LUCAS MARQUES GANDARELA

**Marcadores inflamatórios na terapia comportamental baseada
em aceitação e atenção plena em pacientes com transtorno de
ansiedade generalizada**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para a
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Fisiopatologia Experimental
Orientador: Prof. Dr. Márcio Antonini Bernik

São Paulo

2021

LUCAS MARQUES GANDARELA

**Marcadores inflamatórios na terapia comportamental baseada
em aceitação e atenção plena em pacientes com transtorno de
ansiedade generalizada**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para a
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Fisiopatologia Experimental
Orientador: Prof. Dr. Márcio Antonini Bernik

São Paulo

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Gandarela, Lucas Marques
Marcadores inflamatórios na terapia
comportamental baseada em aceitação e atenção plena
em pacientes com transtorno de ansiedade
generalizada / Lucas Marques Gandarela. -- São
Paulo, 2021.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Fisiopatologia Experimental.
Orientador: Márcio Antonini Bernik.

Descritores: 1.Transtorno de ansiedade
generalizada 2.Terapia cognitivo-comportamental
3.Inflamação 4.Fator neurotrófico derivado do
encéfalo 5.Biomarcadores 6.Atenção plena

USP/FM/DBD-239/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Professor Márcio Bernik, pela oportunidade de aprendizado nesses dez anos de AMBAN.

Agradeço às Professoras Maly Delitti e Mariângela Savoia, por terem me apresentado e ensinado a beleza da Terapia Comportamental.

Aos Professores Lotufo Neto e Emmanuel Burdmann, pelas contribuições essenciais a esse estudo. À Professora Lizabeth Roemer, cuja pesquisa e protocolo de tratamento inspirou esse estudo. À Dra. Lia Marçal pela contribuição na coleta e análises bioquímicas. A Luciana Santos, pelo suporte com o projeto e seu financiamento.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo que financiou essa pesquisa (processo nº 2018/18932-0), tornando esse estudo possível.

Agradeço, especialmente, ao colega, professor e amigo Thiago Sampaio, por ter persistido em um projeto que parecia extremamente difícil e por ter me incluído nesse projeto, sempre disponível a me ajudar e me ensinar. Ao Renê, pelo companheirismo, pela dedicação ao projeto e pela paciência.

Agradeço aos participantes do projeto que confiaram na nossa proposta de oferecer tratamento para os seus sofrimentos e contribuição para a ciência.

Esse projeto somente foi possível devido ao empenho e à dedicação de um grupo de pessoas que acreditou em sua proposta e que tornou essa experiência não apenas acadêmica, mas entusiasmante e afetuosa. O meu muito obrigado a todas essas pessoas: Ana Paula Varella Ferreira, Andrea

Vianna, Claudio Godoi, Daniel Santos Martins, Daniella Mouadeb, Débora Wertheimer Bonder, Fátima Chimenes, Fernanda Tamburu, Gustavo Camps, Helena Silveira, Juliana Duarte, Katya Stubing, Mariliz Vasconcellos, Patricia Velloso, Paula de Vitto Francez, Rene Cabral Jorge e Vivian Bosquese.

Agradeço aos meus pais pelo amor, por tudo o que me ensinaram ao longo da vida e por terem me incentivado a ir atrás de tudo que me interessava. À minha madrinha, pelo carinho e pelo estímulo ao conhecimento. Ao meu irmão, pelo apoio.

Aos meus amigos amados, pelo carinho, pelo afeto, por estarem sempre comigo na vida e ao longo dessa jornada acadêmica que está apenas começando.

“Os experimentos nem sempre dão o resultado que se espera, mas devem permanecer os fatos e perecer as expectativas. Os dados, não os cientistas, falam mais alto.” (Skinner, 1953/2003, p.13).

Esta dissertação ou tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011. Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

SUMÁRIO

Lista de siglas

Lista de tabelas

Lista de figuras

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Transtorno de Ansiedade Generalizada (TAG).....	1
1.2 Psiconeuroimunologia.....	2
1.3 A inflamação nos transtornos de ansiedade.....	5
1.3.1 <i>Estudos em modelos animais de ansiedade</i>	5
1.3.2 <i>Estudos em modelos clínicos e experimentais de ansiedade humana</i>	7
1.3.3 <i>Estudos em populações com diagnósticos de transtornos de ansiedade</i>	8
1.3.4 <i>Estudos em indivíduos com TAG</i>	10
1.4 Mecanismos da resposta inflamatória alterada nos transtornos de ansiedade.....	11
1.4.1 <i>Do SNC ao sistema imune nos transtornos de ansiedade</i>	12
1.4.2 <i>Do sistema imune para o SNC (o papel das citocinas)</i>	16
1.5 Efeito da inflamação na neurogênese e seu papel na fisiopatologia dos transtornos de ansiedade.....	18
1.6 A Terapia comportamental baseada em Aceitação e Atenção Plena (TCBA) como intervenção terapêutica.....	21
1.7 Justificativa.....	24
2 OBJETIVOS.....	26
2.1 Objetivo primário.....	26
2.1.1 <i>Hipótese nula para o objetivo primário</i>	26
2.2 Objetivos secundários.....	26
2.2.1 <i>Hipóteses nulas para os objetivos secundários</i>	27

3	MÉTODOS.....	28
3.1	Participantes.....	28
3.1.1	<i>Critérios de inclusão</i>	29
3.1.2	<i>Critérios de exclusão</i>	29
3.2	Recrutamento e triagem.....	29
3.3	Intervenções.....	31
3.4	Amostras de sangue e análises bioquímicas.....	32
3.5	Instrumentos de avaliação clínica	33
3.6	Cálculo do tamanho da amostra.....	35
3.7	Análises de dados.....	35
4	RESULTADOS.....	37
4.1	Características sociodemográficas e clínicas.....	39
4.2	Marcadores inflamatórios.....	41
4.2.1	<i>Ajustes para covariáveis</i>	45
4.3	Fator neurotrófico derivado do cérebro.....	46
4.4	Medida clínica de ansiedade.....	48
4.5	Correlação entre marcadores pró-inflamatórios e medida clínica de ansiedade.....	49
4.6	Correlação entre BDNF e medida clínica de ansiedade.....	49
4.7	Correlação entre BDNF e marcadores pró-inflamatórios.....	49
5	DISCUSSÃO.....	51
6	CONCLUSÕES.....	61
7	ANEXO.....	62
8	REFERÊNCIAS.....	63

LISTAS DE SIGLAS

ACT	<i>Acceptance and Commitment Therapy</i>
ACTH	<i>Adrenocorticotrophic Hormone</i>
APA	<i>American Psychiatric Association</i>
APORTA	Associação de Familiares e Portadores de Transtorno de Ansiedade
BDNF	<i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i>
CPF	Córtex Pré-Frontal
CRF	<i>Corticotropin-Releasing Factor</i>
DASS - 21	<i>Depression, Anxiety and Stress Scale</i> – versão com 21 itens
FAN	Fator Antinúcleo
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
GC	<i>Glucocorticoids</i>
HADS	<i>Hospital Anxiety and Depression Scale</i>
HAM-A	Escala de Ansiedade de Hamilton
HARP	<i>Harvard-Brown Anxiety Research Project</i>
HPA	Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
IMC	Índice de Massa Corpórea
LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
MBSR	<i>Mindfulness-based Stress Reduction</i>
MIP	<i>Macrophage Inflammatory Protein-1</i>
MINI	<i>Mini-International Neuropsychiatric Interview</i>
MLM	Modelo Linear de Efeitos Mistos
NICE	<i>National Institute for Health and Clinical Excellence</i>

NK	<i>Natural Killer</i>
PCR	Proteína C Reativa
REDCap	<i>Research Electronic Data Capture</i>
mRNA	<i>messenger Ribonucleic Acid</i>
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Parassimpático
SNS	Sistema Nervoso Simpático
STAI	<i>Spielberger State Anxiety Inventory</i>
TAG	Transtorno de Ansiedade Generalizada
TAS	Transtorno de Ansiedade Social
TCBA	Terapia Comportamental Baseada em Aceitação e Atenção Plena
TCC	Terapia Cognitivo-Comportamental
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEPT	Transtorno de Estresse Pós-Traumático
TNF	<i>Tumor Necrosis factor</i>
TP	Transtorno de Pânico
TS	Terapia Suportiva
TSST	<i>Trier Social Stress Test</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Associação entre níveis elevados de ansiedade e doenças ligadas ao envelhecimento.....	5
Tabela 2	Cálculo do tamanho da amostra.....	35
Tabela 3	Caracterização sociodemográfica e clínica da amostra analisada.....	40
Tabela 4	Descrição dos biomarcadores por grupo e por tempo (média±desvio padrão).....	41
Tabela 5	Correlação de Spearman da diferença percentual entre pré e pós-tratamento das variáveis quantitativas entre si.....	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Vias que conectam áreas neurais ligadas à sensibilidade à ameaça e vias inflamatórias.....	16
Figura 2	Interação recíproca entre o sistema nervoso e o sistema imune na resposta inflamatória nos transtornos de ansiedade.....	19
Figura 3	Fluxograma CONSORT modificado para ensaios controlados randomizados de tratamentos não-farmacológicos.....	38
Figura 4	Box plot dos valores logarítmicos de IL-1 β e IL-6 de acordo com tipo de intervenção (C = controle, E = experimental) no pré e pós-tratamento.....	43
Figura 5	Box plot dos valores logarítmicos das concentrações de IL-4, IL-10, TNF e PCR de acordo com o tipo de intervenção (C = controle, E = experimental) no pré e pós-tratamento.....	44
Figura 6	Box plot das concentrações de BDNF de acordo com o tipo de intervenção (C = controle, E = experimental) no pré e pós-tratamento em pg/mL.....	47
Figura 7	Box plot dos escores de ansiedade da HAM-A de acordo com o tipo de intervenção (C = controle, E = experimental) no pré e pós-tratamento.....	48

RESUMO

Gandarela LM. *Marcadores inflamatórios na terapia comportamental baseada em aceitação e atenção plena em pacientes com transtorno de ansiedade generalizada* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

INTRODUÇÃO: O Transtorno de Ansiedade Generalizada (TAG) é um transtorno crônico e debilitante que tem sido associado aos elevados níveis de Proteína C Reativa (PCR) e citocinas pró-inflamatórias. Há evidências de associações entre o TAG, a síndrome metabólica e um risco aumentado para doenças cardiovasculares, condições também relacionadas a processos inflamatórios crônicos. Um dos possíveis mecanismos pelos quais a inflamação parece afetar a função cerebral é através da modulação do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). Apesar de sua comprovada eficácia no tratamento do TAG, estudos sobre os efeitos da terapia cognitivo-comportamental no perfil inflamatório dos pacientes com ansiedade clínica têm apresentado resultados inconsistentes. O objetivo desse estudo é avaliar o efeito da Terapia Comportamental Baseada em Aceitação e Atenção plena (TCBA) em medidas de fatores inflamatórios e do BDNF e sua associação com a intensidade da ansiedade em pacientes com TAG. **MÉTODOS:** Concentrações séricas dos marcadores inflamatórios (PCR, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α) e o nível plasmático do BDNF foram mensurados em amostras de sangue de 77 pacientes com TAG que participaram de um ensaio clínico randomizado de 10 sessões em grupo de TCBA (n=37) ou Terapia Suportiva (TS), utilizada como controle (n=40), que ocorreu no Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas. As coletas de sangue foram realizadas antes da primeira sessão (semana 1) e após a 10^a sessão (semana 14) de terapia. Medidas clínicas de ansiedade, pela Escala Hamilton de Ansiedade (HAM-A), também foram avaliadas ao longo do tratamento. O Modelo Linear de Efeitos Mistos (MLM) foi utilizado para comparar os níveis dos marcadores biológicos e dos escores de ansiedade antes e após o tratamento e entre os grupos, recalculados com ajustes para as covariáveis de sexo, idade, escore basal da HAM-A e diagnóstico de depressão. **RESULTADOS:** As concentrações séricas de IL-1 β reduziram no grupo controle (t=2,83; p=0,008) e as concentrações séricas de IL-6 aumentaram no grupo experimental ao longo do tratamento (t= -3,16; p=0,003), não havendo diferença quanto à IL-4, IL-10, PCR e ao TNF. Também não houve diferença entre grupos quanto ao efeito no BDNF, com aumento de seus níveis plasmáticos em ambos os grupos ao longo do tratamento (TCBA: t= -3,73; p=0,0006; TS: t= -4,9; p<0.0001). Esses resultados se mantiveram após ajuste para as covariáveis. Apesar de redução dos níveis de ansiedade em ambos os grupos, não houve diferença entre grupos ao longo do tratamento, nem correlação entre os sintomas clínicos e as medidas dos biomarcadores. **CONCLUSÃO:** O presente estudo sugere que um ensaio de curta duração de TCBA não modifica o perfil pró-inflamatório, que pode estar associado ao TAG, nem os níveis do BDNF em comparação com a TS. Estudos adicionais, que avaliem a influência de outras

variáveis relacionadas à inflamação sistêmica assim como o efeito da TS nos biomarcadores em pacientes com TAG, são necessários.

Descritores: Transtorno de ansiedade generalizada; Terapia cognitivo-comportamental; Inflamação; Fator neurotrófico derivado do encéfalo; Biomarcadores; Atenção plena.

ABSTRACT

Gandarela LM. *Inflammatory markers in acceptance-based behavioral therapy with mindfulness in generalized anxiety disorder patients* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2021.

INTRODUCTION: Generalized anxiety disorder (GAD) is a chronic and debilitating disorder that has been associated with elevated levels of C reactive protein (CRP) and proinflammatory cytokines. There is evidence of associations between GAD, metabolic syndrome and an increased risk of cardiovascular diseases, conditions also related to chronic inflammatory processes. One of the possible mechanisms by which inflammation may affect brain function is through the modulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Despite established efficacy for GAD treatment, studies on the effects of cognitive-behavior therapy on the inflammatory profile of patients with clinical anxiety have presented inconsistent results. The aim of this current study is to evaluate the effect of acceptance-based behavioral therapy with mindfulness (ABBT) on measures of inflammatory factors and BDNF along with their association with anxiety severity in GAD patients. **METHODS:** Serum concentrations of inflammatory markers (CRP, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α) and BDNF plasma level were measured in blood samples of 77 GAD patients who participated in a 10-session randomized controlled trial of group ABBT (n=37) or supportive therapy (ST) as a control condition (n=40) which took place in the Institute of Psychiatry at Hospital das Clínicas. Blood samples were collected before the first session (week 1) and after the 10th session (week 14) of therapy. Clinical measures of anxiety by Hamilton Anxiety Rating Scale (HAM-A) were also assessed over treatment. Mixed effects linear model (MLM) was used to compare biomarkers levels and anxiety scores at pre and posttreatment and between groups. MLMs were recalculated with adjustments to sex, age, HAM-A basal score and diagnosis of depression as covariables. **RESULTS:** Serum concentrations of IL-1 β reduced in the control group (t=2,83; p=0,008) and serum concentrations of IL-6 increased in the experimental group over treatment (t= -3,16; p=0,003), with no difference concerning IL-4, IL-10, CRP or TNF. There was also no difference between groups concerning the effect on BDNF, with an increase in BDNF plasma levels in both groups over treatment (ABBT: t= -3,73; p=0,0006; ST: t= -4,9; p<0.0001). These results remained constant after adjustments to covariables. Despite reduction in anxiety levels in both groups, there was no difference between groups over treatment. There was also no correlation between clinical symptoms and biomarkers measures. **CONCLUSIONS:** The present study suggests that a short trial of ABBT not change the proinflammatory profile, which might be associated with GAD, compared to supportive therapy. There was also no difference between groups concerning BDNF levels. Additional studies that investigate the influence of other systemic inflammation-related variables as well as the effect of ST on biomarkers in GAD patients are needed.

Descriptors: Generalized anxiety disorder; Cognitive behavioral therapy; Inflammation; Brain-derived neurotrophic factor; Biomarkers; Mindfulness.

1 INTRODUÇÃO

O Transtorno de Ansiedade Generalizada (TAG) é um transtorno de ansiedade prevalente, crônico e incapacitante. Sua apresentação está associada a um viés de ameaça exacerbado, alterações do sistema imunológico e aumento do risco cardiovascular.

A Terapia Cognitivo-Comportamental (TCC) é considerada a forma de tratamento psicológico com maior nível de evidência para o TAG. Além disso, a incorporação de intervenções baseadas em aceitação e atenção plena tem demonstrado resultados promissores na melhora clínica desses pacientes. Esse estudo visa avaliar se um protocolo de Terapia Comportamental Baseada em Aceitação e Atenção Plena (TCBA) tem efeito nos marcadores biológicos dos indivíduos com TAG quando comparado com uma intervenção controle ativa (terapia suportiva).

1.1 Transtorno de Ansiedade Generalizada (TAG)

O TAG é um transtorno crônico associado a prejuízos no funcionamento psicossocial, na produtividade laborativa e na qualidade de vida (Kessler et al., 2009), além de estar relacionado a altos custos para os serviços de saúde (Revicki et al., 2012).

O TAG apresenta uma prevalência ao longo da vida de 3,7% e nos últimos 12 meses de 1,8% em adultos (Ruscio et al., 2017). Na cidade de São Paulo, Andrade et al. (2012) encontraram uma prevalência de 2,3% no último ano, dos

quais 41,9% apresentavam quadro de intensidade grave. Durante os 12 anos de avaliação do estudo *Harvard-Brown Anxiety Research Project* (HARP), a probabilidade de recuperação do TAG foi de 58% e os pacientes apresentavam diagnóstico do transtorno em média de 74% do tempo do acompanhamento (Bruce et al., 2005), evidenciando o caráter crônico dessa condição.

O TAG está categorizado dentro do capítulo de Transtornos de Ansiedade no Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais da *American Psychiatric Association* (APA) [DSM-5], (2013). Sua principal característica é a presença de preocupação excessiva com diversos eventos ou atividades que ocorre na maior parte dos dias por pelo menos seis meses. Além disso, o paciente deve considerar essa preocupação como de difícil controle e apresentar três ou mais dos seguintes sintomas associados à preocupação: inquietação ou sensação de estar com os nervos à flor da pele, fadigabilidade, dificuldade em concentrar-se ou sensações de “branco” na mente, irritabilidade, tensão muscular e perturbação do sono.

O TAG teve seu reconhecimento como entidade nosológica distinta em 1980 (*American Psychiatric Association* [DSM-III], 1980) e deixou de ser uma categoria diagnóstica de exclusão apenas a partir da quarta edição do DSM em 1994 (*American Psychiatric Association* [DSM- IV], 1994). Dessa forma, apesar de sua grande relevância médico-social, pouco se sabe sobre sua patogênese e os mecanismos fisiológicos envolvidos em seu tratamento.

1.2 Psiconeuroimunologia

O sistema imune exerce um papel importante na fisiopatologia de várias doenças do Sistema Nervoso Central (SNC) como a isquemia cerebral (Kawabori; Yenari, 2015), a esclerose múltipla (Segal, 2014), a doença de Alzheimer (Calsolaro; Edison, 2016) e a doença de Parkinson (Tansey; Goldberg, 2010).

Nos últimos trinta anos, com os avanços nas pesquisas em psiconeuroimunologia, houve um maior entendimento das consequências comportamentais, inclusive transtornos psiquiátricos, da interação recíproca entre o SNC e o sistema imune.

A depressão é um exemplo de transtorno psiquiátrico onde a associação entre alterações de resposta inflamatória e sintomas comportamentais já foi bem estabelecida. Essa interação ficou evidente na clínica com a alta prevalência de pacientes portadores do vírus da hepatite C que desenvolviam sintomas depressivos após o início do tratamento com Interferon- α (IFN- α) (Raison et al., 2005). Raison et al. (2010) observaram um achatamento das curvas de cortisol e do Hormônio Adrenocorticotrófico (ACTH), relacionados à piora dos sintomas depressivos e da fadiga, em pacientes com hepatite C após 12 semanas de tratamento com IFN- α .

Estudos em indivíduos deprimidos também evidenciaram alterações em marcadores imunológicos. Zorilla et al. (2001) elencaram uma série de variações de parâmetros imunológicos em indivíduos com diagnóstico de depressão em uma metanálise de 25 estudos, tais como: alterações no número de leucócitos (por ex. leucocitose neutrofílica com linfocitopenia e monocitopenia relativas), nos marcadores de superfície celular (por ex. associação positiva com o número de células B, linfócitos com marcador CD4 e células com marcadores de

ativação), na resposta linfoproliferativa a mitógenos, alteração de proteínas plasmáticas de fase aguda, assim como índices aumentados de Imunoglobulina M, Prostaglandina E2, IL-6 e receptor solúvel de IL-2.

Em outra metanálise que incluiu 62 estudos, Howren et al. (2009) demonstraram associação positiva entre os níveis de Proteína C Reativa (PCR), IL-6 e IL-1 e o diagnóstico de depressão, tanto em população clínica como comunitária.

Dowlati et al. (2010) encontraram ainda concentrações séricas basais mais elevadas de Fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e IL-6 em pacientes com diagnóstico de depressão em uma metanálise de 24 estudos controlados. No entanto, não constatarem diferença nos níveis de outras citocinas como a IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-8, IL-10 ou Interferon- γ (IFN- γ).

O interesse de avaliar a possível relação entre os transtornos de ansiedade e a resposta inflamatória surgiu devido a diversos fatores: (1) a alta comorbidade de depressão com sintomas e transtornos ansiosos (Kessler et al., 1996); (2) o tratamento farmacológico comum entre esses dois tipos de manifestação clínica (*National Institute for Health and Clinical Excellence*, [NICE] 2011); (3) a presença de comportamentos em modelos animais (associados à ansiedade humana) com alteração na resposta imune; (4) a presença de sintomas ansiosos em pacientes com alterações imunológicas; (5) o papel do estresse psicossocial na resposta inflamatória (Reader et al., 2015); e, finalmente, (6) o risco aumentado para doenças ligadas ao envelhecimento em indivíduos com níveis elevados e crônicos de ansiedade (Tabela 1).

Tabela 1 - Associação entre níveis elevados de ansiedade e doenças ligadas ao envelhecimento

Batelaan et al., 2014	Maior risco de doença cardiovascular não fatal em indivíduos com ansiedade do tipo preocupação
Benninghoven et al., 2006	Risco de evento cardíaco pós infarto agudo do miocárdio em pacientes mais ansiosos
Carroll et al., 2009	Associação positiva entre TAG e síndrome metabólica
Eaker et al., 2005	Tensão como fator de risco para doença coronariana e ansiedade como fator de risco para mortalidade geral
Revisão em Kubzansky; Kawachi, 2000	Ansiedade e início de doença coronariana
Metanálise em Roest et al., 2010	Ansiedade como fator de risco independente para doença coronariana e mortalidade cardíaca
Martens et al., 2010	Maior risco de evento cardiovascular em pacientes com doença coronariana com TAG
Spitzer et al., 2009	Maior razão de chance de doenças cardiovasculares e pulmonares em pacientes com transtorno de estresse pós-traumático

FONTE: Elaborada pelo autor da pesquisa.

1.3 A inflamação nos transtornos de ansiedade

1.3.1 *Estudos em modelos animais de ansiedade*

Em animais, demonstrou-se o aumento da expressão de citocinas periféricas concomitante à exacerbação do comportamento associado à ansiedade humana. Sakic et al. (1994) e Schrott e Crnic (1996), independentemente, demonstraram que camundongos de cepas que desenvolviam sintomas autoimunes semelhantes ao Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) e que apresentavam maior concentração de Fator Antinúcleo (FAN) exibiam aumento da sensibilidade a situações aversivas em comparação com camundongos sem alteração autoimune.

Yang et al. (2016) observaram aumento do comportamento associado à ansiedade em camundongos após a administração de uma dose única de endotoxina bacteriana por via intraperitoneal. Engler et al. (2011) também

observaram aumento dos comportamentos associados à ansiedade com aplicação da mesma endotoxina. Esses autores observaram ainda aumento da atividade eletroencefalográfica e da produção de noradrenalina e expressão de genes das citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α na amígdala desses animais. Após administração da mesma endotoxina bacteriana aplicada via sonda gástrica em camundongos, Fields et al. (2018) também observaram aumento do comportamento relacionado à ansiedade.

De Miranda et al. (2011) constataram comportamentos relacionados à ansiedade em camundongos infectados por *Plasmodium berghei* associados a níveis cerebrais elevados das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e TNF- α . A mesma alteração no comportamento dos camundongos foi observada em outro estudo após inoculação intracraniana do vírus 3 da dengue, dessa vez, associada ao aumento da expressão de ácido ribonucléico mensageiro - *messenger Ribonucleic Acid* (mRNA) de TNF- α e IL-6 no hipocampo (De Miranda et al., 2012).

Connor et al. (1998) perceberam respostas semelhantes ao comportamento ansioso em ratos após administração intracerebroventricular de IL-1 β e TNF- α .

Da mesma forma que a elevação das citocinas inflamatórias foi vista em associação com o aumento do comportamento associado à ansiedade, reduzir a expressão de algumas citocinas parece atenuar esse efeito em modelos experimentais. Li et al. (2017) demonstraram atenuação de comportamentos relacionados à ansiedade em ratos cuja expressão de IL-1 β havia sido reduzida por vírus mesmo após a administração de endotoxina bacteriana. Fourier et al. (2019) também perceberam menor comportamento relacionado à ansiedade em

modelos experimentais após infusão do bloqueador de TNF- α etanercept em camundongos obesos.

1.3.2 *Estudos em modelos clínicos e experimentais de ansiedade humana*

A associação entre o comportamento ansioso e as elevações de marcadores inflamatórios também foi observada em humanos. Em voluntários saudáveis, Reichenberg et al. (2001) observaram um aumento transitório da ansiedade associado às elevações de TNF- α e IL-6 após administração intravenosa de endotoxina bacteriana. Lasselin et al. (2016) também encontraram um aumento do estado ansioso associado às elevações na concentração de TNF- α , IL-6 e IL-10 após duas a três horas da administração endovenosa de endotoxina bacteriana.

Mesmo sem estímulo inflamatório agudo, uma correlação positiva entre sintomas ou estados ansiosos e inflamação também foi evidenciada. Maes et al. (1998) demonstraram o aumento de concentração de TNF- α , IFN- γ , IL-6 e de antagonista de receptor de IL-1 (IL-1Ra) durante estresse por exames em população universitária. Além disso, aqueles estudantes com maior traço-estado ansioso apresentaram índices menores das citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10 durante os exames.

Pitsavos et al. (2006) encontraram correlação positiva entre o escore no Inventário de Estado de Ansiedade de Spielberger – *Spielberger State Anxiety Inventory* (STAI) e os índices de PCR, TNF- α , IL-6, homocisteína e fibrinogênio em homens (n=453), e índices de PCR, número de leucócitos, IL-6, homocisteína e fibrinogênio em mulheres (n=400). Esses resultados não se explicavam por

outras variáveis relacionadas à saúde (por ex. antecedente de doença cardiovascular, índice de massa corpórea, tabagismo, sedentarismo, dieta, pressão arterial).

Arranz et al. (2007) observaram a presença de outras alterações inflamatórias em mulheres com elevados índices de ansiedade: (1) redução da função quimiotática; (2) déficit da resposta linfoproliferativa a mitógenos; (3) redução da atividade de células *Natural Killer* (NK); (4) menor liberação de IL-2 em culturas sobrenadantes; (5) maior liberação de Fator de Necrose Tumoral - *Tumor Necrosis Factor* (TNF), em culturas sobrenadantes, na presença de endotoxina bacteriana; e, (6) elevação do nível de cortisol plasmático.

Em indivíduos clinicamente ansiosos de acordo com a Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão (HADS), O'Donovan et al. (2010) observaram níveis reduzidos de cortisol matinal e elevados de IL-6.

Por fim, a associação entre sintomas ansiosos e inflamação foi observada em pacientes portadores de doenças como Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) (Figueiredo-Braga et al., 2009), asma (Yang et al., 2017) e Doença de Parkinson (Wang et al., 2016).

1.3.3 Estudos em populações com diagnóstico de transtorno de ansiedade

Vogelzangs et al. (2013) encontraram níveis elevados de PCR sérico em homens com Transtorno de Ansiedade Generalizada (TAG), Transtorno de Ansiedade Social (TAS) e Transtorno de Pânico (TP) e Agorafobia, mesmo após levar em consideração fatores relacionados ao estilo de vida e ao transtorno (por

ex. gravidade, duração de sintomas), especialmente, nos indivíduos que iniciaram sintomas após os 50 anos de idade.

Naudé et al. (2018) observaram um índice elevado de PCR em pacientes com transtornos de ansiedade, com exceção do Transtorno de Ansiedade Social (TAS). No entanto, quando ajustado para outros fatores como estilo de vida, índices de saúde, uso de medicação, depressão e estressores psicossociais, apenas a associação com o diagnóstico de Transtorno de Pânico (TP) foi mantida nesse último estudo.

Hoge et al. (2009) encontraram maiores concentrações de 16 citocinas (TNF- α , Proteína Inflamatória para Macrófago - *Macrophage Inflammatory Protein-1* (MIP) ou MIP-1 α , IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL12p40, IL-12p70, IL-13, IL-15, Proteína Indutora de Interferon-gama ou IP-10 e eotaxina) em 28 indivíduos com diagnóstico de Transtorno de Estresse Pós-Traumático (TEPT) e 14 citocinas (TNF- α , MIP-1 α , Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos ou GM-CSF, IL-1 α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL12p70, IL-13, IL-15 e IP-10) em 20 indivíduos com TP com e sem agorafobia.

Belem da Silva et al. (2017) observaram concentrações elevadas de IL-6, mas não de IL-10 ou TNF- α em pacientes com TP com sintomatologia atual quando comparados com aqueles em remissão. Contudo, outras variáveis, como gravidade do quadro, Índice de Massa Corpórea (IMC) e glicemia de jejum, também foram associadas a níveis mais elevados de IL-6 nesses participantes.

Wagner et al. (2015) não encontraram diferença na concentração de PCR, IL-1 β , IL-6 e TNF- α numa avaliação transversal em pacientes com diagnóstico de agorafobia, todavia, evidenciaram aumento dos níveis de PCR e TNF- α , bem

como, a redução do fator cardioprotetor adiponectina nesses pacientes após 5 anos de seguimento.

Glaus et al. (2018) notaram uma associação entre ter diagnóstico atual de algum transtorno de ansiedade, especialmente agorafobia, e apresentar um aumento mais relevante da concentração de PCR após cinco anos, independentemente do ajuste para diversos fatores relacionados ao estilo de vida e dados sociodemográficos.

Finalmente, Renna et al. (2018) identificaram maiores concentrações basais de IL-1 β , IL-6 e TNF- α em indivíduos com transtornos de ansiedade, principalmente TEPT, em uma metanálise de 41 estudos controlados.

1.3.4 Estudos em indivíduos com TAG

Khandaker et al. (2016) encontraram uma maior concentração de PCR em 40 adolescentes de 16 anos com diagnóstico de TAG do que nos demais indivíduos estudados, em um estudo populacional contendo 5365 participantes. Ademais, os sujeitos com os níveis mais elevados de PCR do estudo (quando participantes foram divididos em três partes de acordo com o nível de PCR) apresentavam cinco vezes mais chance de ter diagnóstico de TAG, mesmo após exclusão do diagnóstico de depressão.

Em estudos transversais, Hou et al. (2017) observaram níveis mais elevados de IFN- γ e TNF- α em indivíduos com TAG e níveis reduzidos de IL-10 mesmo após ajuste para idade, gênero, IMC e comorbidade com depressão. Da mesma forma, Tang et al. (2018) identificaram níveis séricos elevados de PCR, IL-1 α , IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ e de GM-CSF, demonstrando correlações

positivas entre as medidas de ansiedade e as concentrações de PCR, IL-1 α , IL-6, IL-8, IFN- γ e GM-CSF.

Outros estudos avaliaram a relação entre a presença do diagnóstico atual de TAG e alterações inflamatórias de forma longitudinal. Copeland et al. (2012) observaram que o diagnóstico de TAG foi associado aos índices elevados de PCR em avaliação transversal de pessoas com idade entre 9 e 21 anos de idade. No entanto, nos modelos longitudinais, a associação entre o diagnóstico de TAG e a elevação posterior de PCR foi atenuada quando covariáveis ligadas à saúde, como o IMC e o uso de medicação, foram ajustadas. Em outro estudo mais recente, Wagner et al. (2020) encontraram redução de IL-6 e adiponectina em adultos com TAG após cinco anos de seguimento, porém, não identificaram alteração nos níveis de PCR, IL-1 β ou TNF- α .

Finalmente, Costello et al. (2019) identificaram níveis elevados de PCR, IFN- γ e TNF- α em pacientes com TAG em uma revisão de literatura de 14 estudos. Nessa revisão, foi possível metanálise somente para o PCR, tendo sido encontrado um tamanho de efeito pequeno e alta heterogeneidade.

1.4 Mecanismos da resposta inflamatória alterada nos transtornos de ansiedade

Embora a associação entre a ansiedade e as alterações no sistema imune esteja demonstrada, a forma como esses dois processos se relacionam não é precisa. Assim como o sistema neuroendócrino transmite informação para o sistema imune através de neurotransmissores e hormônios, o sistema imune também se comunica com o sistema neuroendócrino através de citocinas e quimiocinas (Leonard; Myint, 2009). Portanto, acredita-se que a relação entre o

sistema imune e o sistema nervoso nos transtornos neuropsiquiátricos seja bidirecional.

Fatores de estilo de vida em indivíduos com ansiedade elevada podem gerar uma resposta inflamatória elevada. Sujeitos ansiosos apresentam maior tendência ao abuso de substâncias como álcool e outras drogas (Wolitzky-Taylor et al., 2012), ao comer menos saudável (Schneider et al., 2010), ao sedentarismo (Azevedo da Silva et al., 2012) e ao tabagismo (Strine et al., 2005). No entanto, nem todos os indivíduos ansiosos apresentam comportamentos pouco saudáveis e alguns estudos (Hoge et al., 2009; Pitsavos et al., 2006) excluíram a influência desses fatores nos seus resultados.

Mecanismos neurobiológicos intrínsecos aos transtornos de ansiedade podem estar envolvidos na promoção da inflamação. A hipersensibilidade à ameaça, característica encontrada em todos os transtornos de ansiedade, pode aumentar o risco para uma ativação repetida e prolongada dos sistemas biológicos ligados ao estresse, inclusive os sistemas inflamatórios. Em indivíduos cronicamente ansiosos, essa ativação sustentada pode acarretar mudanças biológicas estruturais e funcionais que promovem um estado de inflamação crônica (O'Donovan et al., 2013).

1.4.1 *Do SNC ao sistema imune nos transtornos de ansiedade*

O viés atencional relacionado à ameaça é uma das características neuropsicológicas descritas em indivíduos com todos os transtornos de ansiedade, inclusive o TAG (Goodwin et al., 2017).

Pacientes com TAG apresentam maior ativação da amígdala em antecipação a imagens tanto aversivas como neutras (Nitschke et al., 2009) e dificuldade de regular a atividade da amígdala em situações ambíguas (Etkin et al., 2010) em relação aos sujeitos controle. Dessa forma, indivíduos com TAG podem se sentir ameaçados em diversas situações corriqueiras como avaliações, contato com notícias desagradáveis, conflitos interpessoais e, até mesmo, possibilidades de promoção na vida profissional. Uma das formas mais frequentes de enfrentamento nos indivíduos ansiosos é a esquivas, na qual o sujeito se comporta com a função de adiar ou reduzir o contato com o estímulo aversivo. No entanto, essa forma de comportamento impede o contato direto com o estímulo que gerou a percepção de ameaça, mantendo ou exacerbando o viés atencional.

No TAG, a amígdala e o Córtex Pré-Frontal (CPF) são áreas que apresentam ativação aumentada (Hilbert et al., 2014), ambas as regiões apontadas como ligadas à percepção de ameaça (Bishop, 2008).

As áreas cerebrais ligadas ao processamento da ameaça podem ativar sistemas biológicos ligados à resposta ao estresse como o eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) e o Sistema Nervoso Autônomo (SNA) (Dickerson; Kemeny, 2004; Thayer et al, 2012).

Regiões do hipocampo, amígdala e do CPF medial modulam a atividade do eixo HPA através de projeções para neurônios do núcleo paraventricular do hipotálamo (Urich-Lai; Herman, 2009) que estimulam a liberação de hormônio ACTH pela hipófise através do fator liberador de Corticotrofina - *Corticotropin-Releasing Factor* (CRF), promovendo a secreção do hormônio glicocorticóide cortisol pelo córtex da glândula adrenal.

No caso do SNA, tanto o núcleo central da amígdala (LeDoux, 2007) como o CPF medial emitem projeções que modulam esse sistema através de núcleos pré-autonômicos no tronco cerebral como o núcleo do trato solitário (McKlveen et al., 2015). A percepção de ameaça estimula o ramo simpático do SNA (o sistema nervoso simpático ou SNS), promovendo maior liberação de epinefrina e norepinefrina pela medula adrenal e pelos nervos simpáticos ao longo do corpo, gerando vasoconstricção periférica e aumento da pressão arterial. Ao mesmo tempo, reduz a atividade parassimpática (Thayer et al, 2012).

Por sua vez, os glicocorticóides - *Glucocorticoids* (GC) e as catecolaminas (epinefrina e norepinefrina) exercem efeito nas células do sistema imune, tanto periférico como do SNC, através de receptores específicos.

A modulação adrenérgica das células imunes (neutrófilos, monócitos, linfócitos) ocorre através de adrenorreceptores, especialmente do tipo β , implicados na mediação da resposta pró-inflamatória induzida por estresse (Johnson et al., 2005; Grisanti et al., 2010). Da mesma forma, a reduzida atividade do sistema nervoso parassimpático, decorrente da percepção de ameaça, tem sido associada à atividade inflamatória aumentada (Haensel et al., 2008), mesmo quando a atividade do SNS é levada em consideração (Thayer; Fisher, 2009).

Os glicocorticóides têm efeitos diferentes de acordo com a duração, a intensidade e o alvo do seu efeito. Apesar do conhecido efeito imunossupressor dos glicocorticóides, estudos em animais e humanos têm evidenciado redução da sensibilidade dos receptores de glicocorticóides em células imunes em paradigmas experimentais de estresse (Dickerson et al., 2009; Sheridan et al., 2000; Cohen et al., 2012), reduzindo o efeito anti-inflamatório do cortisol.

Sendo assim, pode-se estabelecer uma hipótese que a ativação crônica dos sistemas biológicos ligados ao processamento da ameaça promova uma resposta inflamatória exacerbada nos transtornos de ansiedade e relacionados ao medo (Michopoulos et al., 2017), Figura 1.

Enquanto essas mudanças do organismo são necessárias de forma aguda em situações reais de ameaça, a persistência dessas pode promover uma resposta inflamatória aumentada crônica, contribuindo para um maior risco de depressão clínica (Dantzer et al., 2008), Diabetes mellitus tipo 2 (Pradhan et al., 2001), doença cardiovascular (Batelaan et al., 2014), pior prognóstico na insuficiência cardíaca (Yin et al., 2004), além de prejuízo funcional (Cohen et al., 1997) e mortalidade tanto geral (Morrow et al., 1998) como por fator cardiovascular (Strandberg; Tilvis, 2000) em idosos.

* HPA= Hipófise-Pituitária-Adrenal

** NE= Norepinefrina.

*** SNA= Sistema Nervoso Autônomo

FONTE: Adaptado de O'Donovan et al. (2013) com a permissão de Elsevier.

Figura 1 - Vias que conectam áreas neurais ligadas à sensibilidade à ameaça e vias inflamatórias.

1.4.2 Do sistema imune para o SNC (o papel das citocinas)

As citocinas são proteínas, peptídeos ou glicoproteínas liberados por vários tipos de células imunes no corpo (macrófagos, linfócitos) e no cérebro (células da glia e neurônios) que servem como sinais celulares para regular a resposta imune ao dano ou infecção, desempenhando um papel central tanto na inflamação aguda como na crônica através de uma complexa rede de interações.

É possível classificar as citocinas baseado na natureza da resposta imune que intermediam, são elas: as pró-inflamatórias (por ex. IL-1, IL-6, INF- γ e TNF- α) que estimulam a resposta imune a eliminar os patógenos; e, as anti-inflamatórias (por ex. IL-4, IL-10 e IL-12) que reduzem a resposta imune através da diminuição da função celular e da síntese de citocinas pró-inflamatórias (Turner et al., 2014). Como exposto acima, há uma elevação de citocinas pró-inflamatórias em pacientes com transtorno de ansiedade, provavelmente, mediada pelas vias neuroendócrinas ligadas ao estresse.

Essas citocinas periféricas, por sua vez, podem agir no cérebro através de cinco mecanismos humorais, celulares ou neurais: (1) a passagem de citocinas por “falhas” na barreira hematoencefálica; (2) o transporte ativo por transportadores citocina-específicos no endotélio cerebral; (3) a indução de liberação de segundo mensageiros como prostaglandinas e óxido nítrico após ativação de células endoteliais; (4) a transmissão por fibras nervosas aferentes como o nervo vago; ou, (5) pela entrada no parênquima cerebral por monócitos ativados periféricamente (Capuron; Miller, 2011).

A ação de uma resposta inflamatória crônica ou desregulada no SNC pode contribuir para sintomas comportamentais disfuncionais ou transtornos neuropsiquiátricos. Acredita-se que as citocinas possam provocar mudanças comportamentais através de seu efeito nos seguintes alvos: neurotransmissores (podem alterar o metabolismo da serotonina, dopamina e glutamato), sistema neuroendócrino (podem alterar a função do eixo HPA através de efeitos estimulantes na expressão e liberação do ACTH e do cortisol), neurogênese (ativação do NF- κ B) e estruturas neurais (Hou; Baldwin, 2012). Entre as áreas do SNC mais afetadas pelas citocinas, os gânglios da base e o córtex cingulado

anterior são as mais conhecidas, porém, outras regiões como a amígdala, o hipocampo, o córtex pré-frontal dorsolateral e a ínsula também parecem estar envolvidas (Miller et al., 2013).

Uma série de alterações comportamentais como anedonia, dificuldade de concentração, apatia, fadiga, lentificação psicomotora, anorexia, disfunção cognitiva e alteração do sono estão associados à resposta inflamatória. Essa síndrome é chamada de comportamento-doente e é vista em humanos e animais durante processos infecciosos (Dantzer, 2001).

Por fim, essas alterações neuroendócrinas promovidas pelas citocinas no SNC contribuem para a exacerbação ou manutenção do estado inflamatório crônico e dos sintomas comportamentais (Figura 2).

1.5 Efeito da inflamação na neurogênese e seu papel na fisiopatologia dos transtornos de ansiedade

A principal consequência da desregulação nos níveis de citocinas no SNC é a produção de moléculas inflamatórias, oxidativas e nitrosativas que afetam a neurogênese e a homeostase cerebral (Leonard; Maes, 2012). Por exemplo, uma redução da expressão de *Brain-Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) no cérebro já foi demonstrada tanto após administração de endotoxina bacteriana como de IL-1 β em estudos com roedores (Guan Z; Fang J, 2006; Barrientos et al., 2004). A IL-1 β , uma citocina pró-inflamatória, parece influenciar a citogênese e a neurogênese no hipocampo por dois principais mecanismos: a interação direta com seu receptor (IL – 1R1), com a consequente ativação do NF κ B, e a

secreção de glicocorticóides após exposição a estressores ambientais (Goshen et al., 2008).

*ACTH *Adrenocorticotrophic Hormone*

**BDNF *Brain-Derived Neurotrophic Factor*

***CRF *Corticotropin-Releasing Factor*

****SNA *Sistema Nervoso Autônomo*

*****SNP *Sistema Nervoso Parassimpático*

*****SNS *Sistema Nervoso Simpático*

FONTE: Elaborado pelo autor da pesquisa

Figura 2 - Interação recíproca entre o sistema nervoso e o sistema imune na resposta inflamatória nos transtornos de ansiedade.

Da mesma forma, o bloqueio da IL-1, através da administração de antagonista de receptor de IL-1 ou o uso de ratos com gene desativado para IL-1, reverte a redução da produção de fatores de crescimento, como o BDNF e a diminuída neurogênese associada ao estresse crônico (Koo; Duman, 2008). Por

isso, a IL-1 β tem sido proposta como a principal mediadora do efeito antineurogênico do estresse (Calabrese et al., 2014).

A neurogênese é o processo de formação de novos neurônios a partir de células nervosas progenitoras que são funcionalmente integradas à rede neuronal. Constitui um dos mecanismos estruturais e funcionais que contribuem para a habilidade do sistema nervoso de responder e adaptar-se aos desafios ambientais chamada de neuroplasticidade.

A família das neurotrofinas tem um importante papel nesses mecanismos, uma vez que, além de promover a sobrevivência neuronal, ela modula todos os passos para a construção da rede neuronal, desde a migração ao refinamento de conexões locais dependente de experiências. Da família das neurotrofinas, o fator neurotrófico derivado do cérebro - *Brain-Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) é um importante mediador na neuroplasticidade, sendo abundante nas regiões cerebrais particularmente relevantes para esse processo. Além disso, demonstra uma significativa regulação de sua expressão dependente de atividade, o que sugere uma ponte entre a experiência e mudanças duradouras na função neuronal (Park; Poo, 2013).

Diversos estudos apontaram o impacto positivo do BDNF na formação de neurônios em adultos (Calabrese et al, 2014). Além disso, experimentos com modelos animais de estresse demonstraram que diferentes tipos de estresse agudo e crônico (entre 7 e 21 dias) como imobilização aguda, choque no pé imprevisível, isolamento social, derrota social, teste de natação e privação materna reduzem a expressão de BDNF no hipocampo (Duman; Monteggia, 2006).

Embora a concentração de BDNF seja maior no tecido cerebral, este fator está também presente no sangue, havendo relatos de que pode cruzar a barreira hematoencefálica e de correlações positivas entre o BDNF periférico e cerebral em roedores (Karege et al., 2002). Na tentativa de ampliar esses achados para a psicopatologia humana, diversos ensaios mediram o nível de BDNF no sangue de pacientes deprimidos, demonstrando níveis reduzidos nessa população, efeito esse reversível com medicamento antidepressivo (Duman; Monteggia, 2006).

Nos transtornos de ansiedade, Suliman et al. (2013) encontraram níveis de BDNF menores em indivíduos com qualquer transtorno de ansiedade em revisão sistemática de oito estudos com 1179 participantes do que em indivíduos saudáveis. No entanto, esse resultado ocorreu principalmente devido aos pacientes com Transtorno Obsessivo-Compulsivo (TOC).

No TP, Kobayashi et al. (2005) encontraram um menor nível sérico de BDNF nos participantes que responderam mal à terapia comportamental-cognitiva. No entanto, não houve diferenças entre o BDNF sérico de pacientes e sujeitos controle.

No TAG, Ball et al. (2013) não encontraram relação entre o nível de BDNF plasmático e a gravidade da ansiedade. Entretanto, os participantes que receberam tratamento com duloxetina tiveram um aumento superior do nível da neurotrofina.

Em síntese, é plausível que um dos mecanismos pelos quais a inflamação pareça afetar a função cerebral seja através da modulação do BDNF.

1.6 A Terapia Comportamental Baseada em Aceitação e Atenção Plena (TCBA)

como intervenção terapêutica

O modelo demonstrado de interação entre a resposta inflamatória e o SNC aponta para diversos alvos de intervenção possíveis. As mais variadas formas de TCC intervêm no viés atencional ligado à ameaça (Smits et al., 2012) ao mesmo tempo que estimulam o paciente ansioso a expor-se de maneira gradual aos estímulos percebidos como ameaçadores (Foa; Kozak, 1986). Além disso, estratégias de atenção plena, uma prática meditativa estruturada que visa cultivar “a atenção no momento presente sem julgamento” (Kabat-Zinn, 1990) e aceitação, têm sido crescentemente incorporadas às terapias cognitivo-comportamentais no tratamento de transtornos psiquiátricos, o que tem sido chamado como movimento de “terceira onda” no desenvolvimento histórico da terapia cognitivo-comportamental (Hayes, 2004).

Diferentemente da TCC tradicional, que enfoca na substituição de pensamentos disfuncionais que geram o estado ansioso e nas estratégias de exposição às situações temidas, o objetivo das estratégias de aceitação e atenção plena é modificar a relação do paciente com a sua ansiedade, tornando-se menos identificado com seus pensamentos e aumentando sua disposição para tolerar o estresse e tomar ações nas áreas de vida consideradas importantes pelo paciente (Vollestad et al., 2012).

Poucos estudos avaliaram os efeitos da psicoterapia cognitivo-comportamental no perfil inflamatório de pacientes com transtornos psiquiátricos primários. Moreira et al. (2015) demonstraram que o nível sérico das citocinas pró-inflamatórias IL-6 e TNF- α , em pacientes deprimidos, reduziu apenas nos pacientes tratados com intervenção breve do tipo terapia cognitivo-

comportamental, não naqueles que receberam terapia cognitiva narrativa. Ambas linhas de psicoterapia foram associadas à redução dos sintomas depressivos pós-tratamento, porém, a terapia cognitivo-comportamental foi mais efetiva na remissão dos sintomas.

Em indivíduos com TAG, Tafet et al. (2005) perceberam redução significativa do nível de cortisol vespertino, assim como os escores clínicos de ansiedade, após 24 sessões de terapia cognitiva em comparação a indivíduos sem tratamento.

Quanto às estratégias de atenção plena e aceitação, Memon et al. (2017) não detectaram diferença no nível sérico de IL-8 e PCR em indivíduos com sintomas depressivos e ansiosos de intensidade leve a moderado após tratamento tanto no grupo que recebeu terapia baseada em atenção plena como no grupo que recebeu TCC. Já Hoge et al. (2018) descreveram uma menor concentração de ACTH, IL-6 e TNF- α durante o Teste de Estresse Social de Trier - *Trier Social Stress Test* (TSST) em pacientes com TAG que receberam tratamento com um protocolo de Redução de Estresse baseado em Atenção Plena – *Mindfulness-based Stress Reduction* (MBSR), em comparação ao grupo controle ativo (aula de controle de atenção).

Villalba et al. (2019) não observaram alteração da PCR em voluntários com elevado nível de estresse após programa de oito semanas de MBSR quando comparado com grupo que não recebeu tratamento, exceto em subgrupo de indivíduos com risco aumentado para inflamação sistêmica (adultos com sobrepeso ou acima de 45 anos).

Black e Slavich (2016) observaram que intervenções que tinham a atenção plena como elemento principal tinham pelo menos tendência ou efeito

dosagem-dependente na redução da atividade do NF- κ B, redução no nível circulante de proteína C reativa, aumento na contagem de células CD4 em indivíduos com diagnóstico de HIV e aumento na atividade da telomerase, porém, não tinham efeitos semelhantes em relação aos anticorpos (IgA, IgG, influenza), às interleucinas (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10), aos Interferon- γ e TNF- α e à contagem de outras células imunes em uma revisão de 20 ensaios controlados. Além disso, a maior parte dos estudos tinha como alvo de intervenção populações com doenças sistêmicas (HIV, câncer, colite ulcerativa), fatores de risco (envelhecimento, solidão, sobrepeso), ou voluntários saudáveis (por ex. funcionários de uma empresa, residentes de comunidades), e, não transtornos psiquiátricos.

Por fim, não foram encontrados, até o momento, estudos que avaliassem o efeito da TCBA nos fatores inflamatórios e BDNF em pacientes com TAG.

1.7 Justificativa

O TAG é uma condição prevalente, crônica e debilitante que, além de provocar prejuízo funcional e laborativo, está associado a maior risco de síndrome metabólica e eventos cardiovasculares, ambas condições relacionadas aos processos inflamatórios crônicos e sistêmicos.

Apesar da presença de condições relacionadas à saúde mais prevalentes em pacientes com transtornos de ansiedade (por ex. tabagismo, sobrepeso), que podem contribuir para esse processo inflamatório, parte da resposta inflamatória exacerbada em indivíduos ansiosos parece ocorrer mesmo na ausência desses fatores. A modulação do eixo neuroendocrinológico de resposta ao estresse por

áreas relacionadas à ameaça cronicamente ativadas nos transtornos de ansiedade é uma das explicações plausíveis para essa desregulação no sistema imune dos pacientes ansiosos.

Apesar da TCC ser o tratamento psicológico com maior nível de evidência para o TAG, pouco se sabe sobre os mecanismos fisiológicos que ocorrem durante esse processo e o possível efeito dessa intervenção em fatores inflamatórios e neurotróficos em pacientes com transtorno de ansiedade.

Investigar intervenções psicossociais que possam agir tanto no quadro clínico comportamental como nos possíveis fatores biológicos relacionados é essencial tanto na melhora de qualidade de vida desses pacientes como no entendimento da relação entre sintomas comportamentais e o sistema imune.

Entretanto, não há na literatura disponível, até o momento, estudos que avaliam o efeito da TCBA no perfil inflamatório, nem sua relação com o BDNF plasmático de pacientes com TAG.

2 OBJETIVOS

O objetivo desse estudo é avaliar o efeito da Terapia Comportamental Baseada em Aceitação e Atenção Plena (TCBA) nos marcadores inflamatórios e no BDNF em pacientes com TAG em comparação com uma condição controle ativa (terapia suportiva).

2.1 Objetivo primário

Verificar se a TCBA reduz a resposta inflamatória e estimula a neurogênese em pacientes com TAG em comparação com aqueles alocados aleatoriamente para a condição controle.

2.1.1. Hipótese nula para o objetivo primário

Não há diferença de efeito entre a TCBA e a condição controle nos marcadores inflamatórios (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α e PCR), nem no BDNF em pacientes com TAG.

2.2 Objetivos secundários

Verificar se:

- a. Há correlação positiva entre a variação do nível sérico dos marcadores pró-inflamatórios (IL-1 β , IL-6, TNF- α , PCR) e os

sintomas de ansiedade.

- b. Há correlação inversa entre a variação do nível plasmático do BDNF e os sintomas de ansiedade.
- c. Há correlação inversa entre a variação do nível sérico dos marcadores pró-inflamatórios (IL-1 β , IL-6, TNF- α , PCR) e do nível plasmático do BDNF.

2.2.1 Hipóteses nulas para os objetivos secundários

- a. Não há correlação entre a variação do nível sérico dos marcadores pró-inflamatórios e os sintomas de ansiedade.
- b. Não há correlação entre a variação do nível plasmático do BDNF e os sintomas de ansiedade.
- c. Não há correlação entre a variação do nível sérico dos marcadores pró-inflamatórios e do nível plasmático do BDNF.

3 MÉTODOS

Os dados utilizados para este estudo fazem parte do projeto intitulado “Ensaio clínico randomizado de uma terapia comportamental baseada em aceitação em grupo com atenção plena e exposição no transtorno de ansiedade generalizada”, aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAPPesq HC-FMUSP) e registrada na plataforma Brasil (CAAE: 51363615.4.0000.0068). Para sua realização, foi concedido auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) através de auxílio-pesquisa (processo no. 2018/18932-0) ao Dr. Márcio Antonini Bernik.

Os dados foram coletados entre fevereiro e julho de 2016. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) após leitura da descrição do projeto e elucidação de eventuais dúvidas antes de qualquer procedimento.

Trata-se de um ensaio clínico randomizado que comparou 10 sessões de TCBA em grupo com 10 sessões de terapia suportiva em grupo como controle ativo (Sampaio, 2020). Neste estudo em específico, amostras de sangue foram coletadas antes e após a intervenção psicológica, a fim de verificar o efeito da TCBA nos marcadores inflamatórios e no BDNF de pacientes com TAG.

3.1 Participantes

Os participantes incluídos nesse estudo foram recrutados do ensaio clínico randomizado de psicoterapia de acordo com os seguintes critérios:

3.1.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos indivíduos do sexo feminino e masculino, entre 18 e 65 anos, alfabetizados e com diagnóstico de TAG de acordo com os critérios do DSM-IV pela Minientrevista Neuropsiquiátrica Internacional (MINI) – *Mini-International Neuropsychiatric Interview – Brazilian version 5.0.0* (MINI; Sheehan et al., 1998), sem uso de medicamentos psicotrópicos ou, se em curso de tratamento farmacológico, com dose estável das medicações por pelo menos três meses antes do início do estudo. Como critério adicional para esse experimento com biomarcadores, foi necessária a disponibilidade de amostra de sangue em volume adequado em pelo menos uma das coletas.

3.1.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos participantes com transtorno afetivo bipolar (ou episódio maníaco passado), psicose, dependência química (exceto se abstinência por três meses ou mais, considerado remissão inicial pelo DSM 5 – APA, 2015), ou risco suicida considerado elevado, de acordo com a MINI (Sheehan et al., 1998). Participantes em tratamento psicológico atual também foram excluídos.

3.2 Recrutamento e triagem

Os participantes foram recrutados a partir de listas de pacientes inscritos no Programa Ansiedade (AMBAN – Instituto de Psiquiatria – Hospital das

Clínicas – IPq - HCFMUSP) e na Associação de Familiares e Portadores de Transtorno de Ansiedade (APORTA). Além disso, foi feito anúncio na mídia através da assessoria de imprensa do IPq e redes sociais.

Os pacientes passaram por pré-triagem para avaliar se a queixa principal era compatível com o diagnóstico de TAG, a condição de tratamento atual (por ex. em uso de medicamento) e a disponibilidade de horário, feita por meio de uma breve entrevista por telefone ou endereço eletrônico. Posteriormente, os indivíduos pré-triados foram entrevistados presencialmente por psiquiatras e psicólogos colaboradores do AMBAN-IPq-HC- FMUSP, treinados na utilização dos instrumentos utilizados, para coleta de informações sociodemográficas, diagnóstico de TAG e de condições que configuram critério de exclusão para o estudo através da escala MINI. Esse período de pré-triagens e entrevistas presenciais ocorreu entre setembro de 2015 e fevereiro de 2016.

Os participantes que foram considerados aptos pela triagem e concordaram com o TCLE (n = 92) foram alocados de forma aleatória a um dos dois grupos através de um gerador de números aleatórios que atribuiu um número identificador para cada participante. Foi utilizado o método de randomização de blocos permutados associado a esquema de estratificação de acordo com uso atual de medicamentos para garantir o mesmo número de sujeitos em uso de psicotrópicos nos dois grupos, reduzindo a influência dessa variável no efeito das intervenções. O procedimento foi realizado através do sítio <http://www.randomization.com> em fevereiro de 2016.

Um participante acima de 65 anos (70 anos) foi incluído equivocadamente no estudo no grupo experimental. Foi decidido pela inclusão dos seus dados,

visto que não foi demonstrada discrepância em relação aos demais participantes.

Foi solicitado aos participantes em tratamento farmacológico, incluídos no estudo, que evitassem alterações nas medicações durante as 14 semanas do estudo.

3.3 Intervenções

Ambas intervenções terapêuticas, experimental e controle, ocorreram em grupo, compostas por dez sessões com duração de até 2 (duas) horas / sessão ao longo de quatorze semanas (seis semanais e as quatro últimas quinzenais). Tanto as intervenções psicoterápicas como a coleta de sangue ocorreram nas dependências do IPq – HC – FMUSP.

A TCBA seguiu protocolo utilizado por Roemer et al. (2008), composto por psicoeducação sobre ansiedade e TAG baseado no modelo comportamental baseado em aceitação (função das emoções, papel da esquiva experiencial na piora do sofrimento e dos prejuízos funcionais), orientação para aplicação desses conceitos ao quadro clínico de cada participante e uma série de práticas de atenção plena formais e informais (de Almeida Sampaio et al., 2020).

O grupo controle de Terapia Suportiva (TS) também se baseou em um protocolo pré-definido que seguia as diretrizes para psicoterapia suportiva breve propostas por Markowitz (2014), cujo foco era a “conversa suportiva”. Os temas emergiam de cada sessão e os terapeutas estimulavam a expressão dos participantes de forma livre, recebendo e oferecendo apoio mútuo. Além disso, uma forma não diretiva de psicoeducação sobre os sintomas de TAG, sua

nosologia, tratamentos disponíveis e epidemiologia foi realizada de forma genérica. No entanto, instruções de exposição ou técnicas de meditação ou atenção plena não eram permitidas no grupo controle.

Para garantir a validade interna das intervenções, os participantes que apresentaram duas faltas consecutivas ou mais de duas faltas ao longo do tratamento foram excluídos do projeto e encaminhados para outras opções de tratamento.

3.4 Amostras de sangue e análises bioquímicas

As coletas de sangue foram realizadas em duas ocasiões para cada participante. A primeira coleta ocorreu no mesmo dia, porém, antes da primeira sessão de terapia (semana 1), e a segunda, após a última sessão de psicoterapia (semana 14), ambas no primeiro semestre de 2016. Tanto os terapeutas quanto os avaliadores não tiveram conhecimento dos resultados das análises laboratoriais até o final da intervenção.

A análise bioquímica foi realizada com o auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) através de auxílio-pesquisa (processo no. 2018/18932-0) concedido ao Dr. Márcio Antonini Bernik.

Foram realizadas duas coletas de 10ml de sangue, sendo 5ml em amostra de sangue total com anticoagulante EDTA e 5ml em amostra de sangue total sem anticoagulante.

As amostras foram centrifugadas a 4.000 rpms por 20 minutos a 4 graus Celsius, aliquotadas e congeladas a -80 graus Celsius, armazenadas no LIM-12 (Laboratório de Pesquisa Básica em Doenças Renais) da Faculdade de Medicina

da USP.

A Proteína C-Reativa (PCR) quantitativa ultrassensível, quantificada em mg/L, foi dosada por imunoturbidimetria pelo analisador modular Cobas 8000 (*Roche Instrument Center*, Rotkreuz, Suíça) no Laboratório de Patologia Clínica – Hospital das Clínicas do Departamento de Patologia da FMUSP. Os participantes com níveis de PCR acima de 10mg/L em qualquer uma das medidas foram excluídos ($n = 5$), pois uma elevação dessa magnitude é provavelmente atribuível a um estado inflamatório agudo ou estado infeccioso, não a uma inflamação sistêmica de baixo grau associada a riscos cardiovascular e metabólico (Pearson et al., 2003; Copeland et al., 2012; Wagner et al., 2015).

Os níveis séricos de IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10 e TNF-alfa, quantificados em pg/mL, foram dosados pela tecnologia Luminex xMAP, utilizando o kit de imunoensaio comercial (Bio-Plex Pro Human, Bio-Rad Inc., USA) de acordo com as instruções do fabricante. Os limites mínimos de detecção do TNF- α , da IL-4, IL-6 e IL-10, foram, respectivamente: 1,25; 0,06; 0,15 e 0,42. As medidas indetectáveis foram substituídas por metade do limite mínimo de detecção específico para cada marcador como sugerido por Wagner et al. (2015).

A concentração plasmática de BDNF, quantificada em pg/mL foi dosada em duplicata pelo método Elisa com o ChemikineTM BDNF Sandwich ELISA kit (Chemicon International, CYT306, Millipore, Billerica, MA, USA), de acordo com instruções do fabricante. Tanto as amostras como as soluções padrões foram dosadas em duplicata e as médias das medidas foram usadas para análise.

3.5 Instrumentos de avaliação clínica

As medidas clínicas das intervenções ocorreram uma semana antes da primeira sessão em grupo (semana 0), na sexta sessão (semana 6) e após a décima e última sessão de tratamento (semana 14).

A gravidade dos sintomas ansiosos foi medida pela versão brasileira (Kummer et al., 2010) da Escala de Ansiedade de Hamilton (HAM-A) – (Hamilton, 1959). Trata-se de uma escala aplicada por avaliador que consiste em 14 itens que medem tanto o componente psíquico como o somático da ansiedade. Cada item é definido por uma série de sintomas e pode ser pontuado de 0 (não está presente) a 4 (intensidade máxima) numa amplitude total de 0-56 pontos em toda a escala. A pontuação menor que 17 é considerada de intensidade leve, entre 18 e 24, leve à moderada e entre 25 e 30, moderada à grave. A aplicação da escala foi realizada por psicólogos treinados que, cegos em relação à condição de tratamento, realizavam todas as avaliações do mesmo participante ao longo da pesquisa.

A versão brasileira (Vignola; Tucci, 2014) da subescala de depressão da Escala de Estresse, Ansiedade e Depressão – *Depression, Anxiety and Stress Scale* – versão com 21 itens (DASS-21) (Lovibond P; Lovibond S, 1995), foi utilizada para mensurar os sintomas depressivos. A escala DASS foi criada para maximizar as diferenças entre os relatos de depressão e ansiedade ao avaliar os aspectos principais de cada construto. Cada subescala consiste de 7 itens, onde o participante pontua entre 0 (“Não se aplica a mim de forma alguma”) a 3 (“Aplica-se muito a mim ou na maior parte do tempo”). Os valores de corte para as intensidades normal, leve, moderado, grave e extremamente grave são, respectivamente, 0-9, 10-13, 14-20, 21-27 e maior que 28. A escala DASS-21 foi respondida de forma individual através da utilização do software *Research*

Electronic Data Capture (REDCap) (Harris et al., 2009), uma plataforma digital de coleta e gerenciamento de dados hospedada na Universidade de São Paulo.

3.6 Cálculo da amostra

O tamanho da amostra foi calculado baseado na variável primária de desfecho clínico (eficácia e efetividade) adotada no ensaio clínico de psicoterapia do qual esse estudo faz parte: os escores da escala DASS (Tabela 2), utilizando a comparação de duas médias (Chow et al., 2007). Foi adotado $n=96$, visando garantir o poder de 80%, considerando a expectativa máxima aproximada de abandono (*dropout*) em 25%.

Tabela 2 - Cálculo do tamanho da amostra

	n por grupo	Margem	Delta
DASS- Ansiedade	34	7,0	1,8
DASS- Estresse	14	10,1	-2,9

FONTE: Elaborada pelo autor da pesquisa a partir de Sampaio, 2020

3.7 Análise de dados

O teste *t* de *Student* para amostras independentes e o teste exato de Fisher foram utilizados para comparar as variáveis quantitativas (idade e escores nas escalas HAM-A e DASS-depressão) e qualitativas (sexo, escolaridade, estado civil, uso de psicotrópico, presença de comorbidades), respectivamente, entre grupos antes do tratamento.

Para comparação entre os níveis dos marcadores biológicos e dos escores de ansiedade pela HAM-A, entre os períodos de tempo de cada grupo e entre os grupos para cada tempo, foi utilizado o modelo linear de efeitos mistos (MLM). Nesse modelo, todos os dados disponíveis são utilizados na análise que considera os dados ausentes como aleatórios (Schall, 1991).

Devido à distribuição assimétrica das variáveis IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF e PCR, foi realizada a transformação logarítmica de seus valores para essa análise. Já para a análise do BDNF e dos escores na HAM-A, foram utilizados os dados originais. Além disso, os efeitos do modelo misto foram recalculados com ajustes para as covariáveis de sexo, idade, escore basal de ansiedade (HAM-A) e o diagnóstico de depressão pela entrevista MINI.

Para a correlação entre a gravidade dos sintomas ansiosos e os níveis dos biomarcadores, foi calculado o coeficiente de correlação de Spearman de ganhos residuais em porcentagem (Rankin; Tracy, 1965), entre cada biomarcador, e os escores da HAM-A ao longo do tratamento. Na análise de correlação, os dados ausentes foram excluídos.

As análises foram realizadas no software estatístico SAS 9.4 e os gráficos foram construídos no software estatístico R 3.5.0. Foi fixado o nível de significância $\alpha = 0,05$ para todas as análises.

4 RESULTADOS

Dos 92 participantes alocados, 82 sujeitos (41 em cada grupo) realizaram pelo menos uma coleta de sangue ao longo do estudo (81 no pré-tratamento e 44 no pós-tratamento), dos quais 5 (4 do grupo experimental e 1 do controle) foram excluídos por terem apresentado pelo menos uma medida de PCR acima de 10mg/L. Desta forma, 77 sujeitos participaram da análise estatística final (Figura 3).

A taxa de abandono ao tratamento foi maior do que o esperado em ambos os grupos (TCBA n=25 ou 54%; TS n=23 ou 50%), porém, sem diferença entre as intervenções. As principais razões para interrupção do tratamento foram “não conseguir comparecer ao horário das sessões” (TCBA = 5; TS = 3) e a “necessidade de faltar mais sessões do que o permitido pelo protocolo” (TCBA = 10; TS = 4). Nenhum participante relatou modificação do tratamento farmacológico ou busca de outros tratamentos ao longo do estudo.

*PCR Proteína C Reativa

**TAG Transtorno de Ansiedade Generalizada

***TCBA Terapia Comportamental Baseada em Aceitação e Atenção Plena

FONTE: Elaborado pelo autor da pesquisa a partir do modelo de Boutron et al. (2017)

Figura 3 – Fluxograma CONSORT modificado para ensaios controlados randomizados de tratamento não-farmacológico

4.1 Características sociodemográficas e clínicas

Os dados sociodemográficos dos participantes analisados estão descritos na Tabela 3. A maior parte da amostra era composta de mulheres (75,3%), com idade entre 18 e 70 anos ($M = 35,8$ anos, Desvio padrão = 12,1), com ensino superior (70,1%), estado civil solteiro ou desquitado (77,9%), cujas comorbidades psiquiátricas mais comuns foram depressão (62,3%) e transtorno de pânico (45,5%). Os grupos não diferiram quanto às características sociodemográficas, nem quanto ao uso atual de medicamento psiquiátrico ou principais comorbidades psiquiátricas presentes.

Tabela 3 - Caracterização sociodemográfica e clínica da amostra analisada

Variável		Total n=77	Intervenção		p- valor
			Controle n=40	Experimental n=37	
Sexo					
	Feminino	58 (75,3%)	31 (77,5%)	27 (73,0%)	0,79**
	Masculino	19 (24,7%)	9 (22,5%)	10 (27,0%)	
Idade (anos)					
	Média ±DP	35,8 ±12,1	34,5 ±11,1	37,4 ±13,2	0,3*
Escolaridade					
	Fundamental	1 (1,3%)	0 (0,0%)	1 (2,7%)	0,8**
	Médio	22 (28,6%)	12 (30,0%)	10 (27,0%)	
	Superior	54 (70,1%)	28 (70,0%)	26 (70,3%)	
Estado Civil					
	Casado/ Amasiado	17 (22,1%)	10 (25%)	7 (18,9%)	0,59**
	Solteiro / Desquitado	60 (77,9%)	30 (75%)	30 (81,1%)	
Uso de psicotrópico atual					
	Sim	34 (44,2%)	17 (42,5%)	17 (46,0%)	0,82**
	Não	43 (55,8%)	23 (57,5%)	20 (54,0%)	
Comorbidades					
	Depressão maior atual	48 (62,3%)	25 (62,5%)	23 (62,2%)	1,00**
	Pânico atual	35 (45,5%)	18 (32,5%)	17 (46,0%)	0,25**
	Agorafobia	17 (22,1%)	9 (37,5%)	8 (21,6%)	0,14**
	Fobia social	15 (19,5%)	8 (25,0%)	7 (19,0%)	0,59**
HAM-A inicial (0-56)					
	Média ± DP	27,8 ±9,8	27,8 ±8,8	27,7 ±11	0,95*
DASS-depressão inicial (0-42)					
	Média ± DP	16,7 ±10,5	18,1 ±10,9	15,2 ±9,8	0,23*
* Teste t de Student					
**Teste exato de Fisher					

FONTE: Elaborada pelo autor da pesquisa.

4.2 Marcadores inflamatórios

Os valores absolutos das interleucinas e do PCR nos momentos pré e pós-tratamento estão descritos na Tabela 4. No entanto, os valores logarítmicos foram utilizados para a comparação por grupo e tempo.

Tabela 4 - Descrição dos biomarcadores por grupo e por tempo (média±desvio padrão)

		Valores absolutos		Valores logarítmicos		p- valor*
Variável	Tempo	Grupo				
		Controle	Experimental	Controle	Experimental	
IL-1 β (pg/mL)	T1	1,28 $\pm$ 5,79	1,18 $\pm$ 4,89	-1,37 $\pm$ 1,18	-1,35 $\pm$ 1,22	0,891
	T2	0,17 $\pm$ 0,12	0,70 $\pm$ 1,0	-2,04 $\pm$ 0,84	-1,05 $\pm$ 1,1	0,007**
IL-4 (pg/mL)	T1	0,21 $\pm$ 0,53	0,1 $\pm$ 0,06	-2,34 $\pm$ 0,98	-2,52 $\pm$ 0,66	0,304
	T2	0,08 $\pm$ 0,03	0,17 $\pm$ 0,19	-2,61 $\pm$ 0,51	-2,15 $\pm$ 0,85	0,072
IL-6 (pg/mL)	T1	0,25 $\pm$ 0,26	0,18 $\pm$ 0,07	-1,6 $\pm$ 0,58	-1,79 $\pm$ 0,39	0,164
	T2	0,19 $\pm$ 0,14	0,4 $\pm$ 0,38	-1,82 $\pm$ 0,6	-1,27 $\pm$ 0,83	0,005**
IL-10 (pg/mL)	T1	9,06 $\pm$ 32,97	7,84 $\pm$ 38,78	-0,11 $\pm$ 1,62	-0,41 $\pm$ 1,52	0,471
	T2	13,1 $\pm$ 53,25	2,94 $\pm$ 6,23	-0,18 $\pm$ 1,66	-0,12 $\pm$ 1,36	0,76
TNF- α (pg/mL)	T1	9,1 $\pm$ 7,91	8,87 $\pm$ 5,54	1,93 $\pm$ 0,83	2,03 $\pm$ 0,53	0,48
	T2	8,6 $\pm$ 3,32	10,62 $\pm$ 4,43	2,01 $\pm$ 0,7	2,27 $\pm$ 0,48	0,192
PCR (mg/L)	T1	1,72 $\pm$ 1,94	2,08 $\pm$ 1,85	0,07 $\pm$ 0,94	0,32 $\pm$ 0,98	0,315
	T2	1,65 $\pm$ 1,69	2 $\pm$ 2,25	0,04 $\pm$ 0,99	0,14 $\pm$ 1,1	0,113
BDNF (pg/mL)	T1	2088,42 1933,8	$\pm$ 1943,32 $\pm$ 1745,11	-----	-----	0,678
	T2	4601,8 3094,67	$\pm$ 3654,02 $\pm$ 2569,9	-----	-----	0,411

* p valor entre grupos para cada tempo

** p < 0,05

FONTE: Elaborada pelo autor da pesquisa.

Os modelos lineares de efeitos mistos evidenciaram interação grupo x tempo entre pré e pós-tratamento na IL-1 β ($F=7,01$; $p=0,012$), na IL-4 ($F= 4,45$; $p= 0,042$) e na IL-6 ($F=11,36$; $p=0,002$). No entanto, esse efeito não foi confirmado nos pós-testes em relação à IL-4, havendo apenas uma tendência de diferença entre os dois grupos no pós-tratamento ($d = 0,09$; $t=1,85$; $p=0,072$).

Houve diferença significativa na concentração de IL-1 β entre os grupos no pós-tratamento (diferença, $d =0,97$; erro padrão, $EP =0,34$; intervalo de confiança, $IC=0,28-1,66$; $t= 2,86$; $p=0,007$). Apesar de não ter sido observada diferença significativa entre os tempos no grupo experimental ($d= -0,26$; $EP= 0,26$; $IC= -0,79 - 0,27$; $t=-1$; $p=0,32$), houve redução de 41% da IL-1 β entre os tempos no grupo controle ativo ($d= 0,67$; $EP=0,24$; $IC=0,19 - 1,16$; $t=2,83$; $p=0,008$).

Quanto à IL-6, foi identificada diferença significativa entre grupos no pós-tratamento ($d=0,55$; $EP=0,18$; $IC=0,18-0,92$; $t=3,02$; $p=0,005$) com aumento de 122% no grupo experimental entre os tempos ($d= - 0,51$; $EP=0,16$; $IC= -0,84 - (-0,18)$; $t= -3,16$; $p=0,003$), Figura 4.

FONTE: Elaboradas pelo autor da pesquisa

Figura 4 - Box plot dos valores logarítmicos de IL-1 β e IL-6 de acordo com tipo de intervenção (C = controle, E = experimental) no pré e pós-tratamento

Não houve diferença entre pré e pós-tratamento, nem entre grupos no pós-tratamento nos níveis dos demais fatores (IL-4, IL-10, TNF e PCR), Figura 5.

*PCR Proteína C Reativa

**TNF *Tumor Necrosis factor*

FONTE: Elaboradas pelo autor da pesquisa.

Figura 5 - Box plot dos valores logarítmicos das concentrações de IL-4, IL-10, TNF e PCR de acordo com o tipo de intervenção (C = controle, E = experimental) no pré e pós-tratamento

4.2.1 Ajustes para covariáveis

Para avaliar a interferência de características sociodemográficas e clínicas basais no efeito dos grupos e dos tempos, os MLMs foram recalculados com ajuste para idade, sexo, escore inicial de ansiedade (HAM-A) e diagnóstico

de depressão. Os resultados descritos acima foram mantidos mesmo após ajuste para essas variáveis.

Houve efeito da variável sexo na PCR ($F=12,16$; $p=0,001$). Para avaliar o efeito dessa variável, foi adicionado o efeito da interação grupo x sexo x tempo no modelo que não se mostrou significativo ($F=0,3$; $p=0,825$). Observou-se que as concentrações médias da PCR no sexo feminino eram superiores no pré-tratamento em ambos os grupos e somente no grupo controle no pós-tratamento. No entanto, independente do sexo, não houve diferença entre os grupos para cada tempo ou entre os tempos para cada grupo.

4.3 Fator neurotrófico derivado do cérebro

O modelo linear de efeitos mistos não evidenciou efeito da interação grupo x tempo em relação ao BDNF ($F=0,27$; $p=0,61$). No entanto, foi demonstrado efeito tempo ($F=36,65$; $p<0,0001$) com aumento significativo entre tempos, tanto para o grupo experimental ($d=1712,1$; $EP=458,63$; $IC=783,65-2640,54$, $t=-3,73$; $p=0,0006$) quanto para o grupo controle ($d=2033,9$; $EP=415,35$; $IC=1193,08-2874,73$; $t=-4,9$; $p<0,0001$), Figura 6. Foi observado um aumento médio de 94% no grupo controle e de 88% no grupo experimental, não havendo diferença significativa entre os grupos no pós-tratamento ($d=-533,21$; $IC=-1830,58-764,16$; $t=0,83$; $p=0,41$).

*BDNF *Brain-Derived Neurotrophic Factor*

FONTE: Elaborada pelo autor da pesquisa.

Figura 6 - Box plot das concentrações de BDNF de acordo com o tipo de intervenção (C = controle, E = experimental) no pré e pós-tratamento em pg/mL

Esses resultados se mantiveram quando ajustados para as variáveis de sexo, idade, escore de HAM-A e diagnóstico de depressão.

Foi observado efeito da variável sexo em relação ao BDNF ($F=4,59$; $p=0,039$). Observou-se aumento do BDNF após tratamento para o grupo controle tanto para o sexo masculino ($d=2157,1$; $IC = 442,6 - 3871,6$; $t= -2,56$; $p=0,0152$) quanto para o feminino ($d=2117,4$; $IC = 1054,5 - 3180,2$; $t= -4,05$; $p=0,0003$) e, somente para o sexo feminino ($d=2304,2$; $IC=1025,2 - 3583,3$; $t= -3,66$; $p=0,0008$), no grupo experimental. No entanto, não foi demonstrado efeito da interação grupo x tempo x sexo ($F=0,74$; $p=0,535$).

4.4 Medida clínica de ansiedade

O modelo linear misto demonstrou efeito do tempo nos escores de ansiedade da HAM-A ($F=52,27$; $p<0,0001$), porém, não foi observado efeito da interação grupo x tempo ($F=0,69$; $p=0,41$). Evidenciou-se redução significativa da ansiedade após tratamento tanto no grupo controle ($d= -7,5$; $IC= -10,9 - (-) 4,2$; $t= 4,47$; $p<0,0001$) quanto no experimental ($d= -9,5$; $IC=-12,8 - (-)6,2$; $t= 5,77$; $p<0,0001$), porém, sem diferença entre os grupos para cada tempo ($F=0,32$; $p=0,57$), Figura 7.

*HAM-A Escala de Ansiedade de Hamilton

FONTE: Elaborada pelo autor da pesquisa

Figura 7 - Box plot dos escores de ansiedade da HAM-A de acordo com o tipo de intervenção (C = controle, E = experimental) no pré e pós-tratamento

Quando ajustado para covariáveis, o fator sexo exerceu efeito significativo em relação ao nível de ansiedade ($F = 6,02$; $p= 0,017$). Em ambos os grupos, o escore de ansiedade no pré-tratamento foi maior no sexo feminino (controle:

$t=2,03$; $p=0,048$; experimental: $t=2,2$; $p=0,032$), tendo sido observado redução significativa após o tratamento somente para o sexo feminino, tanto no grupo controle ($d=-7,7$; $IC=-11,6 - (-)3,8$; $t=4,0$; $p=0,0002$) como no experimental ($d=-11,3$; $IC= -15,1 - -7,5$; $t=5,9$; $p<0,0001$). No entanto, não houve influência da interação grupo x tempo x sexo ($F=1,33$; $p=0,28$). Apesar de haver redução dos escores de ansiedade para o sexo masculino em ambos os grupos entre os tempos, estas reduções não foram significativas (C: $t=1,81$; $p=0,08$; E: $t=1,41$; $p=0,17$).

4.5 Correlação entre marcadores pró-inflamatórios e medida clínica de ansiedade

Não foram encontradas correlações significativas entre a diferença percentual dos escores de HAM-A entre pré e pós-tratamento e as concentrações dos biomarcadores pró-inflamatórios IL-1 β , IL-6, TNF- α ou PCR (Tabela 5).

4.6 Correlação entre BDNF e medida clínica de ansiedade

Não foi encontrada correlação significativa entre a diferença percentual das concentrações plasmáticas do BDNF entre pré e pós-tratamento e os escores da HAM-A (Tabela 5).

4.7 Correlação entre BDNF e marcadores pró-inflamatórios

Não foi evidenciada correlação significativa entre a diferença percentual das concentrações plasmáticas de BDNF entre pré e pós-tratamento e as concentrações séricas de IL-1 β , IL-6, TNF- α ou PCR (Tabela 5)

Tabela 5 - Correlação de Spearman da diferença percentual entre pré e pós-tratamento das variáveis quantitativas entre si

		IL-1b	IL-6	TNF	PCR	BDNF	HAM-A
IL-1b	Correl	1					
	p-valor						
IL-6	Correl	0,537	1				
	p-valor	0,0006*					
TNF	Correl	0,555	0,404	1			
	p-valor	0,0004*	0,0097*				
PCR	Correl	0,006	0,164	0,022	1		
	p-valor	0,9737	0,3122	0,8914			
BDNF	Correl	0,223	0,051	0,281	-0,054	1	
	p-valor	0,1843	0,7549	0,0787	0,7406		
HAM-A	Correl	0,273	-0,220	-0,006	0,070	0,043	1
	p-valor	0,1066	0,1791	0,9729	0,67	0,753	

*p<0,05

FONTE: Elaborada pelo autor da pesquisa.

5 DISCUSSÃO

Neste estudo, investigamos o efeito da terapia comportamental baseada em aceitação e atenção plena nos marcadores inflamatórios e no BDNF de pacientes com TAG, utilizando como controle ativo a TS. Secundariamente, avaliamos as correlações entre os marcadores inflamatórios, o BDNF e a intensidade dos sintomas ansiosos pela escala HAM-A. Diferentemente do previsto, não foi observado superioridade da terapia comportamental baseada em aceitação na redução de marcadores pró-inflamatórios (IL-1 β , IL-6, TNF- α e PCR), nem no aumento dos marcadores anti-inflamatórios IL-4 e IL-10 ao longo do tratamento em relação ao controle. As concentrações de IL-1 β reduziram no grupo controle e as concentrações de IL-6 aumentaram no grupo experimental, enquanto nenhuma diferença foi observada quanto às IL-4, IL-10, TNF ou PCR entre pré e pós-tratamento. Também não foi observada diferença entre os grupos quanto ao efeito no BDNF, com o aumento do nível dessa neurotrofina em ambos os grupos ao longo do tratamento. Embora a intensidade da ansiedade tenha reduzido em ambos os grupos ao longo do tempo, não houve correlação entre os níveis de ansiedade, as concentrações dos marcadores pró-inflamatórios, nem do BDNF. Da mesma forma, não houve correlação entre as concentrações dos marcadores pró-inflamatórios e do BDNF.

Apesar da eficácia do tratamento psicológico para transtornos de ansiedade estar bem estabelecida, seu efeito nos marcadores de inflamação sistêmica tem evidências contrastantes. Shields et al. (2020) concluíram que as intervenções psicossociais estão associadas a uma melhora na função do

sistema imune em uma metanálise, porém, a maior parte dos estudos incluídos tinha como objetivo o tratamento de indivíduos com doenças sistêmicas como o HIV, o câncer e as doenças autoimunes com sintomas emocionais secundários. Por outro lado, O'Toole et al. (2018) não encontraram efeito de intervenções psicológicas na IL-6, IL-1 β e TNF- α em uma metanálise com 19 ensaios clínicos que comparavam o efeito de intervenções psicológicas em marcadores inflamatórios com controles não-ativos. Nessa metanálise, foi observado efeito positivo de pequena magnitude apenas no PCR, atenuado quando apenas estudos que utilizaram PCR ultrassensível foram incluídos na análise. Além disso, os participantes incluídos nessa metanálise também apresentavam uma variedade de condições clínicas como histórico de câncer, doença autoimune, risco para doença cardiovascular e distúrbios do sono, com uma média de concentração basal de PCR superior à encontrada nos nossos sujeitos (6,8 mg/L). É possível que a eficácia das intervenções psicossociais ocorra, predominantemente, em indivíduos com níveis elevados de inflamação sistêmica por condições médicas, o que pode não ocorrer em todos os indivíduos com transtornos de ansiedade primário. Vogelzangs et al. (2013) encontraram níveis de PCR elevados, especialmente, em pacientes com transtorno de ansiedade cujo início do quadro ocorreu após os 50 anos de idade, independentemente de comorbidade depressiva, sugerindo a existência de um subtipo de quadro ansioso de início tardio, possivelmente, influenciado por desregulação imunológica, que poderia se beneficiar de intervenções específicas. As concentrações médias de PCR dos participantes da amostra deste estudo sugerem um baixo nível basal de inflamação sistêmica. Seria interessante que estudos futuros que objetivem avaliar intervenções em marcadores inflamatórios

de populações com transtorno psiquiátrico selecionem indivíduos que apresentem alguma comorbidade inflamatória ou marcador inflamatório elevado (por ex: PCR > 3,0 mg/L, considerado alto risco para doença cardiovascular) (Pearson et al., 2003).

Em concordância com os resultados encontrados, outros ensaios clínicos também não observaram efeito na função imune após intervenções psicológicas de curta duração. Koh e Lee (2004) não encontraram diferenças na proliferação de linfócitos, nem na produção de IL-2 em pacientes com TP, após tratamento com TCC combinado com benzodiazepínico ou somente com TCC após seis semanas. Da mesma forma, Memon et al. (2017) não encontraram efeito significativo nem da TCC, nem da terapia baseada em atenção plena nos níveis plasmáticos de IL-8 ou PCR em pacientes com sintomas depressivos e ansiosos de intensidade leve à moderada, após oito semanas de tratamento. Jarvela-Reijonen et al. (2020) também não encontraram diferença nas concentrações plasmáticas de PCR, cortisol, antagonista do receptor de IL-1 ou adiponectina entre indivíduos que receberam Terapia de Aceitação e Compromisso (ACT), tanto presencial como por telefone celular, e o grupo controle, após oito semanas de intervenção em uma população de adultos em idade produtiva com estresse psicológico e sobrepeso. Por outro lado, Tafet et al. (2005) observaram redução do cortisol vespertino em 17 pacientes com TAG após 24 semanas de terapia cognitiva. Alguns fatores como o uso de um grupo controle que não recebeu nenhum tipo de intervenção e a duração mais prolongada do tratamento administrado podem ter influenciado na discrepância entre nossos resultados.

Diferentemente dos nossos resultados em relação ao BDNF, outros estudos que avaliaram tratamentos eficazes para o TAG demonstraram aumento

em fatores neurotróficos após o período de intervenção, quando comparado ao controle. Ball et al. (2013) encontraram aumento do BDNF em pacientes com TAG após 15 semanas de tratamento com duloxetine, quando comparados ao grupo placebo. Da mesma forma, Jockers-Scherubl et al. (2007) observaram aumento nas concentrações séricas do fator de crescimento neural - *Neural Growth Factor* (NGF) nos pacientes com TAG que responderam a 25 sessões de TCC, quando comparados com controle saudáveis. Uma possibilidade para a discrepância entre os resultados do presente estudo e a literatura foi a comparação da intervenção experimental com um grupo controle ativo, visto que os pacientes que receberam TS também apresentaram aumento significativo dos níveis plasmáticos de BDNF, assim como, melhora da intensidade dos sintomas ansiosos. Ademais, o nosso estudo foi composto por um máximo de 10 sessões de psicoterapia, menos da metade de sessões administradas por Jockers-Scherubl et al. (2007).

A intensidade dos sintomas ansiosos, medidos pela HAM-A, reduziu em ambos os grupos, porém, não foi observada correlação entre a melhora do quadro clínico e os marcadores inflamatórios. Apesar de contrário ao previsto, essa falta de correlação foi encontrada em diversos estudos de intervenção de curta duração. Memon et al. (2017) não observaram associação entre mudanças na IL-8 ou PCR e sintomas ansiosos ou depressivos. Moreira et al. (2015) observaram redução dos sintomas depressivos após tratamento tanto com TCC como com terapia cognitiva narrativa, porém, os níveis séricos de IL-6 e TNF- α reduziram apenas nos participantes que receberam TCC. Apesar de maior taxa de remissão com a TCC, não houve correlação entre remissão do quadro depressivo e o nível dos biomarcadores. Koh e Lee (2014) também não

encontraram correlação entre a intensidade da ansiedade e as concentrações de IL-2 ou a resposta linfoproliferativa em pacientes com transtorno de pânico. Semelhantemente, O'Toole et al. (2018) não encontraram correlação entre o tamanho de efeito dos desfechos comportamentais e dos marcadores pró-inflamatórios em metanálise sobre o efeito de intervenções psicológicas em níveis sistêmicos de inflamação. Uma hipótese para os achados citados é que intervenções psicológicas de curta duração sejam eficazes na redução de sintomas ansiosos, mas não modifiquem processos crônicos como a inflamação sistêmica de baixo grau. Futuros estudos que avaliem intervenções de maior duração ou com medidas de marcadores inflamatórios após maiores períodos de seguimento pós-intervenção podem ajudar a esclarecer esse efeito.

Quanto ao BDNF, apesar de ambos grupos terem apresentado aumento do BDNF e redução dos níveis de ansiedade, não foi observada correlação entre a gravidade da ansiedade e as concentrações plasmáticas da neurotrofina. Esse resultado corrobora evidências de outros estudos que não demonstraram uma relação tão precisa entre o efeito de intervenções em sintomas clínicos e os níveis de BDNF em pacientes com transtornos de ansiedade. Ball et al. (2013) não encontraram associação entre os níveis pré-tratamento de ansiedade e as concentrações de BDNF em pacientes com TAG. Além disso, o aumento na concentração de BDNF no grupo de respondedores não se diferenciou do aumento observado no grupo de não respondedores após tratamento com duloxetina. Kobayashi et al. (2005) também não encontraram correlação entre o nível sérico do BDNF e a gravidade dos sintomas clínicos, apesar de ter evidenciado diferença nas concentrações do BDNF entre o grupo de pacientes com transtorno de pânico que responderam ao tratamento com TCC e os que

não responderam. Diferentemente do que ocorre em pacientes deprimidos (Brunoni et al., 2008), o papel do BDNF na fisiopatologia dos sintomas ansiosos em indivíduos com TAG ainda precisa ser melhor estabelecido. Uma possibilidade para a falta de correlação entre os níveis de BDNF e a intensidade dos sintomas ansiosos no nosso estudo é que o aumento do BDNF esteja relacionado à variação dos sintomas depressivos ao longo do tratamento e não dos sintomas ansiosos. Além disso, outras variáveis que podem ter influenciado o nível plasmático do BDNF como horário da coleta de sangue (Piccinni et al., 2008), tabagismo (Kim et al., 2007), atividade física (Zoladz; Pilc, 2010), assim como, a presença de patologias ginecológicas (por ex. síndrome do ovário policístico) (Russo et al., 2012) não foram controlados no presente estudo.

Ainda sobre o BDNF, não foi encontrada correlação entre as concentrações séricas dos marcadores pró-inflamatórios IL-1 β , IL-6, TNF- α , PCR e as concentrações plasmáticas do BDNF. Apesar de consistentes, os estudos que demonstram a associação entre alterações das citocinas pró-inflamatórias e a neurogênese ocorreram predominantemente em experimentos animais em paradigmas de estresse que, apesar de considerados análogos a comportamentos psicopatológicos humanos, podem não traduzir a complexidade dessa relação em humanos. Assim como o modelo proposto para indivíduos deprimidos, a expressão do BDNF em pacientes ansiosos pode ser o resultado do efeito sinérgico de diversos processos neuroquímicos como: a liberação de hormônios relacionados ao eixo HPA, alterações no metabolismo da serotonina, modulação do ácido gama-amino butírico – *Gamma-Amino Butyric Acid* (GABA), ativação de cascatas de sinalização intracelular como

NF κ B, mecanismos apoptóticos ou oxidativos e variações na produção de estrógeno (Anisman, 2009; Haroon et al., 2012).

Em contraste com o esperado, a concentração do marcador pró-inflamatório IL-1 β reduziu nos pacientes que receberam a TS. Por outro lado, esses pacientes também apresentaram redução dos sintomas ansiosos. Apesar de raramente estudada como intervenção principal, a psicoterapia suportiva tem demonstrado eficácia comparável a outras formas de psicoterapia mais estruturadas e empiricamente validadas em diversos ensaios clínicos, principalmente aqueles de curta duração (Markowitz, 2014). Cuijpers et al. (2012) encontraram eficácia da terapia suportiva não-diretiva em pacientes deprimidos quando comparados a pacientes em lista de espera ou em *care-as-usual* em metanálise de 31 estudos randomizados. Além disso, não foi encontrada diferença significativa entre a TS e a TCC.

Uma das possíveis explicações para a eficácia da TS é a presença de fatores comuns e inespecíficos necessários em toda forma de psicoterapia. Entre esses fatores, estariam a aliança terapêutica entre o terapeuta e o paciente, a expectativa de sucesso no tratamento e o “ritual” terapêutico (frequência, duração da sessão, ambiente da terapia, aparência do terapeuta) (Weinberger, 1995). Segundo Cuijpers et al. (2012), os fatores não-específicos seriam os principais responsáveis pelo efeito psicoterápico (aproximadamente 50%). Outro fator que pode ter contribuído para o efeito da terapia suportiva foi a inclusão de elementos não específicos de psicoeducação, visto que grupos psicoeducativos são recomendados como estratégias iniciais no cuidado de pacientes com TAG (NICE, 2011). Por outro lado, o perfil destes grupos é muito diferente das instruções permitidas no presente estudo. Segundo NICE (2011), os grupos são

baseados nos princípios da TCC e devem incluir manuais de autoajuda, além de utilizar medidas de resultado frequentes, seguindo um formato mais próximo a um treinamento em como lidar com a ansiedade pelo modelo da TCC. Investigar o efeito da psicoterapia suportiva em marcadores inflamatórios em pacientes com TAG, utilizando controles não ativos como a lista de espera, seria interessante para melhor entendimento do potencial efeito dessa intervenção em biomarcadores em pacientes com TAG.

Apesar do consenso sobre a necessidade de condições controle para assegurar a validade interna de ensaios clínicos de psicoterapia, as formas de condições controle são heterogêneas e há pouca concordância sobre qual seria a condição controle mais adequada nesse tipo de estudo. O uso de controles com componentes inespecíficos do tratamento, como a TS, tem como vantagem a possibilidade de compreender mecanismos específicos hipotetizados para o tratamento experimental e permite um maior controle sobre a forma como a condição placebo é administrada, diferentemente de outras condições como *treatment as usual*, especialmente se instrumentos, como uso de manuais de tratamento e monitoramento de fidelidade ao tratamento, forem utilizados para as condições controle conforme ocorreu no nosso estudo. No entanto, como esses fatores não específicos podem produzir efeitos substanciais, principalmente em transtornos de humor e de ansiedade, estudos com esse tipo de controle costumam exigir amostras maiores para atingir um poder estatístico adequado (Mohr et al., 2009).

Ademais, diferentemente do previsto, as concentrações do marcador pró-inflamatório IL-6 aumentaram no grupo de pacientes que recebeu a TCBA. Apesar de geralmente descrita como uma citocina pró-inflamatória, a IL-6 pode

exercer uma função anti-inflamatória ou orientada para o reparo tecidual, dependendo dos níveis de outras citocinas pró-inflamatórias e da via de sinalização ativada pela IL-6 (Del Giudice; Gangestad, 2018). Xing et al. (1998) demonstraram que ratos deficientes no gene para IL-6 apresentaram maior liberação de citocinas pró-inflamatórias ($\text{TNF-}\alpha$, $\text{IFN-}\gamma$) em respostas inflamatórias à endotoxina, sugerindo que a IL-6 também pode exercer uma função anti-inflamatória em determinadas circunstâncias através da supressão de outras citocinas pró-inflamatórias. Outras variáveis como alterações da massa gorda total e o exercício (Steensberg et al., 2000) também podem influenciar as concentrações sistêmicas da IL-6 pela sua liberação por adipócitos e células musculares esqueléticas, respectivamente.

Algumas limitações podem ter interferido nos resultados encontrados pelo presente estudo. Devido à alta taxa de abandono (54% no experimental e 50% no controle), o número de sujeitos com amostra de sangue antes e após o tratamento ficou limitado. O número reduzido de sujeitos e a alta variabilidade entre os participantes podem ter reduzido o poder estatístico do presente estudo. Além disso, como o processo inflamatório parece depender de múltiplas variáveis, uma série de fatores que não foram mensurados podem ter interferido nos nossos achados: variáveis metabólicas (peso, gordura abdominal, nível glicêmico, perfil lipídico), hábitos de vida (uso de álcool, tabagismo, sono, atividade física), comorbidade com doenças físicas (autoimunes, cardiovasculares) ou processos inflamatórios agudos que possam ter ocorrido ao longo da intervenção.

Entretanto, apesar dessas limitações, alguns pontos fortes deste estudo merecem ser assinalados. De acordo com nosso conhecimento, trata-se do

primeiro ensaio clínico randomizado controlado que investigou o efeito de uma forma de psicoterapia nas citocinas inflamatórias periféricas, no PCR e no BDNF em pacientes com diagnóstico de TAG. A maior parte dos estudos de intervenções psicossociais em marcadores inflamatórios investigou amostras com condições físicas como HIV ou câncer, sintomas emocionais subclínicos ou outros transtornos psiquiátricos com alterações inflamatórias já bem estabelecidas, como a depressão, por exemplo.

Finalmente, o TAG é um transtorno prevalente, incapacitante e de curso crônico que está associado a condições sistêmicas resultantes de processos inflamatórios prolongados como a doença cardiovascular e a síndrome metabólica. Encontrar intervenções que melhorem não apenas seus sintomas comportamentais como também suas alterações sistêmicas é uma importante área de investigação.

6 CONCLUSÕES

Em suma, os resultados do presente estudo sugerem que a TCBA de curta duração não promoveu melhora do perfil pró-inflamatório, que pode estar associado ao TAG, nem aumento do BDNF, quando comparado à psicoterapia suportiva. Além disso, não foi encontrada correlação entre os marcadores pró-inflamatórios, o BDNF e a intensidade dos sintomas ansiosos. Pesquisas adicionais que avaliem a influência de outras variáveis relacionadas à inflamação no efeito da TCBA, assim como, intervenções psicoterápicas de maior duração e o efeito da psicoterapia suportiva nos marcadores inflamatórios de pacientes com TAG são necessárias para o melhor entendimento do potencial efeito de intervenções psicossociais em marcadores inflamatórios em pacientes com TAG.

7 ANEXO

Cronograma do estudo

	Sessão de psicoterapia	MINI	DASS-21	HAM-A	COLETA DE SANGUE
Triagem		X			
Sem 0			X	X	
Sem 1	X				X
Sem 2	X				
Sem 3	X				
Sem 4	X				
Sem 5	X				
Sem 6	X		X	X	
Sem 7					
Sem 8	X				
Sem 9					
Sem 10	X				
Sem 11					
Sem 12	X				
Sem13					
Sem 14	X		X	X	X

8 REFERÊNCIAS

American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-3*. 3 rd ed. Arlington, (VA): APA;1980.

American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-4*. 4 rd ed. Arlington (VA): APA;1994.

American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5*. 5 rd ed. Arlington (VA): APA; 2013.

Andrade LH, Wang YP, Andreoni S, Silveira CM, Alexandrino-Silva C, Siu ER, Nishimura R, Anthony JC, Gattaz WF, Kessler RC, Viana MC. Mental disorders in megacities: findings from the São Paulo megacity mental health survey, Brazil. *PLoS One*. 2012;7(2):1-11.

Anisman H. Cascading effects of stressors and inflammatory immune system activation: implications for major depressive disorder. *J Psychiatry Neurosci*. 2009; 34(1):4-20. Disponível em <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19125209/>

Arranz L, Guayerbas N, De la Fuente M. Impairment of several immune functions in anxious women. *J Psychosom Res*. 2007;62(1):1-8. doi: 10.1016/j.jpsychores.2006.07.030

Azevedo Da Silva M, Singh-Manoux A, Brunner EJ, Kaffashian S, Shipley MJ, Kivimäki M, Nabi H. Bidirectional association between physical activity and symptoms of anxiety and depression: the Whitehall II study. *Eur J Epidemiol*. 2012;27(7):537-46. doi: 10.1007/s10654-012-9692-8.

Ball S, Marangell LB, Lipsius S, Russell JM. Brain-derived neurotrophic factor in generalized anxiety disorder: results from a duloxetine clinical trial. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2013;3(43):217-21. doi: 10.1016/j.pnpbp.2013.01.002.

Barrientos RM, Sprunger DB, Campeau S, Watkins LR, Rudy JW, Maier SF. BDNF mRNA expression in rat hippocampus following contextual learning is blocked by intrahippocampal IL-1 β administration. *J. Neuroimmunology*. 2004; 155(1-2):119-126. doi: 10.1016/j.jneuroim.2004.06.009

Batelaan NM, ten Have M, van Balkom AJ, Tuithof M, de Graaf R. Anxiety disorders and onset of cardiovascular disease: the differential impact of panic, phobias and worry. *J Anxiety Disord*. 2014;28(2):252-8. doi: 10.1016/j.janxdis.2013.12.003.

Belem da Silva CT, Costa MA, Bortoluzzi A, Pfaffenseller B, Vedana F, Kapczinski F, Manfro GG. Cytokine Levels in Panic Disorder: Evidence for a

Dose-Response Relationship. *Psychosom Med*. 2017;79(2):126-132. doi: 10.1097/PSY.0000000000000384.

Benninghoven D, Kaduk A, Wiegand U, Specht T, Kunzendorf S, Jantschek G. Influence of anxiety on the course of heart disease after acute myocardial infarction - risk factor or protective function? *Psychother Psychosom*. 2006;75(1):56-61. doi: 10.1159/000089227.

Bishop SJ. Neural Mechanisms underlying selective attention to threat. *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 2008;11(29):141-52. doi: 10.1196/annals.1417.016

Black DS, Slavich GM. Mindfulness meditation and the immune system: a systematic review of randomized controlled trials. *Ann N Y Acad Sci*. 2016; 1373(1):13-24. doi: 10.1111/nyas.12998.

Boutron I, Altman DG, Moher D, Schullz KF, Ravald P. CONSORT Statement for Randomized Trials of Nonpharmacologic Treatments: A 2017 Update and a CONSORT Extension for Nonpharmacologic Trial Abstracts. *Annals of Internal Medicine*. 2017;167(1):40–7.

Bruce SE, Yonkers KA, Otto MW, Eisen JL, Weisberg RB, Pagano M, Shea MT, Keller MB. Influence of psychiatric comorbidity on recovery and recurrence in generalized anxiety disorder, social phobia, and panic disorder: a 12-year prospective study. *Am J Psychiatry*. 2005;162(6):1179-87. doi: 10.1176/appi.ajp.162.6.1179.

Brunoni AR, Lopes M, Fregni F. A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2008;11(8):1169-80. doi: 10.1017/S1461145708009309.

Calabrese F, Rossetti AC, Racagni G, Gass P, Riva MA, Molteni R. Brain-derived neurotrophic factor: a bridge between inflammation and neuroplasticity. *Front Cell Neurosci*. 2014;22(8):430. doi: 10.3389/fncel.2014.00430.

Calsolaro V, Edison P. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: current evidence and future directions. *Alzheimer's & Dementia*. 2016;12(6):719-32. doi: 10.1016/j.jalz.2016.02.010

Capuron L, Miller AH. Immune system to brain signaling: neuropsychopharmacological implications. *Pharmacology & Ther*. 2011; 130(2):226-38. doi: 10.1016/j.pharmthera.2011.01.014

Carroll D, Phillips AC, Thomas GN, Gale CR, Deary I, Batty GD. Generalized anxiety disorder is associated with metabolic syndrome in the Vietnam experience study. *Biol Psychiatry*. 2009;66(1):91-3. doi: 10.1016/j.biopsych.2009.02.020.

Chow SC, Wang H, Shao J. Sample size calculations in clinical research. 2 nd. edition (Chapman; Hall/CRC Biostatistics Series) Hardcover;2007.

Cohen HJ, Pieper CF, Harris T, Rao KM, Currie MS. The association of plasma IL-6 levels with functional disability in community-dwelling elderly. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1997;52(4):M201-8. doi: 10.1093/gerona/52a.4.m201.

Cohen S, Janicki-Deverts D, Doyle WJ, Miller GE, Frank E, Rabin BS, Turner RB. Chronic stress, glucocorticoid receptor resistance, inflammation, and disease risk. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(16):5995-99. doi: 10.1073/pnas.1118355109.

Connor TJ, Song C, Leonard BE, Merali Z, Anisman H. An assessment of the effects of central interleukin-1beta, -2, -6, and tumor necrosis factor-alpha administration on some behavioural, neurochemical, endocrine and immune parameters in the rat. *Neuroscience*. 1998;84(3):923-33. doi: 10.1016/s0306-4522(97)00533-2.

Copeland WE, Shanahan L, Worthman C, Angold A, Costello EJ. Generalized anxiety and C-reactive protein levels: a prospective, longitudinal analysis. *Psychol Med*. 2012;42(12):2641-50. doi: 10.1017/S0033291712000554.

Costello H, Gould RL, Abrol E, Howard R. Systematic review and meta-analysis of the association between peripheral inflammatory cytokines and generalised anxiety disorder. *BMJ Open*. 2019;9(7):e027925. doi: 10.1136/bmjopen-2018-027925.

Cuijpers P, Driessen E, Hollon SD, van Oppen P, Barth J, Andersson G. The efficacy of non-directive supportive therapy for adult depression: a meta-analysis. *Clin Psychol Rev*. 2012;32(4):280-91. doi: 10.1016/j.cpr.2012.01.003

Dantzer R. Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;933:222-34. doi: 10.1111/j.1749-6632.2001.tb05827.x

Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci*. 2008;9(1):46-56. doi: 10.1038/nrn2297.

De Almeida Sampaio TP, Jorge RC, Martins DS, Gandarela LM, Hayes-Skelton S, Bernik MA, Lotufo-Neto F. Efficacy of an acceptance-based group behavioral therapy for generalized anxiety disorder. *Depress Anxiety*. 2020;37(12):1179-93. doi: 10.1002/da.23021.

De Miranda AS, Lacerda-Queiroz N, de Carvalho Vilela M, Rodrigues DH, Rachid MA, Quevedo J, Teixeira AL. Anxiety-like behavior and proinflammatory cytokine levels in the brain of C57BL/6 mice infected with *Plasmodium berghei* (strain ANKA). *Neurosci Lett*. 2011;491(3):202-6. doi: 10.1016/j.neulet.2011.01.038.

De Miranda AS, Rodrigues DH, Amaral DC, de Lima Campos RD, Cisalpino D, Vilela MC, Lacerda-Queiroz N, de Souza KP, Vago JP, Campos MA, Kroon EG, da Glória de Souza D, Teixeira MM, Teixeira AL, Rachid MA. Dengue-3 encephalitis promotes anxiety-like behavior in mice. *Behav Brain Res*. 2012;230(1):237-42. doi: 10.1016/j.bbr.2012.02.020.

Del Giudice M, Gangestad SW. Rethinking IL-6 and CRP: Why they are more than inflammatory biomarkers, and why it matters. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2018;70:61–75. doi:10.1016/j.bbi.2018.02.013

Dickerson SS, Kemeny ME. Acute stressors and cortisol responses: a theoretical integration and synthesis of laboratory research. *Psychol Bull*. 2004;130(3):355-91. doi: 10.1037/0033-2909.130.3.355.

Dickerson SS, Gable SL, Irwin MR, Aziz N, Kemeny ME. Social-evaluative threat and proinflammatory cytokine regulation: an experimental laboratory investigation. *Psychol Sci*. 2009;20(10):1237-44. doi: 10.1111/j.1467-9280.2009.02437.x.

Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, Liu H, Sham L, Reim EK, Lanctôt KL. A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol Psychiatry*. 2010;67(5):446-57. doi: 10.1016/j.biopsych.2009.09.033.

Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry*. 2006;59(12):1116-27. doi: 10.1016/j.biopsych.2006.02.013.

Eaker ED, Sullivan LM, Kelly-Hayes M, D'Agostino RB Sr, Benjamin EJ. Tension and anxiety and the prediction of the 10-year incidence of coronary heart disease, atrial fibrillation, and total mortality: the Framingham Offspring Study. *Psychosom Med*. 2005;67(5):692-6. doi: 10.1097/01.psy.0000174050.87193.96.

Engler H, Doenlen R, Engler A, Riether C, Prager G, Niemi MB, Pacheco-López G, Krügel U, Schedlowski M. Acute amygdaloid response to systemic inflammation. *Brain Behav Immun*. 2011;25(7):1384-92. doi: 10.1016/j.bbi.2011.04.005.

Etkin A, Prater KE, Hoeft F, Menon V, Schatzberg AF. Failure of anterior cingulate activation and connectivity with the amygdala during implicit regulation of emotional processing in generalized anxiety disorder. *Am J Psychiatry*. 2010;167(5):545-54. doi: 10.1176/appi.ajp.2009.09070931.

Fields CT, Chassaing B, Castillo-Ruiz A, Osan R, Gewirtz AT, de Vries GJ. Effects of gut-derived endotoxin on anxiety-like and repetitive behaviors in male and female mice. *Biol Sex Differ*. 2018;9(1):7. doi: 10.1186/s13293-018-0166-x.

Figueiredo-Braga M, Mota-Garcia F, O'Connor JE, Garcia JR, Mota-Cardoso R, Cardoso CS, de Sousa M. Cytokines and anxiety in systemic lupus erythematosus (SLE) patients not receiving antidepressant medication: a little-

explored frontier and some of its brief history. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1173:286-91. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.04647.x.

Foa EB, Kozak MJ. Emotional processing of fear: exposure to corrective information. *Psychological Bulletin.* 1986;99(1):20-35. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2871574/>

Fourrier C, Bosch-Bouju C, Boursereau R, Sauvant J, Aubert A, Capuron L, Ferreira G, Layé S, Castanon N. Brain tumor necrosis factor- α mediates anxiety-like behavior in a mouse model of severe obesity. *Brain Behav Immun.* 2019;77:25-36. doi: 10.1016/j.bbi.2018.11.316.

Glaus J, von Känel R, Lasserre AM, Strippoli MF, Vandeleur CL, Castelao E, Gholam-Rezaee M, Marangoni C, Wagner EN, Marques-Vidal P, Waeber G, Vollenweider P, Preisig M, Merikangas KR. The bidirectional relationship between anxiety disorders and circulating levels of inflammatory markers: Results from a large longitudinal population-based study. *Depress Anxiety.* 2018;35(4):360-371. doi: 10.1002/da.22710.

Goodwin H, Yiend J, Hirsch C. Generalized anxiety disorder, worry and attention to threat: a systematic review. *Clin Psychol Rev.* 2017;54:107-22. doi: 10.1016/j.cpr.2017.03.006.

Goshen I, Kreisel T, Ben-Menachem-Zidon O, Licht T, Weidenfeld J, Ben-Hur T, Yirmiya R. Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression. *Mol Psychiatry.* 2008;13(7):717-28. doi: 10.1038/sj.mp.4002055.

Grisanti LA, Evanson J, Marchus E, Jorissen H, Woster AP, DeKrey W, Sauter ER, Combs CK, Porter JE. Pro-inflammatory responses in human monocytes are β_1 -Adrenergic receptor subtype dependent. *Mol Immunol.* 2010;47(6):1244-54. doi: 10.1016/j.molimm.2009.12.013

Guan Z, Fang J. Peripheral immune activation by lipopolysaccharide decreases neurotrophins in the cortex and hippocampus in rats. *Brain Behav Immun.* 2006;20(1):64-71. doi: 10.1016/j.bbi.2005.04.005.

Haensel A, Mills PJ, Nelesen RA, Ziegler MG, Dimsdale JE. The relationship between heart rate variability and inflammatory markers in cardiovascular diseases. *Psychoneuroendocrinology.* 2008;33(10):1305-12. doi: 10.1016/j.psyneuen.2008.08.007.

Hamilton M. The assessment of anxiety states by rating. *Br J Med Psychol.* 1959;32(1):50-5. doi: 10.1111/j.2044-8341.1959.tb00467.x.

Haroon E, Raison CL, Miller AH. Psychoneuroimmunology meets neuropsychopharmacology: translational implications of the impact of

inflammation on behavior. *Neuropsychopharmacology*. 2012;37(1):137-62. doi: 10.1038/npp.2011.205.

Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research electronic data capture (REDCap) – a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. *J Biomed Inform*. 2009;42(2):377-81. doi: 10.1016/j.jbi.2008.08.010.

Hayes SC. Acceptance and Commitment Therapy, Relational Frame Theory, and the Third Wave of Behavioral and Cognitive Therapies. *Behav Ther*. 2004;35(4):639-665. doi: 10.1016/S0005-7894(04)80013-3.

Hilbert K, Lueken U, Beesdo-Baum K. Neural structures, functioning and connectivity in generalized anxiety disorder and interaction with neuroendocrine systems: a systematic review. *Affect Disord*. 2014;158:114-126. doi: 10.1016/j.jad.2014.01.022

Hoge EA, Bui E, Palitz SA, Schwarz NR, Owens ME, Johnston JM, Pollack MH, Simon NM. The effect of mindfulness meditation training on biological acute stress responses in generalized anxiety disorder. *Psychiatry Res*. 2018;262:328-32. doi: 10.1016/j.psychres.2017.01.006.

Hoge EA, Brandstetter K, Moshier S, Pollack MH, Wong KK, Simon NM. Broad spectrum of cytokine abnormalities in panic disorder and posttraumatic stress disorder. *Depress Anxiety*. 2009;26(5):447-55. doi: 10.1002/da.20564.

Hou R, Baldwin DS. A neuroimmunological perspective on anxiety disorders. *Human psychopharmacology*. 2012;27(1):6-14. doi: 10.1002/hup.1259

Hou R, Garner M, Holmes C, Osmond C, Teeling J, Lau L, Baldwin DS. Peripheral inflammatory cytokines and immune balance in Generalised Anxiety Disorder: case-controlled study. *Brain Behav Immun*. 2017;62:212-18. doi: 10.1016/j.bbi.2017.01.021.

Howren MB, Lamkin DM, Suls J. Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: A meta-analysis. *Psychosom Med*. 2009;71(2):171-86. doi: 10.1097/PSY.0b013e3181907c1b

Järvelä-Reijonen E, Puttonen S, Karhunen L, Sairanen E, Laitinen J, Kolehmainen M, Pihlajamäki J, Kujala UM, Ermes RKM, Lappalainen R, Kolehmainen M. The Effects of Acceptance and Commitment Therapy (ACT) Intervention on Inflammation and Stress Biomarkers: a Randomized Controlled Trial. *Int J Behav Med*. 2020;27(5):539-55. doi: 10.1007/s12529-020-09891-8

Jockers-Scherübl MC, Zubaegel D, Baer T, Linden M, Danker-Hopfe H, Schulte-Herbrüggen O, Neu P, Hellweg R. Nerve growth factor serum concentrations rise after successful cognitive-behavioural therapy of generalized anxiety disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007;31(1):200-4. doi: 10.1016/j.pnpbp.2006.09.006.

Johnson JD, Campisi J, Sharkey CM, Kennedy SL, Nickerson M, Greenwold BN, Fleshner M. Catecholamines mediate stress-induced increases in peripheral and central inflammatory cytokines. *Neuroscience*. 2005;135(4):1295-307. doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.06.090.

Kabat-Zinn, J. *Full catastrophe living: using the wisdom of your body and mind to face stress, pain and illness*. New York, NY: Delacorte; 1990.

Karege F, Schwald M, Cisse M. Postnatal development profile of brain-derived neurotrophic factor in rat brain and platelets. *Neuroscience Lett*. 2002;328(3):261-4. doi: 10.1016/s0304-3940(02)00529-3

Kawabori M; Yenari M. Inflammatory responses in brain ischemia. *Curr Med Chem*. 2015;22(10):1258-77. doi: 10.2174/0929867322666150209154036

Kessler RC, Nelson CB, McGonagle KA, Liu J, Swartz M, Blazer DG. Comorbidity of DSM-III-R major depressive disorder in the general population: results from the US National Comorbidity Survey. *Br J Psychiatry Suppl*. 1996;30:17-30. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8864145/>

Kessler RC, Aguilar-Gaxiola S, Alonso J, Chatterji S, Lee S, Ormel J, Ustün TB, Wang PS. The global burden of mental disorders: an update from the WHO World Mental Health (WMH) surveys. *Epidemiol Psichiatr Soc*. 2009;18(1):23-33. doi: 10.1017/s1121189x00001421.

Khandaker GM, Zammit S, Lewis G, Jones PB. Association between serum C-reactive protein and DSM-IV generalized anxiety disorder in adolescence: Findings from the ALSPAC cohort. *Neurobiol Stress*. 2016;4: 55-61. doi: 10.1016/j.ynstr.2016.02.003

Kim TS, Kim DJ, Lee H, Kim YK. Increased plasma brain-derived neurotrophic factor levels in chronic smokers following unaided smoking cessation. *Neurosci Lett*. 2007;423(1):53-7. doi: 10.1016/j.neulet.2007.05.064.

Kobayashi K, Shimizu E, Hashimoto K, Mitsumori M, Koike K, Okamura N, Koizumi H, Ohgake S, Matsuzawa D, Zhang L, Nakazato M, Iyo M. Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in patients with panic disorder: as a biological predictor of response to group cognitive behavioral therapy. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2005;29(5):658-63. doi: 10.1016/j.pnpbp.2005.04.010.

Koh KB, Lee Y. Reduced anxiety level by therapeutic interventions and cell-mediated immunity in panic disorder patients. *Psychother Psychosom*. 2004;73(5):286-92. doi: 10.1159/000078845

Koo JW, Duman RS. IL-1 β is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc. Natl. Acad. Sci U S A*. 2008;105(2):751-6. doi: 10.1073/pnas.0708092105

Kubzansky LD, Kawachi I. Going to the heart of the matter: do negative emotions cause coronary heart disease? *J Psychosom Res.* 2000;48(4-5):323-37. doi: 10.1016/s0022-3999(99)00091-4

Kummer A, Cardoso F, Teixeira AL. Generalized anxiety disorder and the Hamilton Anxiety Rating Scale in Parkinson's disease. *Arq Neuropsiquiatr.* 2010;68(4):495-01. doi: 10.1590/S0004-282X2010000400005

Lasselin J, Elsenbruch S, Lekander M, Axelsson J, Karshikoff B, Grigoleit JS, Engler H, Schedlowski M, Benson S. Mood disturbance during experimental endotoxemia: Predictors of state anxiety as a psychological component of sickness behavior. *Brain Behav Immun.* 2016;57:30-7. doi: 10.1016/j.bbi.2016.01.003.

LeDoux J. The amygdala. *Curr Biol.* 2007;17(20):868-74. doi: 10.1016/j.cub.2007.08.005.

Leonard B, Maes M. Mechanistic explanations how cell-mediated immune activation, inflammation and oxidative and nitrosative stress pathways and their sequels and concomitants play a role in the pathophysiology of unipolar depression. *Neurosci and Biobehav Rev.* 2012;36:764-85. doi: 10.1016/j.neubiorev.2011.12.005

Leonard BE, Myint A. The psychoneuroimmunology of depression. *Hum Psychopharmacol.* 2009;24(3):165-75. doi: 10.1002/hup.1011.

Li M, Li C, Yu H, Cai X, Shen X, Sun X, Wang J, Zhang Y, Wang C. Lentivirus-mediated interleukin-1 β (IL-1 β) knock-down in the hippocampus alleviates lipopolysaccharide (LPS)-induced memory deficits and anxiety- and depression-like behaviors in mice. *J Neuroinflammation.* 2017;14(1):190. doi: 10.1186/s12974-017-0964-9.

Lovibond PF, Lovibond SH. The structure of negative emotional states: comparison of the Depression Anxiety Stress Scales (DASS) with the Beck Depression and Anxiety Inventories. *Behav Res Ther.* 1995;33(3):335-43. doi: 10.1016/0005-7967(94)00075-u

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 RS. The effects of psychological stress on humans: increased production of pro-inflammatory cytokines and a Th1-like response in stress-induced anxiety. *Cytokine.* 1998;10(4):313-8. doi: 10.1006/cyto.1997.0290.

Markowitz JC. What is supportive therapy? *Focus.* 2014;12(3):285-9. doi:10.1176/appi.focus.12.3.285

Martens EJ, de Jonge P, Na B, Cohen BE, Lett H, Whooley MA. Scared to death? Generalized anxiety disorder and cardiovascular events in patients with stable

coronary heart disease. *Arch Gen Psychiatry*. 2010;67(7):750-8. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2010.74

McKlveen JM, Myers B, Herman JP. The medial prefrontal cortex: coordinator of autonomic, neuroendocrine and behavioural responses to stress. *J Neuroendocrinol*. 2015;27(6):446-56. doi: 10.1111/jne.12272.

Memon AA, Sundquist K, Ahmad A, Wang X, Hedelius A, Sundquist J. Role of IL-8, CRP and epidermal growth factor in depression and anxiety patients treated with mindfulness-based therapy or cognitive behavioral therapy in primary health care. *Psychiatry Res*. 2017;254:311-16. doi: 10.1016/j.psychres.2017.05.012.

Michopoulos V, Powers A, Gillespie CF, Ressler KJ, Jovanovic T. Inflammation in Fear- and Anxiety-Based Disorders: PTSD, GAD, and Beyond. *Neuropsychopharmacology*. 2017;42(1):254-270. doi: 10.1038/npp.2016.146.

Miller AH, Haroon E, Raison CL, Felger JC. Cytokine targets in the brain: impact on neurotransmitters and neurocircuits. *Depress Anxiety*. 2013;30(4):297-306. doi: 10.1002/da.22084.

Mohr DC, Spring B, Freedland KE, Beckner V, Arean P, Hollon SD, Ockene J, Kaplan R. The selection and design of control conditions for randomized controlled trials of psychological interventions. *Psychother Psychosom*. 2009;78(5):275-84. doi: 10.1159/000228248.

Moreira FP, Cardoso Tde A, Mondin TC, Souza LD, Silva R, Jansen K, Oses JP, Wiener CD. The effect of proinflammatory cytokines in Cognitive Behavioral Therapy. *J Neuroimmunol*. 2015;15(285):143-6. doi: 10.1016/j.jneuroim.2015.06.004.

Morrow DA, Rifai N, Antman EM, Weiner DL, McCabe CH, Cannon CP, Braunwald E. C-reactive protein is a potent predictor of mortality independently of and in combination with troponin T in acute coronary syndromes: a TIMI 11A substudy. Thrombolysis in Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31(7):1460-5. doi: 10.1016/s0735-1097(98)00136-3.

National Institute for Health and Clinical Excellence. Generalised anxiety disorder and panic disorder (with or without agoraphobia) in adults: management in primary, secondary and community care. NICE Clinical Guideline 113. Manchester;2011.

Naudé PJW, Roest AM, Stein DJ, de Jonge P, Doornbos B. Anxiety disorders and CRP in a population cohort study with 54,326 participants: The LifeLines study. *World J Biol Psychiatry*. 2018;19(6):461-70. doi: 10.1080/15622975.2018.1433325.

Nitschke JB, Sarinopoulos I, Oathes DJ, Johnstone T, Whalen PJ, Davidson RJ, Kalin NH. Anticipatory activation in the amygdala and anterior cingulate in

generalized anxiety disorder and prediction of treatment response. *Am J Psychiatry*. 2009;166(3):302-10. doi: 10.1176/appi.ajp.2008.07101682.

O'Donovan A, Hughes BM, Slavich GM, Lynch L, Cronin MT, O'Farrelly C, Malone KM. Clinical anxiety, cortisol and interleukin-6: evidence for specificity in emotion-biology relationships. *Brain Behav Immun*. 2010;24(7):1074-7. doi: 10.1016/j.bbi.2010.03.003.

O'Donovan A, Slavich GM, Epel ES, Neylan TC. Exaggerated neurobiological sensitivity to threat as a mechanism linking anxiety with increased risk for diseases of aging. *Neurosci Biobehav Rev*. 2013;37(1):96-108. doi: 10.1016/j.neubiorev.2012.10.013.

O'Toole MS, Bovbjerg DH, Renna ME, Lekander M, Mennin DS, Zachariae R. Effects of psychological interventions on systemic levels of inflammatory biomarkers in humans: A systematic review and meta-analysis. *Brain Behav Immun*. 2018;74:68-78. doi: 10.1016/j.bbi.2018.04.005.

Park H, Poo MM. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Neurosci*. 2013;14:7-23. doi: 10.1038/nrn3379.

Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith SC Jr, Taubert K, Tracy RP, Vinicor F. Centers for Disease Control and Prevention; American Heart Association. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003;107(3):499-511. doi: 10.1161/01.cir.0000052939.59093.45.

Piccinni A, Marazziti D, Del Debbio A, Bianchi C, Roncaglia I, Mannari C, Origlia N, Catena Dell'Osso M, Massimetti G, Domenici L, Dell'Osso L. Diurnal variation of plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in humans: an analysis of sex differences. *Chronobiol Int*. 2008;25(5):819-26. doi: 10.1080/07420520802387773.

Pitsavos C, Panagiotakos DB, Papageorgiou C, Tsetsekou E, Soldatos C, Stefanadis C. Anxiety in relation to inflammation and coagulation markers, among healthy adults: the ATTICA study. *Atherosclerosis*. 2006;185(2):320-6. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2005.06.001.

Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2001;286(3):327-34. doi: 10.1001/jama.286.3.327

Raison CL, Demetrashvili M, Capuron L, Miller AH. Neuropsychiatric adverse effects of Interferon- α : recognition and management. *CNS Drugs*. 2005;19(2):105-213. doi: 10.2165/00023210-200519020-00002

Raison CL, Borisov AS, Woolwine BJ, Massung B, Vogt G, Miller AH. Interferon-alpha effects on diurnal hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: relationship with proinflammatory cytokines and behavior. *Mol Psychiatry*. 2010;15(5):535-47. doi: 10.1038/mp.2008.58.

Rankin E, Tracy R. Residual Gain as a Measure of Individual Differences in a Reading Improvement. *J Read*. 1965;8(4):224-233. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/40009364>

Reader BF, Jarrett BL, McKim DB, Wohleb ES, Godbout JP, Sheridan JF. Peripheral and central effects of repeated social defeat stress: monocyte trafficking, microglial activation, and anxiety. *Neuroscience*. 2015;19(289):429-42. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.01.001.

Reichenberg A, Yirmiya R, Schuld A, Kraus T, Haack M, Morag A, Pollmächer T. Cytokine-associated emotional and cognitive disturbances in humans. *Arch Gen Psychiatry*. 2001;58(5):445-52. doi: 10.1001/archpsyc.58.5.445.

Renna ME, O'Toole MS, Spaeth PE, Lekander M, Mennin DS. The association between anxiety, traumatic stress, and obsessive-compulsive disorders and chronic inflammation: A systematic review and meta-analysis. *Depress Anxiety*. 2018;35(11):1081-94. doi: 10.1002/da.22790.

Revicki DA, Travers K, Wyrwich KW, Svedäter H, Locklear J, Mattera MS, Sheehan DV, Montgomery S. Humanistic and economic burden of generalized anxiety disorder in North America and Europe. *J Affect Disord*. 2012;140(2):103-12. doi: 10.1016/j.jad.2011.11.014.

Roemer L, Orsillo SM, Salters-Pedneault K. Efficacy of an acceptance-based behavior therapy for generalized anxiety disorder: Evaluation in a randomized controlled trial. *J Consult Clin Psychol*. 2008;76(6):1083-9. doi: 10.1037/a0012720

Roest AM, Martens EJ, de Jonge P, Denollet J. Anxiety and risk of incident coronary heart disease: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2010;29;56(1):38-46. doi: 10.1016/j.jacc.2010.03.034.

Ruscio AM, Hallion LS, Lim CCW, Aguilar-Gaxiola S, Al-Hamzawi A, Alonso J, Andrade LH, Borges G, Bromet EJ, Bunting B, Caldas de Almeida JM, Demyttenaere K, Florescu S, de Girolamo G, Gureje O, Haro JM, He Y, Hinkov H, Hu C, de Jonge P, Karam EG, Lee S, Lepine JP, Levinson D, Mneimneh Z, Navarro-Mateu F, Posada-Villa J, Slade T, Stein DJ, Torres Y, Uda H, Wojtyniak B, Kessler RC, Chatterji S, Scott KM. Cross-sectional Comparison of the Epidemiology of DSM-5 Generalized Anxiety Disorder Across the Globe. *JAMA Psychiatry*. 2017;74(5):465-75. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2017.0056.

Russo N, Russo M, Daino D, Bucci F, Pluchino N, Casarosa E, Artini PG, Cela V, Luisi M, Genazzani AR. Polycystic ovary syndrome: brain-derived neurotrophic

factor (BDNF) plasma and follicular fluid levels. *Gynecol Endocrinol*. 2012;28(4):241-4. doi: 10.3109/09513590.2011.613969.

Sakić B, Szechtman H, Talangbayan H, Denburg SD, Carbotte RM, Denburg JA. Disturbed emotionality in autoimmune MRL-lpr mice. *Physiol Behav*. 1994;56(3):609-17. doi: 10.1016/0031-9384(94)90309-3.

Sampaio TPA. *Eficácia da terapia comportamental baseada em aceitação em grupo para o transtorno de ansiedade generalizada: um ensaio clínico aleatorizado* [tese]. São Paulo: Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo; 2020.

Schall, R. Estimation in generalized linear models with random effects. *Biometrika*. 1991;78(4):719-27. doi:10.2307/2336923

Schneider KL, Appelhans BM, Whited MC, Oleski J, Pagoto SL. Trait anxiety, but not trait anger, predisposes obese individuals to emotional eating. *Appetite*. 2010;55(3):701-6. doi: 10.1016/j.appet.2010.10.006.

Schrott LM, Crnic LS. Increased anxiety behaviors in autoimmune mice. *Behav Neurosci*. 1996;110(3):492-02. doi: 10.1037//0735-7044.110.3.492.

Segal B. Stage-specific immune dysregulation in multiple sclerosis. *J Interferon Cytokine Res*. 2014;34(8):633-40. doi: 10.1089/jir.2014.0025

Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, Amorim P, Janavs J, Weiller E, Hergueta T, Baker R, Dunbar GC. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry*. 1998;59(20):22-33;quiz 34-57. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9881538/>

Sheridan JF, Stark JL, Avitsur R, Padgett DA. Social disruption, immunity, and susceptibility to viral infection. Role of glucocorticoid insensitivity and NGF. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;917:894-905. doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb05455.x.

Shields GS, Spahr CM, Slavich GM. Psychosocial Interventions and Immune System Function: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Clinical Trials. *JAMA Psychiatry*. 2020;77(10):1031-43. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2020.0431

Skinner BF. *Ciência e Comportamento*. Tradução de João Carlos Todorov, Rodolf Azzi. São Paulo: Martins Fontes; 1953/2003.

Smits JA, Julian K, Rosenfield D, Powers MB. Threat reappraisal as a mediator of symptom change in cognitive-behavioral treatment of anxiety disorders: a systematic review. *J Consult Clin Psychol*. 2012;80(4):624-35. doi: 10.1037/a0028957.

Spitzer C, Barnow S, Völzke H, John U, Freyberger HJ, Grabe HJ. Trauma, posttraumatic stress disorder, and physical illness: findings from the general population. *Psychosom Med.* 2009;71(9):1012-7. doi: 10.1097/PSY.0b013e3181bc76b5

Steensberg A, van Hall G, Osada T, Sacchetti M, Saltin B, Klarlund Pedersen B. Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. *J Physiol.* 2000;15:529 Pt 1(Pt 1):237-42. doi: 10.1111/j.1469-7793.2000.00237.x.

Strandberg TE, Tilvis RS. C-reactive protein, cardiovascular risk factors, and mortality in a prospective study in the elderly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20(4):1057-60. doi: 10.1161/01.atv.20.4.1057

Strine TW, Okoro CA, Chapman DP, Balluz LS, Ford ES, Ajani UA, Mokdad AH. Health-related quality of life and health risk behaviors among smokers. *Am J Prev Med.* 2005;28(2):182-7. doi: 10.1016/j.amepre.2004.10.002.

Suliman S, Hemmings SMJ, Seedat S. Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) protein levels in anxiety disorders: systematic review and meta-regression analysis. *Front Integrative Neurosci.* 2013;7:5. doi: 10.3389/fnint.2013.00055.

Tafet GE, Feder DJ, Abulafia DP, Roffman SS. Regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal activity in response to cognitive therapy in patients with generalized anxiety disorder. *Cogn Affect Behav Neurosci.* 2005;5(1):37-40. doi: 10.3758/cabn.5.1.37.

Tang Z, Ye G, Chen X, Pan M, Fu J, Fu T, Liu Q, Gao Z, Baldwin DS, Hou R. Peripheral proinflammatory cytokines in Chinese patients with generalised anxiety disorder. *J Affect Disord.* 2018; 1(225):593-98. doi: 10.1016/j.jad.2017.08.082.

Tansey M, Goldberg M. Neuroinflammation in Parkinson's disease: its role in neuronal death and implications for therapeutic intervention. *Neurobiol dis.* 2010;37(3):510-8. doi: 10.1016/j.nbd.2009.11.004

Thayer JF, Fischer JE. Heart rate variability, overnight urinary norepinephrine and C-reactive protein: evidence for the cholinergic anti-inflammatory pathway in healthy human adults. *J Intern Med.* 2009;265(4):439-47. doi: 10.1111/j.1365-2796.2008.02023.x

Thayer JF, Ahs F, Fredrikson M, Sollers JJ 3rd, Wager TD. A meta-analysis of heart rate variability and neuroimaging studies: implications for heart rate variability as a marker of stress and health. *Neurosci Biobehav Rev.* 2012;36(2):747-56. doi: 10.1016/j.neubiorev.2011.11.009.

Turner MD, Nedjai B, Hurst T, Pennington DJ. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1843(11):2563-82. doi: 10.1016/j.bbamcr.2014.05.014.

Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulations of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10(6):397-09. doi: 10.1038/nrn2647

Vignola RC, Tucci AM. Adaptation and validation of the depression, anxiety and stress scale (DASS) to Brazilian Portuguese. *J Affect Disord*. 2014;155:104-9. doi: 10.1016/j.jad.2013.10.031.

Villalba DK, Lindsay EK, Marsland AL, Greco CM, Young S, Brown KW, Smyth JM, Walsh CP, Gray K, Chin B, Creswell JD. Mindfulness training and systemic low-grade inflammation in stressed community adults: Evidence from two randomized controlled trials. *PLoS One*. 2019;14(7):e0219120. doi: 10.1371/journal.pone.0219120.

Vogelzangs N, Beekman AT, de Jonge P, Penninx BW. Anxiety disorders and inflammation in a large adult cohort. *Transl Psychiatry*. 2013;3(4):e249. doi: 10.1038/tp.2013.27.

Vøllestad J, Nielsen MB, Nielsen GH. Mindfulness- and acceptance-based interventions for anxiety disorders: a systematic review and meta-analysis. *Br J Clin Psychol*. 2012;51(3):239-60. doi: 10.1111/j.2044-8260.2011.02024.x.

Wagner EN, Strippoli MF, Ajdacic-Gross V, Gholam-Rezaee M, Glaus J, Vandeleur C, Vollenweider P, Preisig M, von Känel R. Generalized Anxiety Disorder is Prospectively Associated With Decreased Levels of Interleukin-6 and Adiponectin Among Individuals from the Community. *J Affect Disord*. 2020;1(270):114-17. doi: 10.1016/j.jad.2020.03.123.

Wagner EY, Wagner JT, Glaus J, Vandeleur CL, Castelao E, Strippoli MP, Vollenweider P, Preisig M, von Känel R. Evidence for chronic low-grade systemic inflammation in individuals with agoraphobia from a population-based prospective study. *PLoS One*. 2015;10(4):e0123757. doi: 10.1371/journal.pone.0123757.

Wang XM, Zhang YG, Li AL, Long ZH, Wang D, Li XX, Xia JH, Luo SY, Shan YH. Relationship between levels of inflammatory cytokines in the peripheral blood and the severity of depression and anxiety in patients with Parkinson's disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016;20(18):3853-56. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27735031/>

Weinberger J. Common factors aren't so common: The common factors dilemma. *Clin Psychol: Sc and Pract*. 1995;2(1): 45-69. doi: 10.1111/j.1468-2850.1995.tb00024.

Wolitzky-Taylor K, Bobova L, Zinbarg RE, Mineka S, Craske MG. Longitudinal investigation of the impact of anxiety and mood disorders in adolescence on

subsequent substance use disorder onset and vice versa. *Addict Behav.* 2012;37(8):982-5. doi: 10.1016/j.addbeh.2012.03.026.

Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei XF, Achong MK. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest.* 1998;101(2):311-20. doi: 10.1172/JCI1368

Yang CJ, Liu D, Xu ZS, Shi SX, Du YJ. The pro-inflammatory cytokines, salivary cortisol and alpha-amylase are associated with generalized anxiety disorder (GAD) in patients with asthma. *Neurosci Lett.* 2017;24(656):15-21. doi: 10.1016/j.neulet.2017.07.021.

Yang L, Wang M, Guo YY, Sun T, Li YJ, Yang Q, Zhang K, Liu SB, Zhao MG, Wu YM. Systemic inflammation induces anxiety disorder through CXCL12/CXCR4 pathway. *Brain Behav Immun.* 2016;56:352-62. doi: 10.1016/j.bbi.2016.03.001.

Yin WH, Chen JW, Jen HL, Chiang MC, Huang WP, Feng AN, Young MS, Lin SJ. Independent prognostic value of elevated high-sensitivity C-reactive protein in chronic heart failure. *Am Heart J.* 2004;147(5):931-8. doi: 10.1016/j.ahj.2003.11.021.

Zoladz JA, Pilc A. The effect of physical activity on the brain derived neurotrophic factor: from animal to human studies. *J Physiol Pharmacol.* 2010;61(5):533-41. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21081796/>

Zorrilla EP, Luborsky L, McKay JR, Rosenthal R, Houldin A, Tax A, McCorkle R, Seligman DA, Schmidt K. The relationship of depression and stressors to immunological assays: a meta-analytic review. *Brain Behav Immun.* 2001;15(3):199-26. doi: 10.1006/brbi.2000.0597.