas.
- V F **199.** Tenho muito prazer em ajudar os outros, mesmo que eles tenham me tratado mal.
- V F **200.** Muitas vezes me sinto como parte da força espiritual da qual depende toda a vida.
- V F **201.** Mesmo quando estou com amigos, prefiro “não me abrir muito”.
- V F **202.** Em geral posso ficar ocupado o dia inteiro sem ter que me forçar a isso.
- V F **203.** Quase sempre penso a respeito de todos os fatos detalhadamente antes de tomar uma decisão, mesmo quando as pessoas exigem uma decisão rápida.
- V F **204.** Não sou muito bom em me justificar para me livrar das enrascadas quando sou apanhado fazendo algo errado.
- V F **205.** Sou mais perfeccionista que a maioria das pessoas.
- V F **206.** O fato de algo estar certo ou errado é apenas uma questão de opinião.
- V F **207.** Acho que minhas reações naturais são agora, em geral, condizentes com meus princípios e meus objetivos de longo prazo.
- V F **208.** Acredito que toda vida depende de algum poder ou ordem espiritual que não pode ser completamente explicada.
- V F **209.** Acho que eu ficaria confiante e relaxado ao encontrar estranhos, mesmo se eu fosse informado que eles estão zangados comigo.
- V F **210.** As pessoas acham fácil recorrer a mim em busca de ajuda, apoio e um “ombro amigo”.
- V F **211.** Demoro mais que a maioria das pessoas para me empolgar com novas idéias e atividades.

- V F **212.** Tenho problemas em mentir, mesmo quando pretendo poupar os sentimentos de alguém.
- V F **213.** Existem algumas pessoas de quem eu não gosto.
- V F **214.** Não quero ser mais admirado do que todos os outros.
- V F **215.** Muitas vezes quando olho alguma coisa comum, ocorre algo maravilhoso — tenho a sensação de estar vendo essa novidade pela primeira vez.
- V F **216.** A maioria das pessoas que conheço preocupam-se apenas com elas mesmas, não importa quem fique ferido.
- V F **217.** Em geral me sinto tenso e preocupado quando tenho que fazer algo novo e desconhecido.
- V F **218.** Muitas vezes me esforço ao ponto da exaustão ou tento fazer mais do que realmente posso.
- V F **219.** Algumas pessoas acham que eu sou muito avarento ou pão-duro com meu dinheiro.
- V F **220.** Relatos de experiências místicas são provavelmente apenas interpretações de desejos ou esperanças.
- V F **221.** Minha força de vontade é fraca demais para vencer as fortes tentações mesmo sabendo que sofrerei as conseqüências.
- V F **222.** Odeio ver alguém sofrer.
- V F **223.** Sei o que quero fazer na minha vida.
- V F **224.** Regularmente levo um tempo considerável avaliando se o que estou fazendo é certo ou errado.
- V F **225.** As coisas costumam dar errado para mim a menos que eu seja muito cuidadoso.
- V F **226.** Se estou me sentindo aborrecido, em geral me sinto melhor ao redor de amigos do que sozinho.
- V F **227.** Não acho que seja possível compartilhar sentimentos com alguém que não tenha passado pelas mesmas experiências.
- V F **228.** Muitas vezes as pessoas acham que estou em outro mundo porque fico completamente desligado de tudo que está acontecendo ao meu redor.
- V F **229.** Gostaria de ter aparência melhor do que todos os outros.
- V F **230.** Menti bastante nesse questionário.
- V F **231.** Geralmente evito situações sociais onde teria que encontrar estranhos, mesmo se estou seguro de que eles serão amigáveis.
- V F **232.** Adoro o desabrochar das flores na primavera tanto quanto adoro rever um velho amigo.
- V F **233.** Em geral encaro uma situação difícil como um desafio ou oportunidade
- V F **234.** As pessoas envolvidas comigo precisam aprender como fazer as coisas do meu modo.
- V F **235.** A desonestidade só causa problemas se você for apanhado.
- V F **236.** Em geral me sinto muito mais confiante e com energia que a maioria das pessoas, mesmo depois de uma pequena doença ou estresse.
- V F **237.** Gosto de ler tudo quando me pedem para assinar qualquer papel.
- V F **238.** Quando nada de novo está acontecendo, geralmente, começo a procurar algo que seja emocionante ou excitante.
- V F **239.** Às vezes fico aborrecido.
- V F **240.** De vez em quando falo das pessoas “por traz”.

Anexo 12

Inventário de Estratégias de Coping de Folkman e Lazarus

Nome: _____ Data: _____

Leia cada item abaixo e indique, fazendo um círculo na categoria apropriada, o que você faz quando se defronta com um problema:

0 não uso esta estratégia
1 uso um pouco
2 uso bastante
3 uso quase sempre

1. Me concentro no que deve ser feito em seguida, no próximo passo	0	1	2	3
2. Tento analisar o problema para entendê-lo melhor	0	1	2	3
3. Procuro trabalhar ou fazer alguma atividade para me distrair	0	1	2	3
4. Deixo o tempo passar – a melhor coisa que posso fazer é esperar, o tempo é o melhor remédio	0	1	2	3
5. Procuro tirar alguma vantagem da situação	0	1	2	3
6. Faço algo que acredito que não dará resultado, mas pelo faço alguma coisa	0	1	2	3
7. Tento encontrar a pessoa responsável para mudar suas idéias	0	1	2	3
8. Converso com outra(s) pessoa(s) sobre o problema procurando mais dados sobre a situação	0	1	2	3
9. Me critico, me repreendo	0	1	2	3
10. Tento não fazer nada que seja irreversível, procurando deixar outras opções	0	1	2	3
11. Espero que um milagre aconteça	0	1	2	3
12. Concordo com o fato, aceito meu destino	0	1	2	3
13. Faço como se nada tivesse acontecido	0	1	2	3
14. Procuro guardar para mim mesma(o) os meus sentimentos	0	1	2	3
15. Procuro encontrar o lado bom da situação	0	1	2	3
16. Durmo mais que o normal	0	1	2	3
17. Mostro a raiva para as pessoas que causam o problema	0	1	2	3
18. Aceito a simpatia e a compreensão das pessoas	0	1	2	3
19. Digo coisas a mim mesma(o) que me ajudem a me sentir bem	0	1	2	3
20. Me inspiro a fazer algo criativo	0	1	2	3
21. Procuro a situação desagradável	0	1	2	3
22. Procuro ajuda profissional	0	1	2	3
23. Mudo ou cresço como pessoa de uma maneira positiva	0	1	2	3
24. Espero para ver o que acontece antes de fazer alguma coisa	0	1	2	3
25. Me desculpo ou faço algo para repor os danos	0	1	2	3
26. Faço um plano de ação e o sigo	0	1	2	3
27. Tiro o melhor da situação, faço o que não é esperado	0	1	2	3
28. De alguma forma extravaso meus sentimentos	0	1	2	3
29. Compreendo se o problema foi provocado por mim	0	1	2	3
30. Saio da experiência melhor do que eu espero	0	1	2	3
31. Falo com alguém que pode fazer alguma coisa completa sobre o problema	0	1	2	3
32. Tento descansar, tirar férias a fim de esquecer o problema	0	1	2	3
33. Procuro me sentir melhor, comendo, fumando, utilizando drogas ou medicação	0	1	2	3
34. Enfrento como um grande desafio, faço algo muito arriscado	0	1	2	3
35. Procuro não fazer nada apressadamente ou seguir o meu primeiro impulso	0	1	2	3
36. Encontro novas crenças	0	1	2	3
37. Mantenho meu orgulho não demonstrando meus sentimentos	0	1	2	3
38. Redescubro o que é importante na vida	0	1	2	3
39. Modifico aspectos da situação para que tudo dê certo no final	0	1	2	3
40. Procuro fugir das pessoas em geral	0	1	2	3
41. Não me deixo impressionar, me recuso a pensar muito sobre a situação	0	1	2	3

42. Procuro um amigo ou parente para pedir conselhos	0	1	2	3
43. Não deixo que os outros saibam da verdadeira situação	0	1	2	3
44. Minimizo a situação me recusando a preocupar-me seriamente com ela	0	1	2	3
45. Falo com alguém sobre como estou me sentindo	0	1	2	3
46. Recuso-me a recuar e batalho pelo que quero	0	1	2	3
47. Desconto minha raiva em outras pessoas	0	1	2	3
48. Busco nas experiências passadas uma situação similar	0	1	2	3
49. Sei o que deve ser feito portanto dobro meus esforços para fazer o que é necessário	0	1	2	3
50. Recuso-me a creditar que isso está acontecendo	0	1	2	3
51. Prometo a mim mesma(o) que as coisas serão diferentes da próxima vez	0	1	2	3
52. Encontro algumas soluções diferentes para o problema	0	1	2	3
53. Aceito, nada pode ser feito	0	1	2	3
54. Procuro não deixar que meus sentimentos interfiram muito nas outras coisas que eu estou fazendo	0	1	2	3
55. Gostaria de poder mudar o que acontece ou como me sinto	0	1	2	3
56. Mudo algo em mim, me modifico de alguma forma	0	1	2	3
57. Sonho acordada(o) ou imagino um lugar ou tempo melhores do que esse em que estou	0	1	2	3
58. Desejo que a situação acabe ou de alguma forma desapareça	0	1	2	3
59. Tenho fantasias de como as coisas vão acontecer, como se encaminharão	0	1	2	3
60. Rezo	0	1	2	3
61. Me preparo para o pior	0	1	2	3
62. Analiso mentalmente o que fazer e o que dizer	0	1	2	3
63. Penso em uma pessoa que admiro e a tomo como modelo	0	1	2	3
64. Procuro ver as coisas sob o ponto de vista da outra pessoa	0	1	2	3
65. Digo a mim mesma(o) que as coisas poderiam ser piores	0	1	2	3
66. Corro ou faço exercícios	0	1	2	3

Anexo 13

Escala de Aborrecimentos e Satisfações

Nome: _____ Data: _____

Aborrecimentos são irritações, coisas que te incomodam ou perturbam e que podem te deixar contrariado ou com raiva. SATISFAÇÕES são eventos que fazem você se sentir bem; eles podem te deixar alegre, contente, ou satisfeito. Alguns aborrecimentos e satisfações ocorrem regularmente e outros são relativamente raros. Alguns têm apenas um efeito leve, já outros têm um efeito forte.

Esse questionário lista coisas que podem ser aborrecimentos ou satisfações na vida diária. Você perceberá que algumas dessas coisas são apenas um aborrecimento para você e outras são apenas um prazer. *Outras são tanto um aborrecimento quanto um prazer.*

INSTRUÇÕES: Pense sobre o quanto de aborrecimento ou o quanto de prazer cada item geralmente é para você. Por favor indique no lado esquerdo da página (ABORRECIMENTOS) o quanto de aborrecimento o item é, em geral, fazendo um círculo no número apropriado. Em seguida indique no lado direito da página de o quanto de prazer isso lhe dá geralmente, fazendo um círculo no número apropriado.

LEMBRE-SE, FAÇA UM CÍRCULO UM NÚMERO NO LADO ESQUERDO DA PÁGINA E OUTRO NO LADO DIREITO PARA CADA ITEM.

ESCALA DE ABORRECIMENTOS E SATISFAÇÕES
Quanto de aborrecimento Quanto de prazer esse item esse item geralmente lhe causa?
causa?

ABORRECIMENTO	SATISFAÇÃO
0 = Nada ou não aplicável	0 = Nada ou não aplicável
1 = Um pouco	1 = Um pouco
2 = Bastante	2 = Bastante
3 = Muito	3 = Muito

INSTRUÇÕES: Por favor circule um número do lado esquerdo e um número do lado direito para cada item.

0 1 2 3	1. Seu(s) filho(s)	0 1 2 3
0 1 2 3	2. Seus pais	0 1 2 3
0 1 2 3	3. Outros familiares	0 1 2 3
0 1 2 3	4. Seu cônjuge	0 1 2 3
0 1 2 3	5. Tempo passado com a família	0 1 2 3
0 1 2 3	6. Saúde ou bem-estar de um membro da família	0 1 2 3
0 1 2 3	7. Sexo	0 1 2 3
0 1 2 3	8. Intimidade	0 1 2 3
0 1 2 3	9. Obrigações familiares	0 1 2 3
0 1 2 3	10. Seu(s) amigo(s)	0 1 2 3
0 1 2 3	11. Colegas de trabalho	0 1 2 3
0 1 2 3	12. Clientes, pacientes, etc.	0 1 2 3
0 1 2 3	13. Seu supervisor ou empregador	0 1 2 3
0 1 2 3	14. A natureza do seu trabalho	0 1 2 3
0 1 2 3	15. Sua carga de trabalho	0 1 2 3
0 1 2 3	16. Sua estabilidade no emprego	0 1 2 3
0 1 2 3	17. Cumprir prazos ou metas no trabalho	0 1 2 3

0 1 2 3	18. Dinheiro suficiente para suas necessidades (ex., comida, vestuário, despesas domésticas, plano de saúde, contas)	0 1 2 3
0 1 2 3	19. Dinheiro suficiente para educação	0 1 2 3
0 1 2 3	20. Dinheiro suficiente para emergências	0 1 2 3
0 1 2 3	21. Dinheiro suficiente para gastos extras (ex., diversão, recreação, férias)	0 1 2 3
0 1 2 3	22. Auxílio financeiro para alguém que não mora com você	0 1 2 3
0 1 2 3	23. Investimentos	0 1 2 3
0 1 2 3	24. Fumo (cigarros, charutos, etc)	0 1 2 3
0 1 2 3	25. Bebida	0 1 2 3
0 1 2 3	26. Medicamentos psicotrópicos	0 1 2 3
0 1 2 3	27. Sua aparência física	0 1 2 3
0 1 2 3	28. Anticoncepcionais, contraceptivos	0 1 2 3
0 1 2 3	29. Atividades físicas desportivas	0 1 2 3
0 1 2 3	30. Seus cuidados médicos	0 1 2 3
0 1 2 3	31. Sua saúde	0 1 2 3
0 1 2 3	32. Suas habilidades físicas	0 1 2 3
0 1 2 3	33. Temperatura, meteorologia	0 1 2 3
0 1 2 3	34. Notícias	0 1 2 3
0 1 2 3	35. Seu ambiente (ex. qualidade do ar, nível de barulho, arborização)	0 1 2 3
0 1 2 3	36. Questões políticas ou sociais	0 1 2 3
0 1 2 3	37. Seu bairro (ex. vizinhos, vizinhança)	0 1 2 3
0 1 2 3	38. Conservação (gás, eletricidade, água, gasolina, etc.)	0 1 2 3
0 1 2 3	39. Animais de estimação	0 1 2 3
0 1 2 3	40. Cozinhar	0 1 2 3
0 1 2 3	41. Trabalhos domésticos	0 1 2 3
0 1 2 3	42. Consertos domésticos	0 1 2 3
0 1 2 3	43. Jardinagem	0 1 2 3
0 1 2 3	44. Manutenção do carro	0 1 2 3
0 1 2 3	45. Serviço bancário ou burocrático (ex., pagar contas, preencher formulários)	0 1 2 3
0 1 2 3	46. Diversão em casa (ex., TV, música, leitura)	0 1 2 3
0 1 2 3	47. Quantidade de tempo livre	0 1 2 3
0 1 2 3	48. Recreação e divertimento fora de casa (ex., cinemas, esportes, comer fora, caminhada)	0 1 2 3
0 1 2 3	49. Comer (em casa)	0 1 2 3
0 1 2 3	50. Igreja ou organizações comunitárias	0 1 2 3
0 1 2 3	51. Assuntos legais	0 1 2 3
0 1 2 3	52. Ser organizado	0 1 2 3
0 1 2 3	53. Compromissos sociais	0 1 2 3
0 1 2 3	54. Falar com estranhos	0 1 2 3
0 1 2 3	55. Seus sogros	0 1 2 3

Anexo 14

Alterações imunes subseqüentes à indução de estresse agudo em pacientes com fobia social e indivíduos sem patologias psiquiátricas

Roteiro de questões a serem incluídas na entrevista psiquiátrica

Nome: _____

Telefone para contato: _____

Sexo: Feminino ☐ masculino ☐

• Já fez uso crônico de psicofármacos: sim ☐ não ☐

Por quanto tempo e há quanto tempo:

• Faz uso de psicofármacos: sim ☐ não ☐

• Tem doenças crônicas: sim ☐ não ☐

Quais? Metabólicas (diabetes, hipercolesterolemia):

Endócrinas (hiper e hipotireoidismo):

Alérgicas (rinite alérgica, asma, bronquite):

Auto-imunes (febre reumática, artrite, lupus, psoríase):

Outras: pressão alta, desmaios, pressão baixa):

• Faz uso de outro tipo de medicação controlada: sim ☐ não ☐ Qual?

• Gravidez: sim ☐ não ☐

• Menopausa: faz reposição hormonal? sim ☐ não ☐

• Faz uso de contraceptivos orais: sim ☐ não ☐

• Fez cirurgia para extração de órgãos (histerectomia, etc.): sim ☐ não ☐

• História de desmaios quando de coleta de sangue: sim ☐ não ☐

• Dia do ciclo menstrual (aproximado):

• Qualquer tipo de doença, infecções ou inflamações nas 2 semanas anteriores ao estudo:

sim ☐ não ☐ qual e há quantos dias?

• Condições atuais de vida – a que estressores ambientais está exposto (brigas conjugais, desemprego, doenças na família, dívidas, morte de pessoas próximas e etc.) e há quanto tempo?

• Fuma: sim ☐ não ☐ quantos cigarros por dia:

• Toma café: sim ☐ não ☐ quantas xícaras por dia:

• Abuso de drogas lícitas ou ilícitas: sim ☐ não ☐ frequência de uso:

• Teve recentemente algum corte ou ferimento ou infecção menor como corte por alicate, pregos, tesouras, unha encravada, inflamação ou alergia causada por brincos ou piercing?

• Tem vários parceiros sexuais: sim ☐ não ☐

Anexo 15

Anamnese

Identificação:

Nome:

Data de nascimento:

Sexo:

Cor:

Estado civil:

Profissão:

Escolaridade:

Naturalidade:

Residência:

Afastar queixas atuais (Os indivíduos se apresentam como voluntários normais).

1) Sintomas gerais:

Febre:

Astenia:

Alteração de peso:

Sudorese:

Pruridos:

Alteração de pele e anexos:

Alteração de sono:

Alteração de apetite:

2) Antecedentes pessoais:

Gestação e nascimento:

Desenvolvimento neuropsicomotor:

Menarca:

Ciclo menstrual:

Doenças no passado:

sarampo:

varicela:

caxumba:

coqueluche:

doença reumática:

pneumonia:

hepatite:

nefrite:

problemas articulares:

distúrbios alérgicos (eczema, urticária, asma):

Outros (cirurgias, traumatismos, etc.):

3) Antecedentes Familiares:

Pais:

Irmãos:

Cônjuge e filhos:

Existência de: diabetes mellitus, hipertensão arterial, tuberculose, câncer, colelitíase, úlcera péptica, doenças alérgicas, doenças osteo-articulares, etc.

4) Hábitos de vida e condições sócio-econômicas e culturais:

5) Exame físico geral:

Estado geral:

Peso:

Altura:

Pressão arterial:

F.C.

Pulso:

Tórax:

Abdome:

Membros:

Pele e anexos:

Outros:

Anexo 16

Listagem dos exames de triagem para inclusão no estudo:

- Glicose
- Uréia
- Creatinina
- Colesterol total
- HDL e LDL colesterol
- Eletroforese de proteína
- TGO
- TGP
- Gama GT
- Amilase
- Sódio+potássio
- Ferro
- Capacidade de ligação de ferro
- Hemograma completo
- Coagulograma
- Fator reumatóide
- Fatores anti-núcleo
- Proteína C reativa
- T3
- T4 e T4 livre
- TSH
- Beta-HCG.
- Anti-HIV
- Beta 2 microglobulina
- C3+C4 +Ctotal
- IgA
- IgM
- IgG
- IgE
- Cortisol urinário
- Imunofenotipagem de sangue periférico (IMFSP) CD 3/4/8/45/16+56/19.

Anexo 17

Instruções para participação no experimento

Essas instruções irão lhe auxiliar no decorrer de sua participação no experimento. Quaisquer dúvidas poder ser esclarecidas com Alessandra no 30696958, 30696978, ou deixando recado na secretária eletrônica.

Para fazer o cartão:

Você deverá comparecer ao registro geral (sala ao lado da sala de espera do ambulatório), no prédio da Psiquiatria, para fazer seu cartão do Hospital. Você deverá vir pessoalmente ao registro geral trazendo a requisição do médico (um papel branco pequeno entregue a você), sua identidade, seu CIC (CPF). Em alguns minutos seu cartão ficará pronto e lhe será entregue um papel com etiquetas adesivas. Você deve guardar ambos e trazê-los quando vier novamente ao hospital.

Para colher os exames de sangue:

Você virá ao Prédio da Psiquiatria pela manhã (das 7:00 até as 9:00) em uma terça-feira ou quinta-feira, em jejum de 12 horas. Você deverá trazer o pedido de exames que lhe foi entregue (um papel branco grande com uma etiqueta no alto e um carimbo vermelho escrito PR 48). Quando chegar, avise a uma das atendentes que ficam na sala de espera do ambulatório e lhe será indicado o que fazer (a quem entregar o pedido e onde). Após o sangue ser coletado você poderá ir embora.

O retorno da consulta:

Para o seu retorno e verificação dos resultados do exame será agendado um dia. Caso o horário seja incompatível com seus compromissos, você poderá telefonar (após 3 semanas da realização do exame) para saber os resultados. Você será informado caso haja alguma alteração nos seus exames e se isso implicar em sua exclusão do experimento.

Para colher o exame de urina de 24 horas:

Você receberá um frasco de plástico para a realização desse exame. O frasco estará marcado com algumas letras e números que não devem ser alterados. Nenhum outro frasco deve ser utilizado, **apenas poderá ser utilizado o frasco que lhe foi entregue**. O procedimento para coleta é o seguinte:

Ao acordar, esvazie a bexiga normalmente, essa urina não será colhida. Todas as demais vezes que urinar devem ser armazenadas, no mesmo frasco, incluindo a urina da madrugada (se acordar para urinar). A primeira urina da manhã seguinte também deve ser coletada e será a última. Não despreze nenhuma urina, se achar necessário, peça mais de um frasco.

A urina deverá ser conservada em geladeira até ser levada ao laboratório. O frasco deve estar corretamente fechado e deve ser trazido quando você vier para o dia do treinamento.

Para o dia de treinamento:

Nesse dia, que será marcado com você pelo telefone, você comparecerá ao Prédio da Psiquiatria e virá ao **LIM-23 novo** (no andar térreo ao lado da portaria, na entrada principal), às 9:00 da manhã. Você deve estar em jejum de 12 horas. Você deverá trazer as escalas e questionários que lhe foram entregues anteriormente, além do frasco com urina. Traga todos os frascos que estiverem com você, mesmo que não tenham sido usados.

Nesta data, você fará o treinamento em algumas das escalas que serão utilizadas no dia do experimento e serão coletadas amostras de sangue para o estudo. Você também preencherá um termo de consentimento que será arquivado. Serão entregues a você outras escalas e questionários que você deverá trazer no dia do experimento.

Lembre-se que caso tenha algum problema ou fique doente próximo da data de comparecer para o treinamento, você deve telefonar e remarcar a sua vinda. É muito importante que você esteja saudável e que não tenha tomado qualquer remédio (inclusive aspirina, tilenol, buscopan) nos dias antes de sua vinda. Você pode continuar o uso de anticoncepcionais e vitaminas pois não vão afetar os resultados do estudo. Caso tenha dúvida, entre em contato com a pesquisadora.

Para o dia do experimento:

Como lhe foi dito ao telefone, você participará de uma tarefa cognitiva, a ser definida posteriormente e serão coletadas amostras de sangue. É importante que você venha com uma roupa que abra na frente (camisa, vestido, etc). Nesse dia você permanecerá aqui por pelo menos 2 horas. Se houver necessidade de uma declaração de comparecimento você deverá avisar com antecedência. Procure evitar realizar esforço físico ou exercício intenso nesse dia e ingerir bastante líquido.

Lembre-se de trazer as escalas que lhe foram entregues anteriormente.

Após a conclusão do experimento sua participação como **voluntário** do estudo estará terminada.

Anexo 18

Instruções adicionais do experimento

(adotar um tom seco e levemente impaciente, falar de frente para o computador, sem olhar diretamente para o sujeito)

Você agora vai assistir a uma fita de vídeo com as instruções do que vc deverá fazer em seguida. Preste BASTANTE atenção pois a fita será passada apenas uma vez.

Pegar as escalas que ela já preencheu e folheá-las rapidamente.

No preenchimento das escalas você deve ser o mais adequada possível, ou seja marque exatamente como se sente porque é necessário acompanharmos se há mudanças em como você se sente ao longo do experimento. Não deixe de marcar nenhum item, ta?

Ah! Na, verdade esse equipamento que está conectado nos seus dedos é um detector de mentiras então procure ser o mais sincera possível porque eu posso ver aqui no computador se você estiver mentindo. Também existe uma equipe de psicólogos assistindo você aqui na sala ao lado (por meio de um sistema interno de TV).

Nesse ponto a instrução fica um pouco diferente se for paciente ou voluntário:

CONTROLES:

Você foi informada que seria reembolsada pela participação. Na verdade, sua remuneração será proporcional ao seu desempenho, ou seja você só receberá na medida em que seu desempenho for satisfatório. Isso significa que durante seu discurso, que deve durar o tempo total que for dado a você, você não pode cometer erros de português, não pode gaguejar, deve falar claramente e apresentar um discurso coerente sem ficar se repetindo. Lembre-se que você está sendo avaliada por uma equipe e somente receberá se sair-se melhor que os outros voluntários.

FÓBICOS SOCIAIS:

Seu desempenho estará sendo avaliado e uma nota será dada a você. Sua nota será proporcional a seu desempenho, ou seja você precisa se sair melhor que os outros. Você foi informada que seria reembolsada pela participação. Na verdade, sua remuneração será proporcional ao seu desempenho, ou seja você só receberá na medida em que seu desempenho for satisfatório. Isso significa que durante seu discurso, que deve durar o tempo total que for dado a você, você não pode cometer erros de português, não pode gaguejar, deve falar claramente e apresentar um discurso coerente sem ficar se repetindo. Lembre-se que você está sendo avaliada por uma equipe e somente receberá se sair-se melhor que os outros.

Tudo certo? Vou colocar a fita.