

Parámetros de inmunidad natural como marcadores biológicos de la depresión

Javier Schlatter, Felipe Ortuño, Jorge Pla y Salvador Cervera-Enguix

Departamento de Psiquiatría y Psicología Médica. Clínica Universitaria.
Universidad de Navarra. Pamplona. España.

INTRODUCCIÓN: Durante la depresión se producen cambios en la respuesta inmunitaria natural. Conocer mejor estas alteraciones en el laboratorio podría ayudarnos como complemento en el diagnóstico clínico de la depresión.

El objetivo fue seleccionar qué parámetros inmunitarios pueden ser más útiles como marcadores biológicos de la depresión.

SUJETOS Y MÉTODO: Hemos estudiado distintos parámetros inmunitarios de 42 pacientes deprimidos durante la fase aguda y después de la respuesta al tratamiento, y los comparamos con un grupo de 20 controles sanos. Los parámetros estudiados fueron: recuento de monocitos y de células *natural killer* (NK), expresión de moléculas de superficie monocitaria HLA-II, CD14, y CD16, producción de citocinas monocitarias (IL-1 β , IL-6, y TNF- α), actividad oxidativa e índice de fagocitosis monocitarios, y actividad citotóxica de células NK.

RESULTADOS: En los pacientes deprimidos se produjo un aumento de monocitos CD16+, células NK, capacidad oxidativa monocitaria y producción de las citocinas estudiadas (IL-1 β , IL-6 y TNF- α), y un descenso de la expresión de HLA-II y del índice de fagocitosis monocitario. De estos parámetros, el índice de fagocitosis (especificidad del 90%; valor predictivo negativo del 99%) y, en menor medida, la producción de TNF- α (especificidad del 85%; valor predictivo negativo del 98,9%) fueron los que más podrían ayudar en el diagnóstico clínico de la depresión.

CONCLUSIONES: Los resultados indican que el índice de fagocitosis y la producción de TNF- α podrían ser marcadores biológicos útiles en la depresión, tanto para el diagnóstico como para el seguimiento evolutivo.

Palabras clave:

Psiconeuroinmunología. Citocina. Marcador biológico. Depresión. Monocito. Células *natural killer*.

Parameters of natural immunity as biological markers of depression

INTRODUCTION: Immune function is altered in adult patients with depression. Laboratory assessment of these alterations could aid clinical diagnosis of depression.

OBJECTIVES: To assess which immune parameters are the most reliable biological markers of depression.

SUBJECTS AND METHOD: We studied immune function in 42 depressed patients during the acute depressive phase and after treatment response, and compared it to that of 20 healthy controls. The following immune parameters were evaluated: monocyte and natural killer (NK) cell count; monocyte surface molecule expression (HLA-II, CD14, and CD16); monocyte cytokine proinflammatory production (interleukin [IL]-1 β , IL-6, and tumor necrosis factor [TNF]- α); respiratory burst capacity and monocyte phagocytic index; and NK cytotoxic activity.

RESULTS: Depressed patients showed an increase of CD16+ monocytes, NK cell count, respiratory burst activity, and monocyte cytokine production (IL-1 β , IL-6, and TNF- α). Depressed patients also showed a decrease in HLA-II molecule expression and phagocytic index. The monocyte phagocytic index (specificity = 90%, and negative predictive value = 99%), and to a lesser extent, TNF- α production (specificity = 90%, and negative predictive value = 99%) could be the most reliable immune parameters in the clinical diagnosis of depression.

CONCLUSIONS: Our results suggest that the monocyte phagocytic index and TNF- α production are reliable biological markers of depression.

Key words:

Psychoneuroimmunology. Cytokine. Biological marker. Depression. Monocyte. Natural killer cells.

Correspondencia: Dr. J. Schlatter.
Departamento de Psiquiatría y Psicología Médica.
Clínica Universitaria. Universidad de Navarra.
Avda. Pío XII, 36. 31080 Pamplona. España.
Correo electrónico: schlatter@unav.es

INTRODUCCIÓN

La psiconeuroinmunología es la parte de la ciencia que estudia una red compleja formada por el sistema nervioso central, el sistema endocrino y el sistema inmunitario. Su desarrollo en las últimas décadas se debe a su carácter multidisciplinario y al creciente interés por las bases biológicas de los trastornos psiquiátricos¹, especialmente de los trastornos afectivos²⁻⁴. Después de los primeros trabajos de Besedovsky et al⁵ o Ader et al⁶, aparecieron progresivamente estudios con datos a veces contradictorios que sembraron cierta confusión y desconfianza en que se pudieran encontrar puntos fundamentales de consenso.

En los últimos años se han remarcado los siguientes aspectos de la psicoimmunología de la depresión: *a*) se produce una respuesta inflamatoria inespecífica relacionada con el síndrome somático de la depresión⁷⁻⁹; *b*) hay manifestaciones de activación inmunitaria (aumento de citocinas proinflamatorias IL-1 β ¹⁰⁻¹², IL-6^{13,14} y TNF- α ^{15,16}, de linfocitos activados¹⁷ y monocitos¹⁸, de la actividad oxidativa monocitaria¹²⁻²¹; etc.) así como de inmunodepresión, posiblemente de tipo compensador (disminución de la actividad citotóxica de las células *natural killer* [ACNK]^{19,20}, del índice de fagocitosis monocitaria¹², de la linfoproliferación ante mitógenos²², etc.), y *c*) de todos los transmisores implicados, las citocinas parecen tener un protagonismo especial^{3,23}.

Los motivos que más han contribuido a que los resultados publicados hayan sido frecuentemente contradictorios son sobre todo el papel inmunomodulador de los psicofármacos^{24,25}, las características de la depresión (melancólica^{7,26}, depresión mayor [DM] frente a distimia [Dt]¹², intensidad de la depresión²⁷, síntomas psicóticos, atipicidad^{22,28}, etc.), y características propias del sujeto (tabaquismo, alteraciones del sueño, etc.)¹.

Los objetivos de nuestro estudio son: *a*) analizar determinados parámetros de la inmunidad natural (sistema monocitario y células NK) en un grupo de pacientes deprimidos y compararlos con los de una muestra de controles sanos equiparable; *b*) estudiar si los cambios inmunitarios encontrados en los pacientes deprimidos son diferentes en los pacientes con DM frente a los de Dt; *c*) comprobar si las alteraciones de los parámetros guardan relación con algunas características propias del paciente o del cuadro depresivo; *d*) valorar qué parámetros inmunitarios permanecen alterados y cuáles se normalizan después de que mejoren con el tratamiento, y por último *e*) establecer si alguno de estos parámetros podría ser válido como marcador de estado de cara a una posible aplicación diagnóstica en la práctica clínica.

SUJETOS Y MÉTODO

Sujetos

Hemos incluido a 42 pacientes deprimidos: 21 diagnosticados de DM (DSM-IV-TR: 296.2) o de trastorno depresivo recurrente (DSM-IV-TR: 296.3), y 21 de Dt (DSM-IV-TR: 300.4), atendidos en el Departamento de Psiquiatría y Psicología Médica de la Clínica Universitaria de la Universidad de Navarra. El grupo control lo formaban 20 sujetos sanos. Todos tenían edades comprendidas entre los 18 y los 65 años.

Después de obtener el consentimiento informado, se les realizaron un examen físico y una analítica general. La intensidad de la depresión fue valorada mediante la escala de Hamilton para la depresión (HAM-D)²⁹. También empleamos la escala de Hamilton para la ansiedad (HAM-A)³⁰, la escala de Newcastle³¹ para medir el componente endógeno, y la escala de la Impresión Clínica Global (ICG)³². Para ser incluidos, los pacientes debían puntuar inicialmente más de 7 puntos en la HAM-D, y por debajo de 7 al final del estudio. Excluimos a los sujetos que tomaban tratamientos o presentaban alguna enfermedad que pudiera alterar el sistema inmunitario. En los que recibían tratamiento antidepressivo se realizó un período de lavado ≥ 7 días (ninguno tomaba fluoxetina). Algunos ($n = 14$) recibieron durante la fase inicial dosis bajas de benzodiazepinas (< 3 mg/día de lorazepam) o levomepromacina (< 15 mg/día) en caso de insomnio o inquietud psicomotriz. Al final del estudio, la mitad de los pacientes ($n = 22$) tomaba antidepressivos y varios recibían psicoterapia de apoyo. Por último, excluimos también a las mujeres embarazadas o en período de lactancia.

Los pacientes fueron estudiados (función inmunitaria y escalas psicopatológicas) en 2 momentos: durante la fase aguda y después de obtener una notable mejoría (Dt) o en remisión (DM). Los controles sanos sólo fueron estudiados en una ocasión, dando por supuesto los mismos valores para la segunda fase. El tiempo medio transcurrido entre ambas fases fue de 40 días (media 40,5 días; rango 25-305 días).

Métodos

Utilizamos muestras de sangre periférica obtenidas mediante punción venosa con EDTA para el estudio de las poblaciones linfomonocitarias, y con heparina sódica para la funcionalidad monocitaria y cultivos celulares obtenidas entre las 8.00 y las 9.00. Efectuamos los recuentos celulares mediante contador Coulter-Micro-Dipl II (Coulter, Miami, FL, Estados Unidos). La caracterización de las poblaciones linfomonocitarias se efectuó mediante citometría de flujo, mediante la utilización de combinaciones de anticuerpos monoclonales marcados con fluorocromos y dirigidos contra antígenos de superficie leucocitarios: CD16/56 (células NK), CD16 FITC, CD14 PE, HLA-DR PE (Coulter Immunotech., Miami, FL, Estados Unidos). Como controles utilizamos anticuerpos isotipo irrelevantes marcados con FITC o PE. La adquisición y el análisis de los datos se efectuó en citómetro EPICS XL (Coulter) y mediante el software XL-2 (Coulter). Las poblaciones celulares se seleccionaron siguiendo criterios de tamaño y complejidad celular. Los resultados se expresaron en valores absolutos y porcentajes de población celular positiva para uno o 2 fluorocromos.

Se determinó la actividad oxidativa de los monocitos mediante el kit BURSTTEST (ORPEGEN, Pharma) en muestras de sangre con heparina. La adquisición de las muestras se realizó en citómetro FACSCalibur (Becton-Dickinson) mediante el software CellQuest (Becton-Dickinson). Los resultados se expresaron como intensidad media de fluorescencia expresada en la población celular seleccionada según criterios de tamaño y complejidad celular. El índice de fagocitosis monocitario se determinó mediante el kit PHAGOTEST (ORPEGEN, Pharma). En este caso, las *E. coli* opsonizadas se marcaron con FITC para cuantificar en el citómetro de flujo el porcentaje de la población monocitaria que fagocita.

Para medir la producción de IL-1 β se cultivaron los monocitos con lipopolisacáridos de *E. coli*, y se incubaron 24 h. Para la IL-6 y el TNF- α se cultivaron con fitohemaglutinina y se incubaron 48 h. La cuantificación de citocinas en el sobrenadante se determinó mediante enzimoimmunoanálisis con kits suministrados por R&D Systems (R&D Systems Europe, Abingdon, Oxon, Reino Unido).

La ACNK se determinó mediante análisis de liberación de ^{51}Cr y con la utilización como diana de la línea celular de leucemia eritromielóide K-562. Tras prepararlas e incubarlas 4 h a 37 °C se centrifugó y se cuantificó la liberación de ^{51}Cr en un contador de radiaciones gamma en porcentaje de cuentas por minuto.

Análisis estadístico

Tras verificar la normalidad de las variables mediante el test de Shapiro-Wilks observamos que el recuento de las células NK precisaba transformación logarítmica. La asociación entre variables cuantitativas se valoró con el coeficiente de correlación de Pearson, y las cualitativas con el test de la χ^2 .

Para comparar 2 grupos de sujetos se utilizó el test de la *t* de Student para muestras independientes. Las comparaciones entre la primera y segunda fase de un mismo grupo se realizaron con el test de la *t* de Student para muestras relacionadas, con los intervalos de confianza (IC) del 95% para la diferencia de medias. Las comparaciones de 3 grupos (controles, Dt y DM) se realizaron mediante ANOVA de un factor, seguido de la comparación múltiple de Tukey. Para la variable dependiente que se correlacionó casi significativamente con la edad (IL-1 β) se eliminó este efecto mediante ANCOVA de un factor.

Para determinar la asociación de los parámetros inmunitarios con el diagnóstico de depresión se utilizaron un análisis de regresión logística nominal simple y uno múltiple³³. En algunos parámetros inmunitarios, fue preciso calcular con el valor por 100 o 1.000 células. Se incluyeron los IC para las *odds ratio* (OR) respecto a los controles. El punto de corte óptimo para las variables de interés (capacidad oxidativa, producción de TNF- α , índice de fagocitosis y expresión de HLA-II+) se determinó mediante análisis de curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*). Para esas variables dicotomizadas se obtuvieron la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivo y negativo, para lo que se utilizaron los valores de prevalencia de depresión en la población española (2,3%) y europea (8,6%) de un estudio reciente³⁴. En algunos casos hubo que decidir entre 2 posibles puntos de corte. Por último, se calculó la validez interna y externa de las 2 variables principales (índice de fagocitosis monocitaria y producción de TNF- α) en el caso de que ambas estuvieran alteradas.

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS para Windows, versión 9, excepto los cálculos de sensibilidad, especificidad y valores predictivos, que se realizaron de forma manual con Excel.

RESULTADOS

La media de edad fue algo mayor en el grupo de pacientes deprimidos que en los controles ($42,7 \pm 15,1$ frente a $35,0 \pm 9,1$ años; $p = 0,016$), mientras que la proporción de mujeres fue superior entre los pacientes (25 mujeres frente a 17 varones), e idéntica entre los controles (10 mujeres frente a 10 varones). Durante el estudio se perdieron 13 casos, en su mayoría, pacientes que no alcanzaron la mejoría clínica necesaria.

La puntuación media de la HAM-D durante la primera fase fue de $16,9 \pm 6,7$ y de $5,3 \pm 3,0$ en la segunda. La HAM-A mostró una media de $15,1 \pm 7,9$ durante la primera fase y de $5,5 \pm 4,1$ durante la segunda. En ambos casos, la disminución a lo largo del estudio fue significativa ($p < 0,001$). La escala de Newcastle obtuvo unos valores medios de $3,4 \pm 3,0$ (es decir, de predominio neurótico, ≤ 5). La ICG al inicio del estudio fue de $4,6 \pm 1,0$, y de $2,1 \pm 0,8$ al final (tabla 1).

Al correlacionar edad y parámetros inmunitarios encontramos sólo una correlación cercana a la significación para la IL-1 β ($r = 0,299$; $p = 0,057$), por lo que ajustamos este parámetro por edad. En los controles no hallamos correlaciones con la edad. No encontramos diferencias al comparar los valores inmunitarios en función del sexo.

Durante la primera fase del estudio, al comparar el grupo de pacientes deprimidos con el de controles sanos encontramos entre los deprimidos un mayor recuento en

TABLA 1. Datos demográficos

	Deprimidos	Controles sanos
Número (V/M)	42 (17/25)	20 (10/10)
Edad (años)	$42,7 \pm 15,1^a$ [20-65]	$35,0 \pm 9,1$ [22-54]
Diagnóstico	21 Dt/21 DM	20
Raven	$102,4 \pm 9,4$ [90-125]	No valorado
Edad de inicio	$33,9 \pm 14,9$	—
HAM-D (T0)	$16,9 \pm 6,7$	No valorado
HAM-D (T1)	$5,3 \pm 3,1^b$	
HAM-A (T0)	$15,1 \pm 7,9$	
HAM-A (T1)	$5,5 \pm 4,1^b$	

Dt: distimia; DM: depresión mayor; T0: primera fase del estudio; T1: segunda fase; HAM-D: Escala de Hamilton para la depresión (21 ítems);

HAM-A: Escala de Hamilton para la ansiedad.

^aSignificativamente diferente frente a los controles ($t = 2,48$; $gl = 56$; $p = 0,016$).

^bSignificativamente diferente entre T0 y T1 ($p < 0,001$).

Datos expresados como media \pm desviación estándar.

números absolutos ($t = 3,62$; IC del 95%, 9,2-32,2; $p = 0,001$) y porcentaje ($t = 2,89$; IC del 95%, 2,1-1,8; $p = 0,006$) de monocitos CD16+, recuento ($t = 1,93$; IC del 95%, -0,02 a 1,09; $p = 0,058$) y porcentaje ($t = 2,22$; IC del 95%, 0,06-1,09; $p = 0,030$) de células NK, de la capacidad oxidativa monocitaria ($t = 2,51$; IC del 95%, 5,21-45,82; $p = 0,015$), y de la producción de todas las citocinas estudiadas: IL-1 β ($F = 3,39$; IC del 95%, 120,7-1.231,5; $p = 0,071$), IL-6 ($t = 4,03$; IC del 95%, 6,7-19,9; $p < 0,001$) y TNF- α ($t = 3,69$; IC del 95%, 6,4-21,6; $p < 0,001$). En cambio, se produce una disminución del porcentaje de monocitos HLA-II+ ($t = -2,70$; IC del 95%, -7,9 a -1,2; $p = 0,010$) y del índice de fagocitosis monocitaria ($t = -4,30$; IC del 95%, -23,87 a -8,69; $p < 0,001$) (tabla 2).

Cuando se comparó a los pacientes con DM con los que presentaban Dt entre sí, no encontramos diferencias significativas en la primera y en la segunda fase.

La HAM-D se correlacionaba con la ACNK ($r = -0,334$; $p = 0,035$), y la HAM-A con el porcentaje de

monocitos CD14+ ($r = -0,133$; $p = 0,043$), el recuento de CD16+ ($r = 0,398$; $p = 0,012$) y la producción de IL-1 β ($r = -0,427$; $p = 0,006$). La escala de Newcastle y el tiempo de evolución no se correlacionaron con ningún parámetro inmunitario.

Las diferencias en el grupo de deprimidos entre las fases inicial y final del estudio fueron: disminución del porcentaje de monocitos CD14+ ($t = 2,74$; IC del 95%, -0,6 a 4,4; $p = 0,010$) y CD16 ($t = 2,34$; IC del 95%, -0,4 a 5,6; $p = 0,026$), de la producción de TNF- α ($t = 2,09$; IC del 95%, -0,2 a 16,4; $p = 0,045$) y de la ACNK ($t = 2,10$; IC del 95%, 0,09 -19,11; $p = 0,046$).

Tras el análisis de regresión logística multivariable con los resultados de la primera fase del estudio encontramos significación estadística para 4 de ellos: porcentaje de monocitos HLA-II+ ($p = 0,014$), índice de fagocitosis ($p < 0,001$), capacidad oxidativa ($p < 0,001$) y producción de TNF- α ($p = 0,004$) (tabla 3). Como se puede observar, la capacidad oxidativa y la producción de TNF- α se asocian positivamente con el riesgo de presentar depre-

TABLA 2. Parámetros de recuento y función monocitaria y de células *natural killer* en controles (n = 20) y pacientes deprimidos (n = 42) en la primera fase del estudio

Parámetros inmunitarios	n (P/C) ^a	Pacientes deprimidos	Controles sanos	IC del 95% ^b	p
N.º leucocitos (células/ μ l)	42/20	6.477,8 \pm 1.908,1 ^c	6.718,2 \pm 1.509,4	-1.213,6 a 733,3	0,624
N.º monocitos (células/ μ l)	40/17	459,5 \pm 116,4	430,7 \pm 93,9	-34,6 a 93,6	0,360
% Monocitos	40/17	7,2 \pm 1,6	6,6 \pm 1,7	-0,3 a 1,5	0,210
N.º CD14+ (células/ μ l)	39/17	433,5 \pm 112	402,8 \pm 89,3	-30,9 a 92,4	0,321
% CD14+	42/20	93,2 \pm 4,4	93,2 \pm 4,4	2,4-2,4	0,991
N.º CD16+ (células/ μ l)	39/17	41,8 \pm 27,6	21,1 \pm 14,9	9,2-32,2	0,001
% CD16+	41/20	11,2 \pm 12,2	5,2 \pm 3,5	2,1-1,8	0,006
N.º HLA-II+ (células/ μ l)	39/17	430,1 \pm 115,1	411,7 \pm 90,9	-44,9 a 81,6	0,563
% HLA-II+	42/20	91,1 \pm 10,7	95,6 \pm 1,4	-7,9 a -1,2	0,010
Índice de fagocitosis (%)	42/20	60,09 \pm 17,94	76,38 \pm 11,55	-23,87 a -8,69	< 0,001
COM IF ^d	42/20	166,85 \pm 43,15	141,33 \pm 19,75	5,21-45,82	0,015
IL-1 β (μ g/ml) ^e	41/20	2.594,5 \pm 1.191,4	1.918,4 \pm 477,6	-44,4 a 1.078,9	0,071
IL-6 (μ g/ml)	41/20	123,4 \pm 11,2	110,1 \pm 13,9	6,7 a 19,9	< 0,001
TNF- α (μ g/ml)	41/20	76,8 \pm 19,8	62,7 \pm 9,8	6,4-21,6	< 0,001

^a(P/C) = pacientes/controles.

^bIntervalo de confianza para la diferencia entre las 2 medias.

^cDesviación estándar.

^dCOM (capacidad oxidativa monocitaria) según intensidad media de fluorescencia.

^eIL-1 β bajada por edad.

TABLA 3. Regresión logística nominal multivariable de los parámetros inmunitarios de los pacientes deprimidos durante la primera fase del estudio

Variable ^a	Depresión mayor	Distimia	p (LR) ^b
	OR (IC del 95%) p (Wald)	OR (IC del 95%) p (Wald)	
Porcentaje de monocitos HLA+	0,74 (0,51-1,07) 0,108	0,68 (0,46-0,99) 0,041	0,014
Índice de fagocitosis	0,87 (0,79-0,95) 0,001	0,89 (0,82-0,98) 0,013	< 0,001
Capacidad oxidativa	1,06 (1,01-1,11) 0,012	1,07 (1,03-1,12) 0,002	< 0,001
TNF- α	1,09 (1,02-1,18) 0,015	1,09 (1,02-1,17) 0,016	0,004

No hemos incluido el ajuste por edad ya que no influía en estas 4 variables.

^aIC: intervalo de confianza para la *odds ratio* (OR). Ambas OR se calculan respecto al grupo de controles.

^bLR: *logistic regression*.

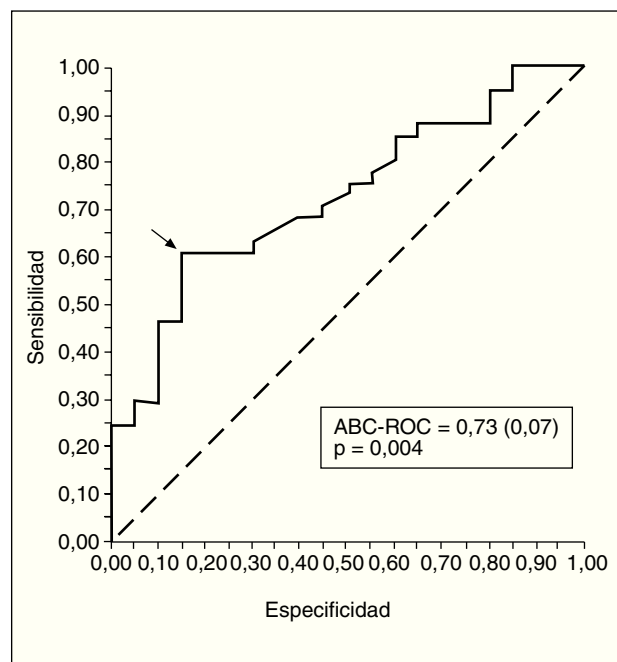


Fig. 1. Curva ROC de TNF- α en los pacientes deprimidos durante la primera fase del estudio.
ABC-ROC: área bajo la curva ROC.

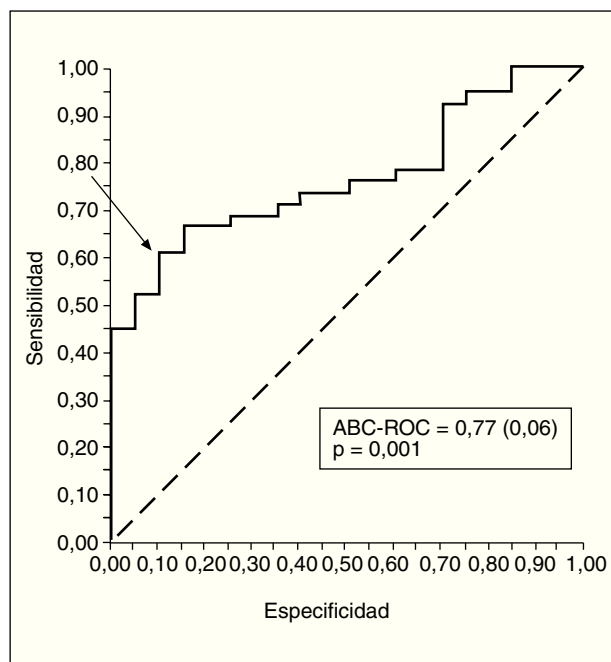


Fig. 2. Curva ROC del índice de fagocitosis monocitaria en los pacientes deprimidos durante la primera fase del estudio.
ABC-ROC: área bajo la curva ROC.

sión, mientras que el porcentaje de monocitos HLA-II+ y el índice de fagocitosis lo hacen de manera inversa.

Nos parece indicativo que el índice de fagocitosis monocitaria y la producción de TNF- α , que son los 2 parámetros de los estudiados más idóneos como marcadores biológicos de la depresión, no guarden una asociación lineal ($r = 0,000$; $p = 0,999$), lo que podría estar en relación con mecanismos fisiopatológicos diferentes.

Los estudios de las áreas bajo la curva ROC de estos 4 parámetros seleccionados resultaron “útiles en determinadas circunstancias” por encontrarse entre 0,7 y 0,9, a excepción de la expresión de moléculas HLA-II+, que fue de “baja utilidad” ($< 0,7$). En concreto, fueron de 0,73 (0,07) ($p = 0,004$; punto de corte = 63,5 pg/ml) para el TNF- α ; ABC-ROC = 0,72 (0,06) ($p = 0,005$; punto de corte = 138,2) para la capacidad oxidativa; ABC-ROC = 0,62 (0,07) ($p = 0,130$; punto de corte = 94,7 cel/ μ l) para los monocitos HLA-II+; ABC-ROC = 0,77 (0,06) ($p = 0,001$; punto de corte = 62,2%) para índice de fagocitosis monocitaria (figs. 1 y 2).

Aunque la producción de TNF- α presenta valores aceptables, el índice de fagocitosis ofrece el mejor perfil por su alta especificidad (90%) y valor predictivo negativo (el 99% para la población española y el 96,2% para la europea) (tabla 4). Si combinamos ambos parámetros, la especificidad sube hasta el 100%, mientras que el valor predictivo negativo sería del 98,5% para España y del 94,4% para Europa (tabla 5).

DISCUSIÓN

Nuestros resultados sugieren que la disminución del índice de fagocitosis y, en menor medida, el aumento de producción de TNF- α son los 2 parámetros que más podrían ayudar como marcadores de estado al diagnóstico clínico de depresión. Los demás parámetros alterados (aumento de los monocitos CD16+, de la capacidad oxidativa monocitaria, de la producción de IL-1 β , e IL-6, y del recuento NK, así como la disminución de los monocitos HLA-II+) también se alteraron durante la depresión.

Algunos de estos hallazgos señalan una activación monocitaria, como el aumento de monocitos CD16+³⁵, y de la capacidad oxidativa monocitaria que no apareció alterada en anteriores estudios^{36,37}. Nosotros no hemos encontrado un aumento del recuento monocitario, al igual que algunos autores^{38,39} y en contraste con otros^{18,40}. Sí hay un consenso más generalizado sobre el aumento de producción de las citocinas monocitarias estudiadas^{3,41}.

El aumento de células NK también ha sido ya referido con anterioridad⁴², aunque algunos autores indican una disminución^{19,43} e incluso llegan a proponerlo como marcador de rasgo de depresión. El descenso de la ACNK es uno de los datos más contrastados en la literatura médica^{1,19}, con alguna excepción²⁰. En nuestro estudio, el descenso se pronuncia más en la segunda fase.

TABLA 4. Validez interna y externa del índice de fagocitosis monocitaria en los pacientes deprimidos durante la primera fase del estudio

	Punto de corte 1 62,6	Test + ≤ 62,6 Test ≥ 62,6	Punto de corte 2 65,8	Test + ≤ 65,8 Test ≥ 65,8
Validez interna	Sensibilidad: 61,9% Especificidad: 90%		Sensibilidad: 66,7% Especificidad: 85%	
Validez externa	VP+ VP-	España 12,7% 99%	Europa 36,7% 96,2%	España 9,5% 99,1% Europa 29,4% 96,5%

VP+: valor predictivo positivo; VP-: valor predictivo negativo.

TABLA 5. Validez interna y externa de la combinación del índice de fagocitosis monocitaria y la producción de TNF- α en los pacientes deprimidos durante la primera fase del estudio

	Caso	Control
Test +	15	0
Test -	26	20
Validez interna	Sensibilidad: 36,6% Especificidad: 100%	
Validez externa	VP+ VP-	España 100% 98,5% Europa 100% 94,4%

VP+: valor predictivo positivo; VP-: valor predictivo negativo.

Esto podría deberse al efecto de los psicofármacos, a un proceso más lento de recuperación de este parámetro o incluso a su posible papel como marcador de rasgo, como también se ha señalado¹⁹.

La disminución de la capacidad fagocítica y, coherentemente, de la expresión de la molécula de presentación HLA-II ya había sido publicado con anterioridad por nuestro equipo, entre otros^{21,44}, frente a quienes no encuentran esta alteración¹⁸ o los que indican un aumento³⁹. Cabría relacionar el aumento de citocinas y de capacidad oxidativa con la activación monocitaria, y la disfunción fagocítica con el hipercortisolismo asociado con la depresión⁴⁵.

Aunque hay mayores alteraciones inmunitarias en los ancianos⁴⁶, la media de edad de nuestro grupo de pacientes es sólo 7 años mayor que los controles. Además, no es lo mismo significación estadística que la clínica, de manera que los cambios inmunitarios que pueden darse en 7 años de vida no deberían ser de entidad. Tampoco hemos encontrado una correlación entre edad y cambios inmunitarios. El único parámetro que mostraba una tendencia a la significación estadística, la IL-1 β , lo ajustamos por edad.

Las mujeres parecen tener un sistema de respuesta inflamatorio más reactivo⁴⁷. Nuestra muestra de pacientes tiene más mujeres, pero no de forma significativa. Cuando comparamos los valores inmunitarios entre ambos sexos, tras ajustarlos por edad, no encontramos diferencias significativas.

No hay consenso sobre la influencia del régimen de atención, aunque clásicamente se ha señalado una mayor alteración inmunitaria en pacientes hospitalizados⁴⁸. Dos tercios de nuestros pacientes estaban ingresados, por lo que es posible que este factor haya influido en los resultados.

No hemos encontrado asociación entre el tiempo de evolución y los cambios inmunitarios. Se ha propuesto la IL-1 β como marcador de cronicidad en la Dt⁴⁹. Quizá, el tamaño reducido de nuestra muestra no haya permitido detectarla.

Al estudiar una posible asociación entre los parámetros inmunitarios y la intensidad del cuadro depresivo, sólo encontramos una correlación negativa con la ACNK, coincidiendo con otros autores¹; otros estudios no encontraron esta asociación¹⁹. El resto de parámetros varió de forma independiente con la intensidad de la depresión, en consonancia con los datos de la literatura médica^{10,50}.

El papel del síndrome ansioso acompañante es aún más difícil de valorar. De hecho, hay muy pocos estudios que valoren este aspecto³⁶. Nosotros encontramos una correlación negativa con la producción de IL-1 β de difícil interpretación desde nuestro punto de vista, y una correlación positiva con la ratio CD16+/CD14+ como posible reflejo de activación monocitaria⁵¹.

De las características de la depresión, el componente de endogeneidad medido con la Escala de Newcastle no se asoció con ningún parámetro inmunitario. Sobre este punto no hay consenso, pues unos estudios señalan una mayor respuesta inflamatoria y cambios inmunitarios en los cuadros melancólicos^{7,52}, mientras que otros indican lo contrario⁵³. Cuando agrupamos a los pacientes melancólicos según esta escala sólo encontramos un descenso significativo de la fagocitosis monocitaria ya mencionado en la bibliografía²¹ y un aumento casi significativo de TNF- α , lo que resulta interesante para las conclusiones finales del estudio.

No hemos encontrado diferencias entre DM y Dt en la primera fase del estudio y en la segunda. Otros autores han publicado un aumento de células NK en ambos tipos de depresión, con una recuperación más lenta en la Dt⁴². Nosotros detectamos inicialmente una mayor producción

de IL-1 β ⁵⁴ en la Dt en consonancia con otros autores⁴⁹, pero al final del estudio estas diferencias desaparecieron, como sugieren los estudios de Maes et al^{55,56}.

El estrés provoca unos cambios en la función inmunitaria⁵⁷ que pueden solaparse con los de la depresión^{1,2}, lo que oscurece nuestros hallazgos. En todo caso, llama la atención que el aumento de células NK y de IL-1 β se mantienen o incluso se hace más pronunciado en la segunda fase del estudio, donde se supone que el estrés agudo ha desaparecido. Habría sido muy útil medir el estrés percibido en ambas fases del estudio, por ejemplo, mediante la Escala de Estrés Percibido u otro instrumento similar.

El papel de los psicofármacos en los cambios inmunitarios es también de interés. El período de lavado de nuestro estudio (≥ 7 días) podría haber resultado insuficiente, pese a que ninguno tomaba fluoxetina. La mayoría de los estudios señalan el efecto antiinflamatorio e inmunodepresor de los antidepresivos⁵⁸⁻⁶⁰, aunque hay datos contradictorios²⁴. En todo caso, es difícil separar el efecto debido a la mejoría clínica y al psicofármaco en sí. Por estos motivos, habría interesado realizar un período de lavado mayor en la primera fase. Realmente, resulta práctica y éticamente comprometido estudiar a pacientes con Dt sin tratamiento y valorarlos tras una mejoría sustancial de nuevo sin recibir tratamiento.

Para seleccionar los mejores marcadores de estado de depresión nos planteamos utilizar de forma inicial los parámetros que estaban alterados en la primera fase y se normalizaran en la segunda: el aumento de monocitos CD16+, de la capacidad oxidativa monocitaria, de la producción de IL-6 ya propuesto por algunos autores^{61,13} y de TNF- α ^{62,63}. Ante la imposibilidad de conocer el tiempo necesario para la recuperación de estos parámetros y tras observar que algunos permanecían alterados en la segunda fase, decidimos estudiar todos los parámetros alterados en la primera fase. Después del análisis multivariable seleccionamos los 4 que se comportaban de manera independiente entre sí: aumento de la capacidad oxidativa, del que no hemos hallado bibliografía acerca de su empleo como marcador; aumento de la producción de TNF- α , ya señalado por otros autores⁶³; disminución del índice de fagocitosis monocitaria y del porcentaje de monocitos HLA-II+, ya propuesto por nuestro grupo²¹, aunque negado por otros³⁹.

Tras valorar las curvas ROC de estos 4 parámetros observamos que los 2 que mostraban mejores registros de validez interna y externa eran la fagocitosis monocitaria y la producción de TNF- α . Los altos valores de especificidad y valor predictivo negativo señalan que en caso de que no se pueda establecer claramente un diagnóstico clínico de depresión, unos valores normales de fagocitosis monocitaria y de producción de TNF- α orientarán hacia un diagnóstico negativo de depresión.

Lógicamente, no se podría plantear un diagnóstico positivo de depresión sin la oportuna exploración psicopatológica y el consiguiente juicio clínico.

Entendemos que la reducida muestra de nuestro estudio y las limitaciones ya señaladas a lo largo del apartado "Discusión" recomiendan realizar nuevos estudios antes de proponer de manera firme estos parámetros inmunitarios (índice de fagocitosis monocitaria y producción de TNF- α) como marcadores de estado de la depresión.

AGRADECIMIENTOS

Queríamos agradecer la insustituible aportación de María del Carmen Apesteguía, Arantxa Díez y Karol Machiñena en la selección de casos, así como de todo el personal del Laboratorio de Inmunología de la Clínica Universitaria de Navarra en la persona de su director, Alfonso Sánchez Ibarrola, sin cuya colaboración desinteresada este estudio nunca se habría podido realizar.

BIBLIOGRAFÍA

1. Irwin M. Depression and Immunity. En: Ader R, Felten DL, Cohen N, editors. Psychoneuroimmunology. Vol. 2. San Diego: Academic Press; 2001. p. 383-98.
2. Connor TJ, Leonard BE. Depression, stress and immunological activation: the role of cytokines in depressive disorders. *Life Sci*. 1998;62:583-606.
3. Schiepers OJG, Wichers MC, Maes M. Cytokines and major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2005;29:201-17.
4. Miller AH. The role of the immune system in depression. *WPA Bulletin on Depression*. 2000;20:3-6.
5. Besedovsky HO, Del Rey A, Scharadt M, Sorkin B, Normann S, Baumann J, et al. Changes in blood hormone levels during the immune response. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1975;150:455-70.
6. Ader R, Cohen N. 1975 Behaviorally conditioned immunosuppression. *Psychosom Med*. 1975;37:333-40.
7. Rothermundt M, Arolt V, Peters M, Gutbrodt H, Fenker J, Kersting A, et al. Inflammatory markers in major depression and melancholia. *J Affect Disord*. 2001;63:93-102.
8. Liukkonen T, Silvennoinen-Kassinen S, Jokelainen J, Rasanen P, Leinonen M, Meyer-Rochow VB, et al. The association between C-reactive protein levels and depression: results from the northern Finland 1966 Birth Cohort Study. *Biol Psychiatry*. 2006. En prensa.
9. Maes M. Major depression and activation of the inflammatory response syndrome. *Adv Exp Med Biol*. 1999;461:25-46.
10. Owen BM, Eccleston D, Ferrier IN, Young AH. Raised levels of plasma interleukin-1 β in major and postviral depression. *Acta Psychiatr Scand*. 2001;103:226-8.
11. Thomas AJ, Davis S, Morris C, Jackson E, Harrison R, O'Brien JT. Increase in interleukin-1 β in late-life depression. *Am J Psychiatry*. 2005;162:175-7.
12. Schlatter J, Ortuño F, Cervera-Enguix S. Monocytic parameters in patients with dysthymia versus major depression. *J Affect Disord*. 2004;78:243-7.
13. Frommberger UH, Bauer J, Haselbauer P, Fraulin A, Riemann D, Berger M. Interleukin-6 plasma levels in depression and schizophrenia: comparison between the acute state and after remission. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 1997;247:228-33.

14. Maes M, Meltzer HY, Bosmans E, Bergmans R, Vandoelaeghe E, Ranjan R, et al. Increased plasma concentrations of interleukin-6, soluble interleukin-6, soluble interleukin-2 and transferrin receptor in major depression. *J Affect Disord.* 1995;34:301-9.
15. Tuglu C, Kara SH, Caliyurt O, Vardar E, Abay E. Increased serum tumor necrosis factor-alpha levels and treatment response in major depressive disorder. *Psychopharmacol.* 2003;170:429-33.
16. Brambilla F, Monteleone P, Maj M. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha in children with major depressive disorder or dysthymia. *J Affect Disord.* 2004;78:273-7.
17. Kubera M, VanBockstaele D, Maes M. Leukocyte subsets in treatment-resistant major depression. *Pol J Pharmacol.* 1999;51:547-9.
18. Landmann R, Schaub B, Link S, Wacker HR. Unaltered monocyte function in patients with major depression before and after three months of antidepressive therapy. *Biol Psychiatry.* 1997;41:675-81.
19. Schleifer SJ, Keller SE, Bartlett JA. Depression and immunity: clinical factors and therapeutic course. *Psychiatry Res.* 1999;85:63-9.
20. Ravindran AV, Griffiths J, Merali Z, Anisman H. Circulating lymphocyte subsets in obsessive compulsive disorder, major depression and normal controls. *J Affect Disord.* 1999;52:1-10.
21. Cervera S, Rodríguez A, Ramos F, Sarraís F, Pla J, Rodríguez R. Study of the evolution of some monocytic parameters and neuroendocrine function tests in depressed patients. *Actas Luso Esp Neurol Psiquiatr Cienc Afines.* 1995;23:67-73.
22. Zaharia MD, Ravindran AV, Griffiths J, Merali Z, Anisman H. Lymphocyte proliferation among major depressive and dysthymic patients with typical or atypical features. *J Affect Disord.* 2000;58:1-10.
23. Dantzer R. Cytokines and depression: an update. *Brain Behav Immun.* 2002;16:501-2.
24. Kubera M, Kenis G, Bosmans E, Kajta M, Basta-Kaim A, Scharpe S, et al. Stimulatory effect of antidepressants on the production of IL-6. *Int Immunopharmacol.* 2004;4:185-92.
25. Kubera M, Maes M. Serotonin-immune interactions in major depression. En: Peterson PH, Kordon C, Christen Y, editors. *Neuro-immune interactions in neurologic and psychiatric disorders.* Berlin: Springer-Verlag; 2000. p. 79-87.
26. Schlatter J, Ortuño F, Cervera-Enguix S. Lymphocyte subsets and lymphokine production in patients with melancholic versus nonmelancholic depression. *Psychiatry Res.* 2004;128:259-65.
27. Marques-Deak AH, Lotufo F, Domínguez WV, Solís AC, Kurgant D, Sato F, et al. Cytokine profiles in women with different subtypes of major depressive disorder. *J Psychiatry Res.* 2006. En prensa.
28. Ravindran AV, Griffiths J, Merali Z, Anisman H. Circulating lymphocyte subsets in major depression and dysthymia with typical or atypical features. *Psychosom Med.* 1998;60:283-9.
29. Hamilton M. Development of a rating scale for primary depressive illness. *Br J Soc Clin Psychol.* 1967;6:278-96.
30. Hamilton M. The assessment of anxiety states by rating. *Br J Med Psychol.* 1959;32:50-5.
31. Carney MWP, Roth M, Garside RF. The diagnosis of depressive syndromes and the prediction of ETC response. *Br J Psychiatry.* 1965;650-74.
32. Guy W. *ECDEU assessment manual for psychopharmacology.* Bethesda: National Institute for Mental Health, Psychopharmacology Research Branch; 1976.
33. Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied logistic regression.* New York: John Wiley & Sons; 1989.
34. Ayuso-Mateos JL, Vázquez-Barquero JL, Dowrick C, Lehtinen V, Dalgard OS, Casey P, et al. Depressive disorders in Europe: prevalence figures from the ODIN study. *Br J Psychiatry.* 2001;179:308-16.
35. Vignola AM, Gjomarkaj M, Arnoux B, Bousquet J. Monocytes: updates on cells and cytokines. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;101:149-52.
36. Atanackovic D, Kröger H, Serke S, Deter HC. Immune parameters in patients with anxiety or depression during psychotherapy. *J Affect Disord.* 2004;81:201-9.
37. Maes M, Stevens W, DeClerck L, Peeters D, Bridts C, et al. Neutrophil chemotaxis, phagocytosis, and superoxide release in depressive illness. *Biol Psychiatry.* 1992;31:1220-4.
38. Weizman R, Laor N, Podliszewski E, Notti I, Djaldetti M, Bessler H. Cytokine production in major depressed patients before and after clomipramine treatment. *Biol Psychiatry.* 1994;35:42-7.
39. McAdams C, Leonard BE. Neutrophil and monocyte phagocytosis in depressed patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 1993;17:971-84.
40. Seidel A, Arolt V, Hunstiger M, Rink L, Behnisch A, Kirchner H. Major depressive disorder is associated with elevated monocyte counts. *Acta Psychiatr Scand.* 1996;94:198-204.
41. Kronfol Z, Remick DG. Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *Am J Psychiatry.* 2000;157:683-94.
42. Ravindran AV, Griffiths J, Merali Z, Anisman H. Lymphocyte subsets associated with major depression and dysthymia: modification by antidepressant treatment. *Psychosom Med.* 1995;57:555-63.
43. Schleifer SJ, Keller SE, Bartlett JA, Eckholdt HM, Delaney BR. Immunity in young adults with major depression. *Am J Psychiatry.* 1996;153:472-82.
44. Castilla I, Castilla A, Gurpegi M. Opioid peptides and immunodysfunction in patients with major depression and anxiety disorders. *J Physiol Biochem.* 1998;54:203-15.
45. Boomershtine CS, Wang T, Zwilling BS. Neuroendocrine regulation of macrophage and neutrophil function. En: Ader R, Felten DL, Cohen N, editores. *Psychoneuroimmunology.* Vol. 2. San Diego: Academic Press; 2001. p. 289-301.
46. Globerson A, Effros RB. Ageing of lymphocytes and lymphocytes in the aged. *Immunol Today.* 2000;12:515-21.
47. Piccinelli M, Wilkinson G. Gender differences in depression. Critical review. *Br J Psychiatry.* 2000;177:486-92.
48. Herbert TB, Cohen S. Depression and immunity: a meta-analytic review. *Psychol Bull.* 1993;113:472-86.
49. Anisman H, Ravindran AV, Griffiths J, Merali Z. Interleukin-1 β production in dysthymia before and after pharmacotherapy. *Biol Psychiatry.* 1999;46:1649-55.
50. Kagaya A, Kugaya A, Takebayashi M, Fukue-Saeki M, Saeki T, Yamawaki S, et al. Plasma concentrations of interleukin-1beta, interleukin-6, soluble interleukin-2 receptor and tumor necrosis factor-alpha of depressed patients in Japan. *Neuropsychobiol.* 2001;43:59-62.
51. Schlatter J, Ortuño F, Pla J, Seva-Fernández A, Cervera S. CD16 monocyte subtype such as anxiety state marker in depression. *J Affect Disord.* 2006. En prensa.
52. Maes M, Smith R, Scharpe S. The monocyte-T-lymphocyte hypothesis of major depression. *Psychoneuroendocrinol.* 1995;20:111-6.
53. Maes M, Minner B, Suy E, Vandervorst C, Raus J. Coexisting dysregulations of both the sympathoadrenal system and hypothalamic-pituitary-adrenal axis in melancholia. *J Neural Transm Gen Sect.* 1991;85:195-210.
54. Schlatter J, Ortuño F, Cervera S. Differences in interleukins' patterns between dysthymia and major depression. *Eur Psychiatry.* 2001;16:317-9.
55. Maes M, Bosmans E, Suy E, Vandervorst C, DeJonckheere C, Raus J. Depression-related disturbances in mitogen-induced lymphocyte responses and interleukin-1 β and soluble interleukin-2 receptor production. *Acta Psychiatr Scand.* 1991;84:379-86.
56. Maes M, Lambrechts J, Suy E, Vandervorst C, Bosmans E. Absolute number and percentage of circulating NK, non-MHC-restricted T cytotoxic, and phagocytic cells in unipolar depression. *Neuropsychobiol.* 1994;29:157-63.
57. Maes M. Psychological stress, cytokines and the inflammatory response system. *Curr Opin Psychiatry.* 1999;12:695-700.
58. Lin A, Song C, Kenis G, Bosmans E, DeJongh R, Scharpé S, et al. The in vitro immunosuppressive effects of moclobemide in healthy volunteers. *J Affect Disord.* 2000;58:69-74.

59. Xia Z, DePierre J, Nassberger L. Tricyclic antidepressants inhibit IL-6, IL-1, and TNF-release in human blood monocytes and IL-2 and interferon- γ in T cells. *Immunopharmacol.* 1996; 34:27-37.
60. Kubera M, Lin A, Kenis G, Bosmans E, Van Bockstaele D, Maes M. Anti-inflammatory effects of antidepressants through suppression of the interferon- γ /interleukin 10 production ratio. *J Clin Psychopharmacol.* 2001;21:199-206.
61. Sluzewska A, Rybakowski J, Bosmans E, Sobieska M, Berghmans R, Maes M, et al. Indicators of immune activations in major depression. *Psychiatry Res.* 1996;64:161-7.
62. Leonard BE. Peripheral markers of depression. *Curr Opin Psychiatry.* 2000;18:61-8.
63. Lanquillon S, Krieg JC, Bening-Abu-Shach U, Vedder H. Cytokine production and treatment response in Major Depressive Disorder. *Neuropsychopharmacol.* 2000;22:370-9.