



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Hugo Akirito de Almeida Oyamada

**Impacto do transtorno depressivo maior no perfil fenotípico e funcional das
células T CD4⁺ em pacientes com asma e rinite alérgica**

Rio de Janeiro

2022

Hugo Akirito de Almeida Oyamada

**Impacto do transtorno depressivo maior no perfil fenotípico e funcional das células T
CD4⁺ em pacientes com asma e rinite alérgica**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Microbiologia Médica Humana.

Orientadora: Prof^a. Dra. Cleonice Alves de Melo Bento

Rio de Janeiro

2022

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

O98 Oyamada, Hugo Akirito de Almeida.
Impacto do transtorno depressivo maior no perfil fenotípico e funcional das células T CD4+ em pacientes com asma e rinite alérgica / Hugo Akirito de Almeida Oyamada– 2022.
59f.

Orientadora: Prof.^a Dra. Cleonice Alves de Melo Bento

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Microbiologia.

1. Transtorno depressivo maior - Teses. 2. Asma - Teses. 3. Rinite - Teses. 4. Linfócitos T CD4-Positivos. I. Bento, Cleonice Alves de Melo. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 616.248

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira
CRB7/6382

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Hugo Akirito de Almeida Oyamada

**Impacto do transtorno depressivo maior no perfil fenotípico e funcional das células T
CD4⁺ em pacientes com asma e rinite alérgica**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Microbiologia Médica Humana.

Aprovada em 11 de fevereiro de 2022.

Orientadora: Prof^a. Dra. Cleonice Alves de Melo Bento
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Banca Examinadora: _____
Prof^a. Dra. Alessandra Mattos Saliba
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Prof^a. Dra. Rosa Maria Tavares Haido
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Dra. Clarice Monteiro Rodrigues Santos
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora, Cléo Bento, por toda a dedicação e paciência que teve comigo, em especial nesses últimos anos tão difíceis. Agradeço também a toda equipe do LILiLiT, que foram essenciais para a realização desse trabalho.

Agradeço ao PPG-MICRO e todos seus docentes, funcionários e colaboradores, que me permitiram dois anos de muito aprendizado, mesmo que em tempos inesperados por todos. Em especial, agradeço a professora Wânia Manfro, por ter aceitado o convite de revisão da minha tese e por toda a sua colaboração.

A UNIRIO, minha primeira casa, por toda a formação, amadurecimento e experiências que tive e ainda tenho, mesmo após me formar.

As agências de fomento, CNPq e FAPERJ, por permitirem o desenvolvimento do meu trabalho e também o meu sustento nesse período de trabalho.

Agradeço, por fim, a minha família e amigos, por todo o insubstituível suporte por toda a minha jornada acadêmica.

RESUMO

OYAMADA, Hugo Akirito de Almeida. *Impacto do transtorno depressivo maior no perfil fenotípico e funcional das células T CD4⁺ em pacientes com asma e rinite alérgica*. 2022. 59 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

O transtorno depressivo maior (TDM) pode impactar na gravidade da rinite alérgica (RA) e da asma (AA), duas condições relacionadas à expansão de células T CD4⁺ efectoras alérgeno-específicas associadas a dano nos mecanismos de regulação imune. Os mecanismos celulares por trás dessa relação adversa não são conhecidos, mas deve envolver desequilíbrio na rede de citocinas e prejuízo na produção de serotonina (5-HT), um neurotransmissor capaz de modular a função das células T. O objetivo do presente estudo foi avaliar, *in vitro*, a produção de citocinas por células T de pacientes com RA e AA com ou sem TDM. O efeito da serotonina na resposta das células T também foi analisado. Para tanto, culturas de células mononucleares do sangue periférico foram ativadas com forbol 12-miristato 13-acetato (PMA) mais ionomicina, por 4 horas, ou com esferas magnéticas recobertas com anticorpos anti-CD3 e anti-CD28 por 72 horas. Os níveis de citocinas foram avaliados por Luminex e citometria de fluxo. A proliferação celular foi determinada pela captação de [³H] timidina. Em algumas culturas de células, a serotonina foi adicionada. Nossos resultados demonstraram que, apesar da ausência de diferença significativa na proliferação das células T, a ocorrência de TDM amplificou não apenas a produção de citocinas relacionadas aos fenótipos Th2 e Th17, mas também os níveis de IL-5 e IL-17 foram diretamente correlacionados com a gravidade dos sintomas de depressão e ansiedade. Em comparação com RA, os níveis de IL-17 foram maiores e a liberação de IL-10 foi menor em culturas de células T de pacientes com AA, principalmente aqueles com TDM. Em pacientes com AA/TDM, a gravidade dos sintomas de ansiedade e da doença pulmonar foi diretamente correlacionada com a frequência de células T CD4⁺ relacionada ao fenótipo Th17 e às células Th2/Th17 híbridas, mas inversamente correlacionada com células T CD4⁺IL-10⁺. Finalmente, a adição de serotonina reduziu a produção de citocinas relacionadas aos fenótipos Th2 e Th17 e elevou a secreção de IL-10 em culturas celulares de pacientes com RA e AA. Apesar de preliminares, nossos achados sugerem que não apenas a ocorrência de TDM, mas também a gravidade dos sintomas de ansiedade, pode afetar adversamente o desfecho das reações alérgicas por favorecer a produção de citocinas implicadas na patogênese da RA e AA, fenômeno que foi atenuado pela serotonina.

Palavras-chave: Células T CD4⁺. Transtorno Depressivo Maior. Transtornos de ansiedade. Alergia. Serotonina.

ABSTRACT

OYAMADA, Hugo Akirito de Almeida. *Impact of major depressive disorder on the phenotypical and functional profile of T CD4⁺ in patients with allergic asthma and rhinitis*. 2022. 59 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

The Major Depressive Disorder (MDD) may impact in the severity of Allergic Rhinitis (AR) and Asthma (AA), two disorders related to the expansion of allergen-specific effector T CD4⁺ cells that are associated with impairment of immune regulatory mechanisms. The cellular structure behind this adverse relationship aren't know, but may involve disbalance in the cytokine network and serotonin (5-HT) production, a neurotransmitter capable of modulating T cell functions. As such, the objective of this study was to evaluate, *in vitro*, the production of cytokines by T cells of patients with AR and AA, that may or may not have MDD. The effects of 5-HT in T cell response was also analyzed. To do so, peripheral blood mononuclear cells cultures were activated with Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) and Ionomycin, for 4h, or with magnetic beads covered in anti-CD3 and anti-CD28 antibodies, for 72h. Cytokine production was measured by Luminex and flow cytometry. Cell proliferation was determined by [³H] thymidine incorporation. 5-HT was added to some cell cultures. Our results show that, despite no significant changes in cell proliferation, MDD enhanced not only the production of cytokines related to the Th2 and Th17 phenotypes, but also a direct correlation between IL-5 and IL-17 levels and the severity of depressive and anxious symptoms. Cultures from AA patients, when compared to AR individuals, presented higher levels IL-17 and lower production of IL-10, specially in those with MDD. In AA/MDD individuals, the severity of anxious symptoms and pulmonary disease was directly correlated with Th17 and Th2/Th17 frequencies, but inversely correlated with T CD4⁺IL-10⁺ frequencies. Moreover, 5-HT supplementation in cultures of AA and RA individuals was capable of reducing the production of cytokines related to Th2 and Th17 phenotypes, while increasing IL-10 release. Although preliminarily, our findings suggest that, not only MDD, but also the severity of the disorder may negatively impact the outcome of allergic reactions by enhancing the production of cytokines associated with AA and AR pathogenesis, with such phenomenon being attenuated by serotonin.

Keywords: T CD4⁺ cells. Major Depressive Disorder. Anxiety disorders. Allergy. Serotonin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Subtipos de Células Dendríticas	14
Figura 2 - Fenótipos de Células T CD4 ⁺	16
Figura 3 - Fenótipos de Células T CD4 ⁺ Reguladoras.....	18
Tabela 1 - Distribuição de Receptores de Serotonina em Células do Sistema Imune.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT	Serotonina
AA	Asma Alérgica
AhR	<i>Aryl hidrocarbon Receptor</i>
Aids	Síndrome da Imunodeficiência Humana
AIM2	<i>Absent in Melanoma 2</i>
ALR	<i>AIM2 like Receptor</i>
AMP	Monofosfato de Adenosina
APA	Associação Americana de Psiquiatria
APC	Célula Apresentadora de Antígeno
ATP	Trifosfato de Adenosina
Breg	Célula B Reguladora
CD	Cluster de Diferenciação
CLR	<i>C-type Lectin Like Receptor</i>
COVID-19	Doença do novo coronavírus 2019
CTL	Linfócito T Citotóxico
CTLA	<i>Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein</i>
DAMP	Padrões Moleculares Associados ao Dano
DC	Célula Dendrítica
ECT	Terapia Eletroconvulsiva
GATA	<i>GATA binding protein</i>
GM-CSF	Fator Estimulador de Colônia de Granulócitos e Macrófagos
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HLA	Antígeno Leucocitário Humano
IDO	Indoleamina-2,3-dioxigenase
IFN	Interferon
Ig	Imunoglobulina
ILC	Célula Linfóide Inata
ISRS	Inibidor Seletivo da Recaptação de Serotonina
LAG	<i>Lymphocyte-activation Gene</i>
LT	Leucotrieno
MDSC	Células Supressoras Mielóides

MHC	Complexo de Histocompatibilidade Maior
MUC	Mucina
NK	<i>Natural Killer</i>
NLR	<i>NOD-like Receptor</i>
NOD	<i>Nucleotide-binding Oligomerization Domain</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
P2XR	Receptor Purinérgico do tipo 2
PAF	Fator Ativador de Plaquetas
PAMP	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PBMC	Células Mononucleares do Sangue Periférico
PD	Proteína de morte celular programada
PMA	Forbol 12-miristato 13-acetato
PRR	Receptores de Reconhecimento de Padrões
RA	Rinite Alérgica
RCP	Proteína C Reativa
RIG	<i>Retinoic acid-inducible gene</i>
RLR	<i>RIG-like Receptors</i>
RORC	<i>RAR-related orphan receptor</i>
SI	Sistema Imune
SNC	Sistema Nervoso Central
TA	Transtornos de Ansiedade
TAG	Transtorno de Ansiedade Generalizada
T-bet	<i>T-box expressed in T cells</i>
Tc	T Citotóxico
TCR	Receptor de Células T
TDM	Transtorno Depressivo Maior
T _{fh}	Célula T auxiliadora follicular
TGF	Fator de Transformação de Crescimento
Th	Célula T auxiliadora
Tim	<i>T cell immunoglobulin and mucin-domain containing</i>
TLR	<i>Toll-like Receptor</i>
TNF	Fator de Necrose Tumoral
Treg	Célula T Reguladora

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
+	Positivo
β	Beta
γ	Gama
α	Alfa

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
1. OBJETIVOS	30
1.1. Objetivo Geral.....	30
1.2. Objetivos Específicos	30
2. ARTIGO.....	31
2.1. Major Depressive Disorder Enhances Th2 and Th17 Cytokines in Patients Suffering from Allergic Rhinitis and Asthma (Artigo Publicado)	31
CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS	47
ANEXO - Carta de autorização.....	59

INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o Transtorno Depressivo Maior (TDM) é líder em doenças causadoras de incapacidades em adultos, estimado pela mesma organização em afetar, em 2017, cerca de 322 milhões ou 4,4% da população mundial. No Brasil, foram estimados aproximadamente 11 milhões e meio de indivíduos afetados, correspondendo a 5,8% da população total. Os transtornos depressivos também são considerados os principais contribuintes para os casos de suicídio, presumidos em mais de 800 mil anualmente [1].

Ademais, é observado uma alta comorbidade entre TDM e Transtornos de Ansiedade (TA), com porcentagens de 50% a 75% dos pacientes depressivos apresentando sintomas de ansiedade proeminentes ou TA [2,3]. A OMS estimou, também em 2017, que 3,6% da população mundial apresente TA, correspondendo a mais de 264 milhões de pessoas afetadas, sendo mais de 18 milhões apenas em território brasileiro [1]. Em ambos transtornos observa-se uma predominância de incidência no gênero feminino e em jovens adultos e adultos [4].

Apesar do claro efeito sobre funções psicossociais, os transtornos depressivos e ansiosos não se limitam a afetar somente a mente. Efeitos somáticos sistêmicos são observados nesses indivíduos, incluindo alterações significativas no sistema imune, cuja principal função é a proteção do organismo contra microrganismos invasores. São observados prejuízos a funções essenciais, como fagocitose, linfoproliferação e produção de mediadores e citocinas, tendo como consequência funcional uma pior resposta imune contra infecções e outros eventos, como a vacinação [5–7]. Paradoxalmente, também são encontrados nesses pacientes níveis plasmáticos elevados de alguns mediadores inflamatórios, alguns dos quais têm sido associados com piores desfechos, como o suicídio [8,9].

Devido às alterações imunes, estudos demonstram os efeitos adversos dos transtornos mentais em condições médicas imunomediadas incluindo as doenças autoimunes e alérgicas [10–12]. Afetando cerca de 30% da população mundial, as doenças alérgicas são condições comuns, podendo se apresentar como uma condição relativamente leve, como a rinite alérgica sazonal, a reações inflamatórias com alta gravidade, como asma e anafilaxia [13,14]. Devido a importância das células T CD4⁺ nas reações atópicas, acreditamos que transtornos mentais sejam capazes de afetar seu comportamento favorecendo a expansão de subtipos celulares implicados na gravidade da doença.

a) Células T e seu papel na resposta imune

O Sistema Imune (SI) é classicamente definido pelo seu papel na defesa do hospedeiro, identificando e eliminando potenciais ameaças externas. Para tal, o mesmo é composto por diversas células, moléculas e outras substâncias que atuam de maneira coordenada para restaurar a homeostase do organismo. Uma divisão abrangente dos componentes imunes é a separação em dois compartimentos principais: a imunidade inata, responsável pela resposta imediata e inespecífica a agentes nocivos, e a imunidade adaptativa, que atua em fase mais tardia, porém apresenta especificidade e respostas de maior amplitude. Os linfócitos T são componentes do compartimento adaptativo, podendo ser subdivididos em dois grupos: os linfócitos T CD4⁺ e os linfócitos T CD8⁺ [15,16].

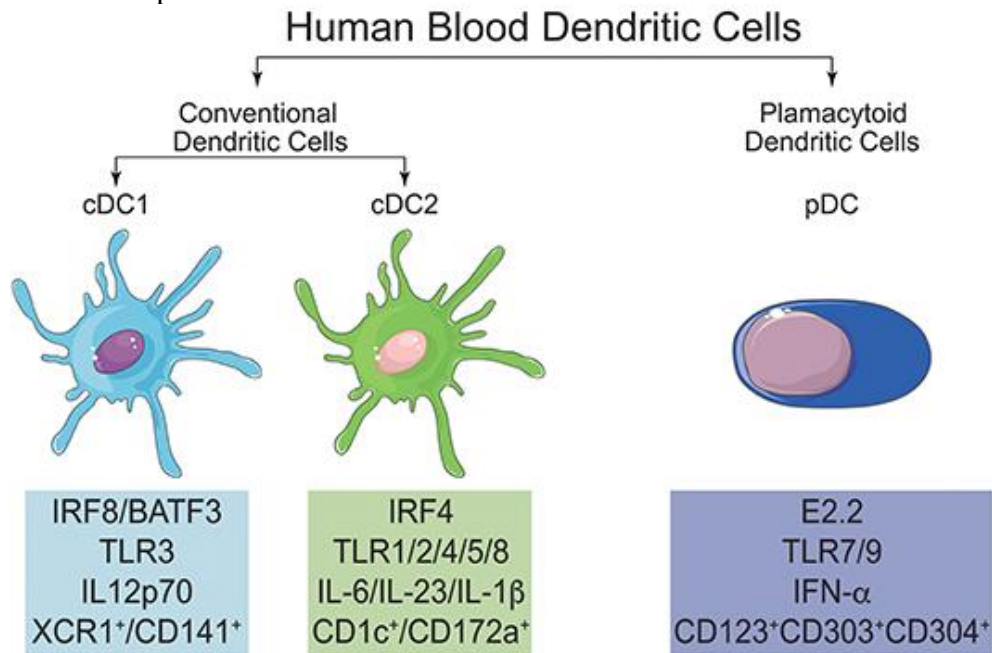
A ativação das células T dirigida contra diferentes peptídeos antigênicos durante uma resposta imune primária depende de células apresentadoras de antígenos (APC) imunogênicas, particularmente das células dendríticas (DCs) profissionais. As DCs também possuem papel essencial na diferenciação desses linfócitos em diferentes fenótipos efetores, que apresentarão funcionalidade diferenciada contra determinados agrupamentos de patógenos [17,18]. A capacidade de apresentação dos antígenos das DCs é dependente de sua maturação, causada principalmente pelo reconhecimento de diferentes padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs, do inglês *pathogen-associated molecular pattern*). Diferentes dos linfócitos T clássicos, células da imunidade inata, tal como as DCs, possuem um número limitado de receptores superficiais e intracelulares de padrão, os PRRs (do inglês *pattern recognition receptors*), capazes de reconhecer moléculas de constituição polissacarídicas, lipídicas, glicolipídicas, assim como material genético dos patógenos [19,20]. Ademais, os PRRs são igualmente capazes de reconhecer moléculas do próprio hospedeiro que são expressas durante situações de estresse metabólico ou dano, recebendo a nomenclatura de padrões moleculares associados ao dano (DAMPs, do inglês *damage-associated molecular pattern*) [21].

Os PRRs podem ser divididos em cinco grandes famílias baseado na homologia de seus domínios proteicos, sendo elas: Os receptores do tipo Toll (TLRs, do inglês *Toll-like receptors*), receptores do tipo NOD (NLRs, do inglês *NOD-like receptors*), receptores de lectina tipo C (CLRs, do inglês *C-type lectin-like receptors*), receptores do tipo RIG (RLRs, do inglês *RIG-like receptors*) e os receptores tipo AIM2 (ALRs do inglês *AIM2-like receptors*). A expressão dos PRRs é observada em diversas células do organismo, não sendo limitada às células da imunidade inata, ocorrendo em células do endotélio vascular e linfócitos [19,20,22]. No

contexto da resposta imune primária contra patógenos, a ativação das diferentes famílias de PRRs nas células inatas resultam na estimulação de diversas vias de sinalização intracelulares com o intuito de acionar diferentes mecanismos de proteção contra o invasor, como o aumento da fagocitose e destruição pela ação de enzimas lisossomais e radicais livres, indução de autofagia, liberação de substâncias tóxicas e pró-inflamatórias pelos fagócitos. Ademais, a secreção de quimiocinas pelas células inatas no local de infecção permitirá o recrutamento de diferentes leucócitos circulantes, tais como neutrófilos e células *natural killer* (NK) [23,24].

No sítio de infecção, enquanto as células da imunidade inata buscam conter o patógeno, as DCs iniciam o processo de migração para o órgão linfóide secundário regional, ou tecido linfóide associado a mucosa mais próximo, de maneira a iniciar a ativação de células T antígeno-específicas. Compondo a menor população das células mononucleares do sangue periférico (PBMC), cerca de 1 a 2 %, as células dendríticas são encontradas em grande número em todos os tecidos, em especial nas mucosas. São caracterizadas por sua alta expressão de moléculas de adesão, de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC do inglês, *Major Histocompatibility Complex*) de classe I e II, moléculas co-estimuladoras CD80 e CD86, sendo consideradas as únicas APCs capazes de promover a ativação e diferenciação de linfócitos T *naïves* [25,26]. As DCs podem ser divididas em 3 subtipos: Convencionais (cDCs), subdivididas em cDC1 e cDC2, e as plasmocitóides (pDCs). As cDC1 apresentam como característica a sua elevada capacidade a apresentação cruzada, participando principalmente da ativação de linfócitos T CD8⁺, enquanto as cDC2 apresentam maior capacidade de ativar os linfócitos T CD4⁺. Já as células dendríticas plasmocitóides apresentam característica de produzirem rapidamente altos níveis de interferons (IFN) do tipo I em resposta a antígenos virais, sendo relevantes nas respostas contra esse tipo de patógeno. Apesar da existência de diferentes DCs (Figura 1), todas apresentam a capacidade de iniciar a resposta imune adaptativa primária ao ativarem as células T clássicas [26,27].

Figura 1 - Subtipos de Células Dendríticas



Legenda: Principais características e diferenças das células cDC1, cDC2 e pDC. No sangue humano é possível encontrar duas populações principais de células dendríticas, as células dendríticas convencionais (cDC), que podem ser subdivididas em cDC1 e cDC2, e as células dendríticas plasmocitóides (pDC). Todos os três subtipos podem ser diferenciados por seus fatores de transcrição e também por sua expressão de marcadores de superfície.

Fonte: Patente et al (2019).

Os linfócitos T, diferentemente das células da imunidade inata, expressam um repertório extremamente amplo de receptores, sendo capazes de reconhecer milhões de diferentes peptídeos. Essa ampla especificidade de receptores, chamados receptores das células T (TCR, do inglês *T-cell receptors*), é gerada durante a formação dos timócitos envolvendo mecanismos refinados de recombinação de diferentes genes dentro do loci TCR coordenado por um conjunto de proteínas, muitas das quais com atividade enzimática. Consequentemente, cada linfócito T gerado no timo e que sobrevive à seleção local, ao ser exportado para a periferia, expressa TCR único, capacitando-os a reconhecer especificamente sequências primárias de aminoácidos (epítomos) em um peptídeo antigênico [28]. A ativação e diferenciação dessas células durante a resposta imune primária depende do reconhecimento de 3 sinais em conjunto a DC madura. O primeiro é caracterizado pela apresentação de peptídeos pelas DCs para células T CD4⁺ ou CD8⁺ antígeno-específicas, através das moléculas de MHC II e I, respectivamente. O segundo sinal, antígeno-independente, é mediado pela interação de B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86) expressas nas DCs com o receptor CD28, expresso nos linfócitos T. Esses dois sinais serão fundamentais para ativar os transativadores NF-κB, NF-AT e AP-1 que serão necessários para a linfoproliferação ao ativar a transcrição de genes para a Interleucina (IL)-2 e para a cadeia

CD25 [29]. O terceiro sinal, responsável por induzir a diferenciação, será fornecido pelas citocinas produzidas pela DC durante a sinapse imunológica com a célula T, permitindo a formação de diferentes fenótipos efetores, em especial no compartimento das células T CD4⁺, como representado na Figura 2 [30].

A diferenciação das células T CD4⁺ em diversos fenótipos depende da ativação de fatores de transcrição capazes de alterar, de forma estável, o transcriptoma desses linfócitos em resposta às citocinas liberadas pelas DCs (Figura 2). Nesse contexto, sob a ação da citocina IL-12 secretada pelas cDCs, o fator transcrricional T-bet é induzido, e as células T se diferenciarão no fenótipo T auxiliar do tipo 1 (Th1, do inglês *T helper 1*) [31–33]. A produção de IL-12 pelas DCs pode ser otimizada pela estimulação dessas APCs pelo IFN- γ produzidos pelas células linfoides inatas do tipo 1 (ILC-1, do inglês *Innate Lymphoid Cells*) presentes no local da inflamação [34]. O fenótipo Th1 secreta grandes quantidades de IFN- γ e IL-2, realizando a resposta imune celular que é fundamental no combate a microrganismos intracelulares obrigatórios ou facultativos por aumentar a função dos fagócitos, das células NK e dos linfócitos T CD8⁺. O IFN- γ em associação a IL-21, ambas citocinas secretadas pelas células T *helper* foliculares (T_{FH}1), também induzem a produção e secreção de IgG1 (Imunoglobulina G do tipo 1) e IgG3 pelos linfócitos B humanos [35,36].

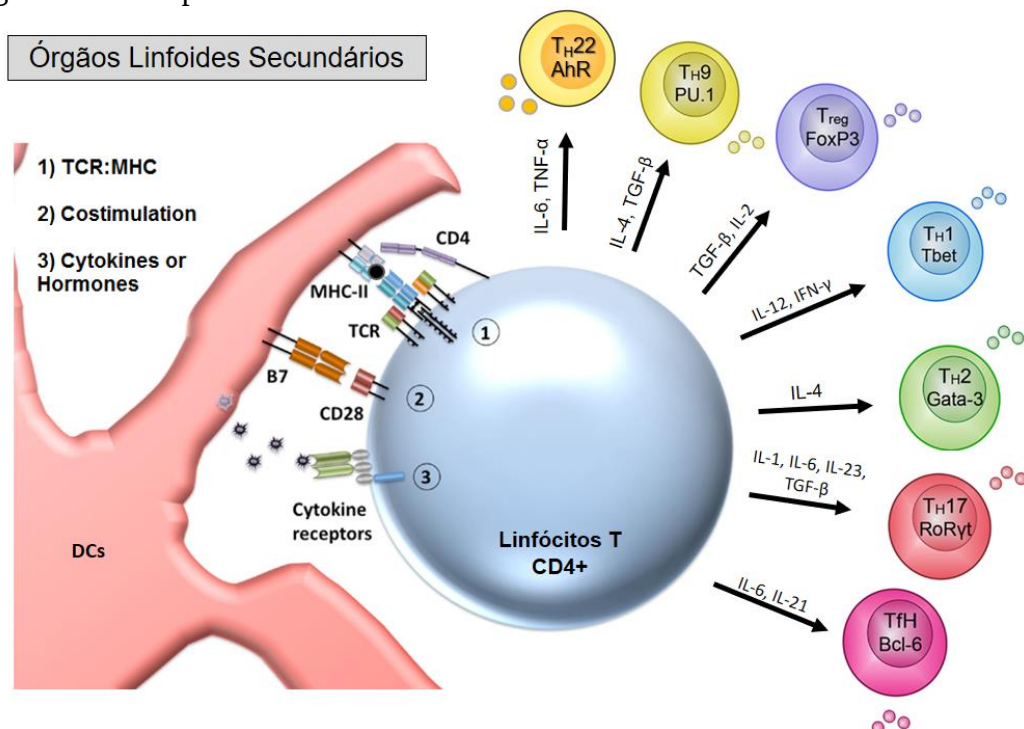
Na presença de níveis elevados de IL-4 produzidos pelas cDCs e pelas ILC-2, os linfócitos T CD4⁺ diferenciam-se em células T auxiliares do tipo 2 (Th2), através da indução do fator de transcrição GATA-3 [33]. Esses linfócitos, principalmente o subtipo T_{FH}2, ao secretarem IL-4, IL-5 e IL-13 [36], induzem a produção e secreção de anticorpos da classe IgE que participam da resposta imune envolvida no combate às infestações por helmintos e nas reações de hipersensibilidade do tipo I por induzir a desgranulação de mastócitos e eosinófilos [33,37].

A ativação do fator de transcrição RORC tem sido implicada na indução do fenótipo Th17, induzido pela ação conjunta do TGF- β (TGF- β , do inglês *Transforming Growth Factor Beta*) mais IL-21 pelas DCs [38,39]. Em humanos, esse fenótipo pode ser induzido pela produção de TGF- β mais IL-6 ou pela combinação de IL-1 β e IL-6 pelas DCs [40,41]. No entanto, a estabilização desse fenótipo celular é dependente da IL-23 liberada pelas DCs [42]. Os linfócitos Th17 quando ativados sintetizam não apenas IL-17, mas também, IL-21 e IL-22. De forma interessante, a IL-23, na presença IL-1 β , amplifica a resposta do tipo Th17 por induzir as ILC-3 a produzir IL-17 e IL-22 [42]. A citocinas relacionadas a esse fenótipo celular têm como principal função induzir as células imunes e parenquimatosas a secretarem IL-8, principal quimiocina envolvida no recrutamento de neutrófilos para o local da infecção [33,43]. Subtipos

de células Th17 foliculares (T_{FH17}), por produzir elevados níveis de IL-21 e IL-17, também auxiliam na ativação de plasmoblastos produtores de IgA e IgG [36,44]. Entretanto, no contexto de doenças autoimunes, novos estudos têm demonstrado o envolvimento de um subtipo de células Th17, conhecidas como células Th17 patogênicas, que parece ser induzida na presença de IL-1 β , IL-6 e IL-23, associada à ausência da citocina TGF- β [45,46].

Recentemente um novo subtipo de células $CD4^+$ foi descoberto, as células T auxiliares 22 (Th22), que tem como fator de transcrição o receptor hidrocarbono aril (AhR, do inglês, *Aryl hydrocarbon Receptor*) [47]. Essas células caracterizam-se por secretar altos níveis de IL-22, mas não de IL-17 ou IFN- γ [48]. Apesar das células Th17 produzirem IL-22, as células Th22 parecem regular aspectos únicos da resposta imune em tecidos epiteliais, tal como estimulação da proliferação dessas células de revestimento [49]. Apesar de serem fundamentais na imunidade a mucosas [50], esse fenótipo tem sido implicado em várias doenças autoimunes, tal como, por exemplo, a psoríase e a esclerose múltipla [47,48,51–53].

Figura 2 - Fenótipos de Células T $CD4^+$



Legenda: Durante o processo natural de ativação da resposta imune específica mediada pelas células T $CD4^+$, as células dendríticas (DCs) apresentam diferentes peptídeos de proteínas antigênicas no contexto das moléculas do MHC de classe II. Durante essa sinapse imunológica, moléculas coestimuladoras expressas na superfície das DCs, particularmente CD80 e CD86, interagem com o marcador CD28 expresso nas células T $CD4^+$, permitindo, assim, a indução de diferentes vias de sinalização que culminam na proliferação e diferenciação desses linfócitos em diferentes fenótipos

que produzem um conjunto polarizado de citocinas. Os diferentes fenótipos são caracterizados por expressarem diferentes fatores de transcrição.

Fonte: GOLUBOVSKAYA & WU (2016), O'DONNELL & MCSORLEY (2014), RUSS et al (2013).
Adaptado por BENTO, CAM e MONTEIRO, C.

Os linfócitos T CD8⁺ são particularmente importantes no combate aos vírus. A ativação dessas células depende da apresentação de peptídeos antigênicos acoplados às moléculas do MHC de classe I expressos na superfície das APCs profissionais, particularmente das cDC1s. Classicamente, quando ativadas, essas células se tornam linfócitos T citotóxicos (CTL), passando a produzir granzimas e perforinas que juntas atuam na eliminação das células infectadas, por apoptose [54]. Assim como os linfócitos T CD4⁺, essas células são capazes de se diferenciar em fenótipos efetores distintos, secretando diferentes padrões de citocinas.

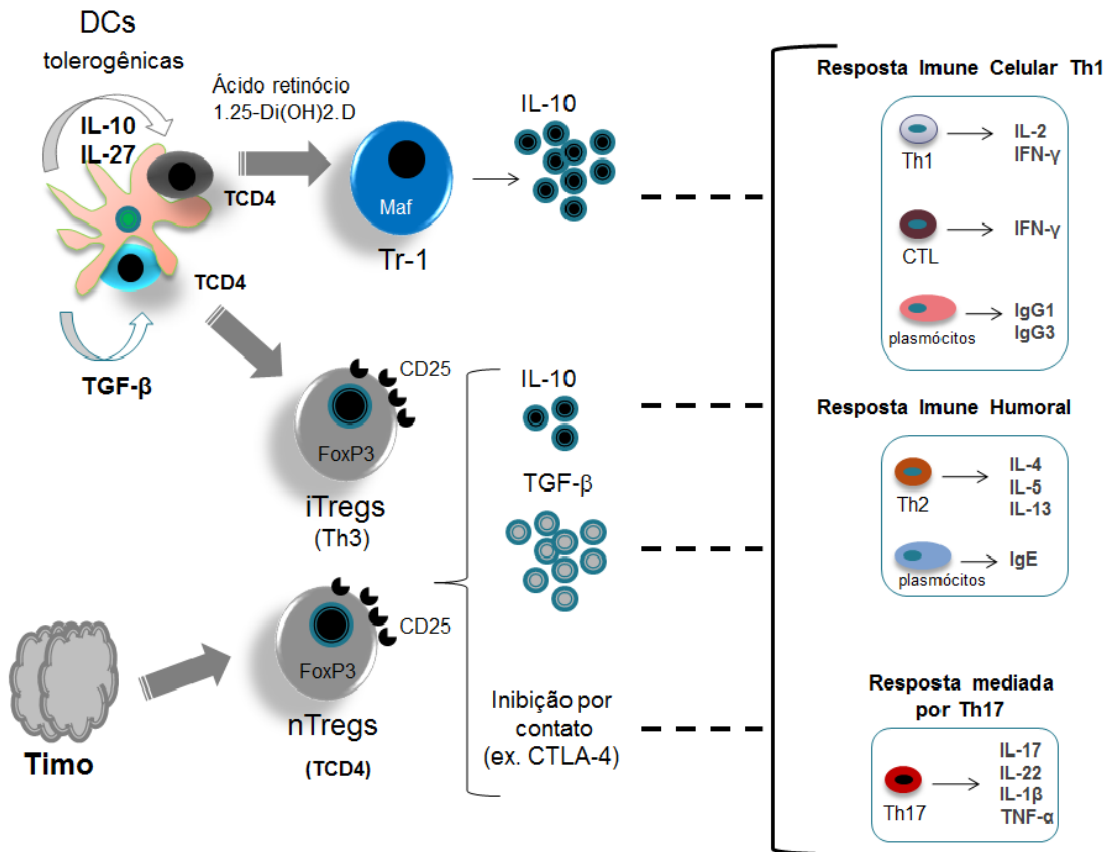
Por produzir altas concentrações de IFN- γ , as células T CD8⁺ são capazes também de amplificar a resposta Th1, sendo, por isso, também chamadas de Tc-1 [55,56]. Os linfócitos Tc-2, caracterizados pela expressão de GATA3 e consequente produção de IL-4 e IL-5, apresentam forte citotoxicidade coexistindo com uma resposta do tipo 2 [55,56]. Algumas células T CD8⁺ parecem executar função mais reguladora, tal como o subtipo induzido por células dendríticas CX3CR1⁺ [55,57]. Essas células T são capazes de produzir IL-9 e inibir a ativação de células T CD4⁺ antígeno-específicas de maneira dependente de IL-10, conseguindo assim prevenir a inflamação intestinal mediada por células T CD4⁺ [57].

Finalmente, existem as células TCD8⁺ que produzem IL-17, as Tc-17. Essas células também são capazes de produzir as citocinas inflamatórias IL-21 e fator- α de necrose tumoral (TNF- α , do inglês *Tumor Necrosis Fator- α*) [55]. A IL-22 também pode ser produzida independente da produção de IL-17 pelas células T CD8⁺, as células Tc-22. Essas células têm sido encontradas na epiderme de pacientes com psoríase [58,59].

As respostas imunes necessitam ser reguladas, pois, caso contrário, podem favorecer o desenvolvimento de doenças imunomediadas [60]. Nesse contexto, os linfócitos T reguladores (Treg) são as células mais importantes na manutenção da homeostase por controlar as respostas inflamatórias [61]. Qualquer deficiência na função ou no número dessas células pode elevar o risco de desordens imunológicas, tais como doenças autoimunes e alérgicas. Os linfócitos Tregs são formados por diversas subpopulações (Figura 3), porém todos apresentam uma hiporresponsividade a estímulos antigênicos e funções imunossupressoras [62]. Três subtipos

desses linfócitos têm destaque: os linfócitos T CD4⁺ reguladores do tipo 1 (Tr-1) e os linfócitos T CD4⁺ reguladores naturais (nTreg) e induzidos (iTregs) [61,62].

Figura 3 - Fenótipos de Células T CD4⁺ Reguladoras



Legenda: Durante as respostas imunes inflamatórias, a produção excessiva de citocinas pelas células Th1 e Th17 patogênicas tem sido atrelada à distúrbios na rede de regulação, principalmente executada pelos linfócitos T reguladores (Tregs). As células Tregs representa uma subpopulação de células T CD4⁺ relativamente heterogênea, sendo as células T CD4⁺ FoxP3⁺ CD25⁺ o subtipo mais estudado nas doenças autoimunes. Essas células podem ser tanto induzidas (iTregs) na periferia quando reconhecem os peptídeos específicos apresentados pelas células dendríticas (DCs) tolerogênicas, quanto geradas naturalmente no timo (nTregs). A terceira subpopulação é induzida por DCs tolerogênicas na presença do metabólito da vitamina D [1,25(OH)2D] ou do ácido retinóico. Essas células, conhecidas como células Tr-1, são negativas para o FoxP3 mas expressam elevados níveis do fator de transcrição Maf. Os mecanismos de ação executados pelas células para controlar reações inflamatórias são diversos e envolvem a inibição por contato com a célula alvo efetora (iTreg e nTregs) e/ou a liberação de citocinas anti-inflamatórias, particularmente IL-10 e TGF-β.

Fonte: BENTO, CAM.

As nTreg originam-se no timo e expressam o fator transcricional FoxP3 no núcleo, responsável por regular a expressão de vários genes que codificam proteínas envolvidas na supressão da inflamação [63,64]. Na superfície, essas células expressam grandes quantidades da cadeia α do receptor para IL-2 (CD25) e ausência do marcador CD127, o receptor para IL-7 [64]. Essas células, induzidas pelas DCs tolerogênicas (tDCs), são capazes de suprimir a

proliferação e a função dos linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ efetores por diversas maneiras, como a produção e secreção das citocinas anti-inflamatórias, IL-10, IL-35 e TGF- β [61,63].

Além dos linfócitos nTreg, muitos artigos demonstraram que células do tipo nTreg-símbles, também conhecidas como iTreg, podem provir de linfócitos T CD4⁺ CD25⁻ virgens ativados pelas tDCs produtoras de TGF- β [65–67]. Essas iTreg apresentam o mesmo fenótipo das nTregs e, quando ativadas, inibem as respostas inflamatórias tanto por contato, através do CTLA-4 (do inglês, *Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein*) (CD152) e LAG-3, como também pela liberação de grandes quantidades de TGF- β e IL-10 [67]. Enquanto as citocinas IL-10, IL-35 e TGF- β inibem as células T efetoras e várias vias de sinalização importantes na atividade dos fagócitos e das células degranuladoras da imunidade inata [68–70], a expressão do LAG-3 e CD152 desativam as APCs por se ligarem as moléculas do MHC de classe II e CD80/CD86, respectivamente [15,61]. Mais recentemente, a expressão de CD39 tem sido relacionado à capacidade funcional das células Tregs. A expressão do CD39 nas células Treg parece ser induzida através da sinalização via AhR [71,72]. Funcionalmente, o CD39, com o auxílio da ectoenzima CD73, metaboliza a adenosina trifosfato (ATP) extracelular em adenosina monofosfato (AMP) [71]. O AMP é capaz de inibir as células T efetoras que expressam o receptor do tipo 2 purinérgico (P2XR) [71].

Os linfócitos Tr-1 representam outra subpopulação que está envolvida na regulação da resposta imune. Essas células diferenciam-se pela secreção de IL-10 pelas tDCs que expressam a enzima indoleamina-2,3-dioxigenase (IDO), responsável pela degradação de triptofano, aminoácido essencial na indução da resposta imune celular mediada pelas células Th1 [73,74]. Fenotipicamente, as células Tr-1 em humanos são identificadas pela coexpressão de CD49b e LAG-3 e pela produção de elevados níveis de IL-10, principalmente quando ativadas via TCR [75]. A maioria desses linfócitos T são CD4⁺, mas já foram descritos linfócitos T CD8⁺ Tr-1-símbles por produzir IL-10 [55,74,75]. Em humanos, a disfunção dessas células tem sido associada ao desenvolvimento de doenças autoimunes, como por exemplo, a esclerose múltipla e a diabetes do tipo 1 [76,77]. Finalmente, alguns subtipos de células B (Breg), ILCs e células supressoras mielóides (MDSC) exercem funções essencialmente anti-inflamatórias [78,79].

Falhas na regulação do sistema imune são implicadas no desenvolvimento de condições de fundo imunomediado, incluindo quebras no processo de autotolerância, gerando doenças

autoimunes, assim como respostas exacerbadas a antígenos, como observado nas reações alérgicas a antígenos inócuos [80,81].

b) Doenças alérgicas

As doenças alérgicas são condições patológicas causadas pela resposta imune exacerbada a antígenos inócuos, chamados de alérgenos. São patologias comuns e amplamente distribuídas geograficamente, afetando cerca de 30% da população mundial, de diferentes grupos etários. O conjunto de doenças alérgicas é bastante heterogêneo, com condições de menor gravidade, como a rinite, a patologias de alta morbidade e mortalidade, como a anafilaxia [82].

A rinite alérgica, ou rinoconjutivite, é caracterizada por afetar o trato respiratório superior, em especial a cavidade nasal, mas podendo também afetar a nasofaringe e a conjuntiva. Os principais sintomas são: espirros, prurido, obstrução nasal e rinorréia intensa e hialina, podendo durar dois dias ou mais, com reversão do quadro clínico espontaneamente ou após tratamento [83]. A rinite alérgica é uma doença comum, afetando indivíduos independentemente do país de origem, etnia ou idade. Estima-se que a rinite alérgica afete de 10 a 30% da população mundial. Em relação a prevalência da doença em crianças de 6 a 7 anos e de 13 a 14 anos, o Brasil apresenta a segunda maior média mundial (47,2%), ultrapassada apenas pelo Chile (48%) [14,84]. Os alérgenos mais comuns associados à rinite alérgica são proteínas encontradas nos alimentos, nas fezes de ácaros e insetos, além de pelos de animais e fungos. Comorbidades que apresentam forte correlação com a rinite alérgica são conjutivite e asma [85].

A asma é uma grave doença crônica inflamatória que afeta, principalmente, as vias respiratórias inferiores. As manifestações clínicas da asma são caracterizadas pela hiperresponsividade brônquica, em função da resposta anormal do sistema imune inato e adaptativo, gerando superprodução de muco e remodelamento das vias aéreas. Os sintomas mais comuns incluem: dificuldade para respirar, sibilo, tosse e desconforto torácico, podendo evoluir a asfixia e óbito [86]. Tradicionalmente, a asma é dividida em 2 tipos: asma alérgica (AA), cujas reações imunes são mediadas de maneira IgE dependentes, e a asma não alérgica, ou intrínseca, que possui imunopatogênese heterogênea. Recentemente, em função da heterogeneidade observada, foram propostas novas classificações para a asma, determinadas a partir do tipo celular imune predominante na patogenia de cada caso. Apesar disso, a asma alérgica, ou eosinofílica, ainda é o subtipo mais predominante, estimando-se que 50% dos

adultos asmáticos apresentem tal classificação de doença [86,87]. Com relação a sua epidemiologia, é estimada que a asma afete mais de 300 milhões de pessoas no mundo, com consequência de uma morbidade significativa e altos custos anuais com o manejo da condição, estimados em exceder 18 bilhões de dólares anualmente nos Estados Unidos [88].

As doenças alérgicas são tradicionalmente associadas às reações de hipersensibilidade do tipo I, mediadas por IgE, com participação do fenótipo Th2 [89]. Os alérgenos desencadeadores das reações alérgicas são substâncias proteicas ou associadas a proteínas, de diferentes origens, mas possuidoras de características bioquímicas comuns, como baixo a médio peso molecular, estabilidade, elevada solubilidade em fluídos corporais por serem moléculas glicosiladas. Apesar da razão exata do porquê apenas alguns indivíduos desenvolvem respostas exacerbadas a esses antígenos inócuos ainda não ser totalmente esclarecida, estudos apontam uma associação genética representada principalmente pela herança de determinados alelos do MHC (ou HLA - Antígeno Leucocitário Humano). Foi relatado que o histórico de doenças alérgicas nos progenitores pode aumentar em mais de três vezes o risco de a prole também desenvolver a condição. Apesar de diversos outros genes serem relacionados a diferentes doenças alérgicas, o desenvolvimento dessas patologias provavelmente depende de eventos adversos que comprometam os mecanismos de tolerância imunológica [90,91].

A resposta alérgica pode ser dividida em 3 fases: A fase de sensibilização, que é assintomática, e as fases clinicamente aparentes de início imediato ou tardio. Na fase de sensibilização das reações alérgicas mediadas pela IgE, o indivíduo geneticamente suscetível, chamado atópico, ao entrar em contato inicial com o alérgeno irá apresentar, através das DCs, peptídeos acoplados ao MHC de classe II para células T CD4⁺ alérgeno-específicas que irão se diferenciar no fenótipo Th2. Através da rápida dispersão, as moléculas alergênicas chegam rapidamente às zonas ricas de células B localizadas nos folículos linfóides mais próximos aonde serão reconhecidos pelos receptores de antígenos, chamados BCRs, dos linfócitos B alérgeno-específicos. Com a ajuda das células Th2, particularmente o subtipo Tfh2, que produz não apenas IL-21, mas também IL-4 e IL-13 [92], as células B irão se transformar em plasmócitos de longa-vida secretores de IgE [93]. A IgE, por sua vez, se ligará a receptores de alta afinidade, os FcεRI, expressos na superfície dos mastócitos, basófilos e eosinófilos, sensibilizando-os [94].

Em um subsequente contato com o mesmo alérgeno, o reconhecimento dessas partículas pela IgE acoplada aos mastócitos irá induzir imediata degranulação celular com liberação de grandes quantidades de histamina, uma amina vasoativa capaz de induzir vasodilatação e aumento de permeabilidade dos pequenos vasos locais. Ademais, a sinalização intracelular

decorrente da formação do complexo superficial IgE/alérgeno irá induzir a síntese de potentes mediadores inflamatórios, tais como os leucotrienos (LT), prostaglandinas e citocinas pró-inflamatórias. Os sintomas observados na reação inicial são decorrentes das ações da histamina e podem ser totalmente bloqueados ou revertidos pelo uso de anti-histamínicos [95]. Na dependência da região anatômica que essa amina vasoativa é liberada, a histamina promove imediata formação de edema, urticária, prurido, broncoconstrição, aumento do peristaltismo, diarreia e vômitos [94]. Uma liberação sistêmica da histamina nas reações de anafilaxia provoca alterações vasculares potencialmente fatais devido ao choque hipovolêmico, caracterizado por intenso edema intersticial e/ou vômitos e diarreias, e cardiogênico, causando arritmias.

A fase tardia da reação alérgica tem início entre duas a quatro horas após o contato com o alérgeno e é caracterizada pela infiltração de eosinófilos e células Th2 induzida pelas quimiocinas eotaxina (CCL11) e RANTES (CCL5) produzidas pelos mastócitos locais cronicamente ativados. Enquanto as células Th2 podem ser reestimuladas a proliferar e liberar IL-4, IL-5 e IL-13, os eosinófilos são ativados pelo complexo IgE/Alérgeno [94]. A ativação dos eosinófilos leva à liberação de substâncias tóxicas, como enzimas eosinofílicas tóxicas, e de mediadores lipídicos, os leucotrienos (LTC₄, LTD₄ e LTE₄) e fator estimulador de plaquetas (PAF). Além de ampliar a produção desses mediadores lipídicos, a IL-5 e a IL-13 podem aumentar a produção de muco pelas células epiteliais e síntese de colágeno pelos fibroblastos [96,97]. A resposta imune crônica derivada da reação tardia é fundamental na patogênese das doenças alérgicas, sendo responsável, por exemplo, pela remodelação das vias aéreas observada na asma [98].

Um segundo fenótipo de células T CD4⁺ tem sido recentemente implicado nas reações alérgicas envolvendo IgE: O fenótipo Th9 [99]. A diferenciação desse fenótipo é mediada pelas citocinas IL-4 e TGF- β [100], tendo como fator de transcrição principal a molécula PU.1, que mantém a produção de IL-9 estável [101,102]. Em pacientes asmáticos foram encontrados altos números de células Th9 na mucosa brônquica [103,104], tendo a IL-9 a capacidade de prolongar a sobrevivência de mastócitos, e em conjunto com a IL-4, aumentar a produção de IgE. A presença de células Th9 amplifica a produção de eotaxinas, facilitando a infiltração eosinofílica no tecido, assim como a amplificação das ações da IL-5 e IL-13, em, respectivamente, aumentar a sobrevivência de eosinófilos e a produção de muco [99].

Apesar do clássico reconhecimento do envolvimento do fenótipo Th2 na patogenia das reações de hipersensibilidade do tipo I, o uso de antagonistas de IL-4 tem falhado em muitos estudos clínicos [105,106]. Além do mais, apesar da terapia usando anticorpos monoclonais anti-IL-5 (Mepolizumab e Reslizumab) ter reduzido o número de eosinófilos no sangue e

produção de muco nas vias aéreas de pacientes asmáticos [107], esses monoclonais não induziram melhora clínica significativa nas fases tardias da resposta alérgica. Na verdade, terapia com anticorpos anti-IL-5 demonstrou ser essencialmente eficiente apenas em um subgrupo de pacientes asmáticos cujos eosinófilos têm um papel patogênico central [107,108].

Consequentemente, o envolvimento clássico das células T CD4⁺ de fenótipo Th2 não consegue mais explicar a heterogeneidade clínica das reações alérgicas. Com o conhecimento atual acerca da complexa biologia das células T CD4⁺, outros fenótipos celulares têm sido implicados nas reações alérgicas, particularmente na asma. Alguns estudos mostram intensa infiltração de neutrófilos, e não de eosinófilos, nas vias aéreas de alguns pacientes, especialmente aqueles que respondem pobremente aos esteroides, sugerindo envolvimento das células Th17 nas alergias imediatas [109,110]. Em acordo com essa hipótese, a expressão da proteína IL-17 no lavado bronco-alveolar correlacionou-se positivamente com os níveis de neutrófilos e com a severidade da asma em pacientes atópicos [110–112]. Acredita-se que a presença de células Th17 imprima um fenótipo mais agressivo à asma e com menor responsividade aos corticoides [106,113,114]. De fato, em modelo experimental de asma alérgica, a IL-17 induz potente hiperreatividade brônquica e potencializa a insensibilidade das células epiteliais brônquicas aos esteroides [115–117]. Em culturas de células brônquicas humanas, as células Th17 estimularam a produção de mucinas (MUC) do tipo MUC5AC e MUC5 [118]. A IL-17 também eleva a secreção de IL-1 β , IL-6 e do fator estimulador de colônia para granulócitos e monócitos (GM-CSF) pelas células epiteliais das vias aéreas, pelas células endoteliais e também pelos fibroblastos levando a um disparo no recrutamento de neutrófilos [111]. Adicionalmente, outros autores sugerem a participação de células de fenótipo duplo Th2/Th17 na gênese da asma grave [119,120].

Em pacientes com rinite alérgica, estudos recentes também implicaram a participação de células Th17 [121,122]. Nesses pacientes os níveis séricos de IL-17 foram correlacionados positivamente com a gravidade de sintomas [123,124]. Em modelo murino da doença, o tratamento com anticorpos anti-IL17 foi capaz de atenuar os sintomas de rinite alérgica, diminuir a infiltração eosinofílica e neutrofílica, assim como suprimir as respostas mediadas por Th2 e Th17, enquanto estimulam a resposta por células Treg [125].

As reações crônicas de hipersensibilidade do tipo I podem afetar de maneira significativa a qualidade de vida do paciente, o que pode favorecer o desenvolvimento de transtornos mentais, tal como a depressão. Estudo nacional coreano de 2018 por Tzeng e colaboradores correlacionou o histórico de doenças alérgicas, incluindo dermatite atópica, rinoconjutivite e asma, ao aumento de 1,66 vezes na probabilidade do desenvolvimento de

transtornos mentais [13]. A ocorrência desses transtornos de comportamento deve impactar no prognóstico das reações alérgicas a longo prazo.

c) Transtornos Mentais

O Transtorno Depressivo Maior (TDM) é a condição clássica do grupo dos transtornos depressivos, sendo caracterizado por episódios distintos de pelo menos duas semanas de duração, envolvendo alterações nítidas no afeto, cognição, funções neurovegetativas e remissões interepisódicas. O diagnóstico pode ser baseado em um único episódio, mas a recorrência dos episódios é comum. Para o diagnóstico de um quadro de depressão maior, é necessária a observação de 5 ou mais sintomas, em um período mínimo de duas semanas, sendo eles [4]:

- a) Humor deprimido na maior parte do dia, quase todos os dias, conforme relatado pelo paciente ou por observação de terceiros;
- b) Acentuada diminuição do interesse ou prazer em todas ou quase todas as atividades;
- c) Perda ou ganho significativo de peso, sem estar fazendo dieta, ou redução ou aumento do apetite;
- d) Insônia ou hipersonia;
- e) Agitação ou retardo psicomotor;
- f) Fadiga ou perda de energia;
- g) Sentimentos de inutilidade ou culpa excessiva ou inapropriada;
- h) Capacidade reduzida de pensar ou se concentrar, ou indecisão;
- i) Pensamentos recorrentes de morte, ideiação suicida recorrente sem um plano específico, uma tentativa de suicídio ou um plano para cometer suicídio.

Em relação à prevalência dos casos de TDM, a Associação Americana de Psiquiatria (APA) estima nos Estados Unidos da América uma prevalência de 7%, com acentuada diferença entre faixas etárias: 3 vezes maior entre indivíduos de 18 a 29 anos, quando comparados a pessoas acima de 60 anos. Observa-se também uma maior prevalência no gênero feminino, de 1,5 a 3 vezes mais casos [4]. A OMS estima que, em 2015, a prevalência mundial tenha sido de 4,4% e corrobora a maior frequência em pessoas do gênero feminino. A organização também estima um aumento de 18,4% no número de casos globais no período de 2005 a 2015 [1]. A partir do ano de 2020, com o início da pandemia da Doença do novo Coronavírus 2019(

COVID-19) , os casos de TDM e transtornos de ansiedade aumentaram significativamente, sendo estimado um aumento global de cerca de 26,3% em transtornos depressivos e 25,6% em transtornos de fundo ansioso [126].

O tratamento do TDM pode ser dividido amplamente em 3 categorias: antidepressivos, terapia eletroconvulsiva (ECT) e intervenções psicossociais. O tratamento farmacológico com uso de antidepressivos tem como primeira linha o uso dos inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS), com outras possíveis opções incluindo os antidepressivos tricíclicos, tetracíclicos e atípicos [127].

Sobre as possíveis comorbidades, frequentemente são observados transtornos relacionados ao abuso de uso de substâncias, transtorno do pânico, transtorno obsessivo-compulsivo, anorexia nervosa, bulimia nervosa e transtorno de personalidade *bordeline* [4]. A ocorrência de transtornos de ansiedade (TA) também é bem comum nos pacientes com TDM, estimando-se que mais de 70% dos pacientes possam apresentar sintomas de ansiedade e/ou TA [2,3].

Os transtornos de ansiedade (TA) são um grande grupo de aflições dentro dos transtornos mentais, sendo umas das condições de maior incidência mundial. Exemplos de condições associadas a essa classificação incluem fobias específicas, transtorno de ansiedade social, transtorno de pânico, agorafobia e transtorno de ansiedade generalizada. As doenças relacionadas a esse grupo de pacientes têm como característica comum os sentimentos de medo e ansiedade excessivos, levando a perturbações sensíveis no comportamento do indivíduo. Caracteriza-se o medo como a resposta emocional à ameaça iminente real ou percebida, sendo associada com aumento da excitabilidade autonômica, de maneira a permitir a resposta necessária para luta ou fuga. Em contrapartida, a ansiedade é caracterizada pela tensão muscular e vigilância, em preparo para perigo futuro, com comportamentos de cautela ou esquivas [4].

Em relação à prevalência, a APA, estima nos Estados Unidos da América uma porcentagem de 0,9% de Transtorno de Ansiedade Generalizado (TAG) entre adolescentes e 2,9% em adultos. Em outros países, a mesma estima prevalência de 0,4% a 3,6% para o mesmo transtorno. É destacada também a maior probabilidade no gênero feminino, cerca de duas vezes mais, ao desenvolvimento de transtornos ansiosos em geral [4]. Em números globais, a OMS calcula que 3,6% da população mundial seja afetada por ansiedade, com números totais de 264 milhões de pessoas, sendo também observada maior prevalência no gênero feminino [1].

O tratamento dos TAs pode ser dividido em intervenções farmacológicas ou não farmacológicas. As não farmacológicas incluem intervenção psicossocial e psicoterapia. O tratamento farmacológico envolve principalmente o uso de ansiolíticos, como os

benzodiazepínicos e antidepressivos de diferentes classes, como os inibidores seletivos da recaptação de serotonina [128].

Como descrito anteriormente, a coexistência de mais de um transtorno de comportamento é comum, especialmente no caso do TDM, aonde mais de 70% dos pacientes são também acometidos por TAs. A alta incidência de comorbidade é interessante e deve ser explicada, ao menos em parte, pelo compartilhamento de processos patológicos, apesar da desconhecida etiologia de ambos transtornos mentais. Entretanto, estudos apontam como possível causa para o desenvolvimento de transtornos mentais a desregulação na produção e função de monoaminas, substâncias que agem como neurotransmissores no sistema nervoso central [129].

Umas das teorias mais aceitas para a elucidação da etiologia do TDM é a hipótese das monoaminas, postulando que a depressão é causada pela diminuição das funções das monoaminas no cérebro, incluindo substâncias como a noradrenalina e serotonina. A hipótese foi formulada a partir da observação clínica dos efeitos de antidepressivos rudimentares, mas que possuíam uma característica em comum: alterar a transmissão de monoaminas, seja por retardar a sua recaptação ou por inibir sua degradação [129].

A 5-hidroxitriptamina (5-HT), conhecida como serotonina, é um importante neurotransmissor, possuindo importantes implicações na fisiologia de diversos sistemas do corpo humano. Sua função fisiológica decorre de sua ligação a seus receptores, sendo conhecidos, em mamíferos, 7 classes de receptores, além de 15 subtipos, descritos na Tabela 1 [130]. No Sistema Nervoso Central (SNC), a serotonina é conhecida por modular virtualmente todos os processos comportamentais humanos, sendo implicada na regulação de processos como, por exemplo, humor, percepção, memória, apetite, agressão, medo, sexualidade, resposta a estresse. Nos sistemas periféricos, a 5-HT também possui importantes funções, modulando respostas de sistemas como o sistema cardiovascular, respiratório, gastrointestinal, urinário, sexual e imune [130,131]. De maneira relativamente contraditória à sua importância na modulação comportamental no SNC, a maior quantidade de serotonina produzida, cerca de 98%, é encontrada em outros sistemas, agindo como um hormônio periférico. Apesar de sua baixa produção no SNC, a 5-HT desempenha, como descrito, papel essencial na modulação de respostas comportamentais essenciais. Nos transtornos mentais, em especial a depressão, a desregulação na produção de 5-HT e alterações na expressão de seus transportadores e

receptores, em especial o receptor 5-HT_{1A}, têm sido considerados como uma possível causa etiológica das doenças [132].

Tabela 1 - Distribuição de Receptores de Serotonina em Células do Sistema Imune

Cell type	5-hydroxytryptamine receptors	SERT	Tryptophan hydroxylase 1	MAO
Monocytes and macrophages	1A, 1E, 2A, 3A, 4, 7	+	+	+
Microglia	2B, 5A, 7			
Dendritic cells	1B, 1E, 2A, 2B, 4, 7	+		+
Neutrophils	(1A, 1B, 2)			
Basophils				
Mast cells	1A	+	+	
Eosinophils	1A, 1B, 1E, 2A, 2B, 6			
B cells	1A, 2A, 3, 7	+		
T cells	1A, 1B, 2A, 2C, 3A, 7	+	+	+
NK cells				
Platelets	2A, 3	+		+
Endothelial cells	1B/D β , 2A, 2B, 4	+	+	
Vascular smooth muscle cells	1D, 2A, 2B, 7			

Fonte: HERR; BODE; DUERSCHMIED (2017).

A hipótese de que o sistema imune tem participação no desenvolvimento da depressão foi cunhada na década de 80 a partir de um estudo clássico demonstrando, pela primeira vez, uma relação causal entre o uso do IFN- α , para tratar pacientes com hepatite viral crônica, e o desenvolvimento de sintomas relacionados à ansiedade e depressão com idealização suicida [133]. De maneira interessante, com a interrupção do tratamento, os sintomas observados nos pacientes extinguiram-se por completo [133]. Esse achado abriu novas frentes de pesquisa sobre o papel das citocinas inflamatórias como causadoras de um desequilíbrio na circuitária das regiões límbicas do SNC. Desde então, vários estudos têm demonstrado uma relação entre elevados níveis plasmáticos de citocinas, como IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-8, IL-17, TNF- α e IFN- γ com o desenvolvimento e gravidade de doenças mentais [8,134,135]. A origem dessas citocinas pode ser devido a ocorrências de reações de hipersensibilidades, tais como observada nas doenças autoimunes [10,136,137]. Por outro lado, pacientes com TDM são mais suscetíveis ao desenvolvimento de doenças imunomediadas, tais como doenças cardiovasculares, diabetes do tipo 2, fadiga crônica, síndrome metabólica e autoimunidades [9,138,139]. A relação entre o

TDM com essas patologias deve envolver a produção de citocinas inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α [134,135,140].

Apesar do estado inflamatório basal mais elevado, o TDM pode afetar a resposta a doenças infecciosas [141]. No caso da infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida humana (HIV), estudos têm demonstrado que sintomas depressivos aumentam a velocidade com que o paciente progride para a Síndrome da Imunodeficiência Humana (Aids) [142,143]. Os mecanismos por trás dessa relação adversa não foram ainda esclarecidos, mas devem estar associados aos elevados níveis de cortisol, que sabidamente inibe a resposta imune preferencialmente de mediação celular [144], e expansão de células T exauridas e disfuncionais devido à expressão de Tim-3, PD-1 e CD57 [145,146]. Enquanto a ligação de Tim-3 e PD-1 aos seus respectivos ligantes, galectina-9 e PD-L1, mantém os linfócitos T em estado de anergia, a expressão do CD57 tem sido associada a perda da expressão do CD28 e da capacidade linfoproliferativa dessas células [147–149]. Ademais, pacientes infectados pelo HIV e com TDM têm menor probabilidade de aderência ao esquema de tratamento [142]. Foram relatadas também correlações entre o transtorno, imunossenescência e infecção por citomegalovírus [150]. Recentemente, estudo por Lee e Giulliani (2019) também revelou maior incidência de depressão em pacientes que sobreviveram a quadros de sepse, que é caracterizada pela elevada produção de mediadores pro-inflamatórios [137]. Em resumo, esses achados sugerem não apenas uma relação entre aumento de citocinas inflamatórias com a etiologia da TDM, como também sugerem que esses eventos podem levar à imunossenescência.

As alterações observadas no sistema imune em pacientes com TAs são muito semelhantes às ocorridas em pacientes depressivos, muito provavelmente em função da alta comorbidade dos dois transtornos. Assim como em pacientes com depressão, são observados o aumento de marcadores pro-inflamatórios plasmáticos como proteína C reativa (RCP), IL-1 e IL-6 [151], assim como o aumento de outras citocinas, incluindo TNF- α , IL-4 e IFN- γ , acompanhadas da menor produção de mediadores anti-inflamatórios, como IL-10 [152]. De forma interessante, estudo conduzido por Vieira e colaboradores (2010) demonstrou uma maior produção de citocinas relacionadas ao fenótipo Th17, IL-17, IL-6 e TNF- α , em culturas de células mononucleares do sangue periférico contendo células T policlonalmente ativadas obtidas de pacientes com TAG quando comparado aos indivíduos saudáveis [153], sendo esse evento amplificado pela adição de substância P [154] ou dopamina [155]. Ademais, ainda nessa série de estudos, comprometimento na produção de IL-10 e de IFN- γ , assim como na capacidade de corticoides em controlar a produção de citocinas relacionadas ao fenótipo Th17, foram observados nas culturas de células dos pacientes com TAG quando comparado ao grupo

controle [154,155]. Queda na produção de citocinas relacionadas ao fenótipo Th1, tal como IFN- γ , deve ajudar a explicar porque pacientes com TAs têm uma resposta comprometida a infecções e a imunizações [5,6,156]. Por outro lado, aumento na produção de citocinas relacionadas ao fenótipo Th17, associado a menor produção de IL-10, pode ajudar a entender porque doenças de comportamento são descritas como fatores de risco para recaídas clínicas em pacientes acometidos por doenças autoimunes [10]. Apesar de transtornos mentais também terem sido associados à gravidade de condições alérgicas [7,13], nenhum estudo até o presente momento avaliou como a ocorrência de TDM compromete o comportamento das células T CD4 de pacientes com rinite e asma alérgicas.

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo Geral

Avaliar o impacto do TDM e o papel da serotonina em modular o perfil de citocinas produzidas pelas células Th1, Th2, Th17 e Treg de pacientes com asma e rinite alérgica.

1.2. Objetivos Específicos

- a) Avaliar a proliferação e produção de citocinas das células T em culturas de PBMC de pacientes alérgicos com ou sem TDM;
- b) Correlacionar a produção de citocinas com a gravidade dos sintomas depressivos e ansiosos;
- c) Analisar, por citometria de fluxo, a distribuição dos diferentes fenótipos efetores de células T em pacientes com asma alérgica;
- d) Correlacionar a distribuição dos fenótipos com a gravidade dos sintomas depressivos e ansiosos;
- e) Avaliar, por citometria de fluxo, a distribuição de células T regulatórias, e correlacionar suas porcentagens com a gravidade dos sintomas depressivos e ansiosos;
- f) Analisar a capacidade da serotonina em modular a produção de diferentes citocinas em culturas de pacientes alérgicos com ou sem TDM.

2. ARTIGO

2.1. Major Depressive Disorder Enhances Th2 and Th17 Cytokines in Patients Suffering from Allergic Rhinitis and Asthma (Artigo Publicado)

International
Archives of Allergy
and Immunology

Experimental Allergy – Research Article

Int Arch Allergy Immunol 2021;182:1155–1168
DOI: 10.1159/000517478

Received: March 19, 2021
Accepted: May 28, 2021
Published online: August 4, 2021

Major Depressive Disorder Enhances Th2 and Th17 Cytokines in Patients Suffering from Allergic Rhinitis and Asthma

Hugo A.A. Oyamada^{a,b} Marcos Octávio S.D. Cafasso^a Carolina M. Vollmer^a
Fabianna Alvim^a Lana M. Lopes^{a,b} Camilla Castro^{a,b} Priscila M. Sacramento^{a,b}
Marisa C. Sales^{a,b} Taissa M. Kasahara^a Ulisses C. Linhares^c Cleonice A.M. Bento^{a,b}

^aDepartment of Microbiology and Parasitology, Federal University of the State of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil;

^bPost-Graduate Program in Microbiology, University of the State of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; ^cDepartment of Morphological Sciences, Federal University of the State of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

Keywords

Allergy · Th17 cells · Th2 cells · Major depressive disorder · Serotonin

Abstract

Introduction: Major depressive disorder (MDD) can impact the severity of allergic rhinitis (AR) and asthma (AA). Here, we evaluated the cytokine production by T-cells from AR and AA patients with or without MDD. The effect of serotonin on the in vitro T-cell response was also evaluated. **Methods:** The cytokines produced by activated T-cells were measured by Luminex and flow cytometry. In some cell cultures, serotonin was added. **Results:** MDD not only enhanced the production of Th2- and Th17-related cytokines, but also, the levels of interleukin (IL)-5 and IL-17 were directly correlated with the severity of depression and anxiety symptoms. As compared with AR, the levels of IL-17 were higher and the release of IL-10 was lower in activated T-cell cultures from AA patients, mainly those with MDD. In AA/MDD patients, the severity of anxiety symptoms and lung disease was directly correlated with Th17-like and hybrid Th2/Th17 cells, but inversely correlated with IL-10-secreting CD4⁺ T-cells. Finally, the addition of serotonin reduced the production of Th2- and Th17-

related cytokines, but elevated IL-10 secretion in cell cultures from both AR and AA patients. **Conclusions:** Our findings suggest that not only the occurrence of MDD but also the severity of anxiety symptoms, may adversely affect the outcome of allergic reactions by favoring the production of cytokines implicated in the pathogenesis of AR and AA, a phenomenon that was attenuated by serotonin.

© 2021 S. Karger AG, Basel

Introduction

Allergic rhinitis (AR) and asthma (AA) are diseases characterized by immune-mediated reactions to inhaled allergens involving upper and lower airways, respectively, and affect between 10 and 30% of the population [1]. Although AR is not usually a severe disease, it can alter the social life of patients, and the signs and symptoms include sneezing, itching, and nasal obstruction. Moreover, AR is a major risk factor for developing persistent AA, which could be classified as mild, moderate, and se-

Edited by: H.-U. Simon, Bern.

karger@karger.com
www.karger.com/iaa

© 2021 S. Karger AG, Basel

Correspondence to:
Cleonice A.M. Bento, cbento@unirio.br

Karger

vere, depending on the frequency and severity of the symptoms, as well as the response to classical therapy [2]. Common AA symptoms include recurrent episodes of wheezing, breathlessness, chest tightening, and/or coughing that vary in duration and intensity. In more severe forms of the disease, progressive airway tissue remodeling, with increased smooth muscle mass, fibrosis, and mucus production lead to a severe decline in lung function and airway obstruction that can be life threatening [3]. The necessity of persistent pharmacological treatment in the management of persistent AA is reflected in the high cost of the disease: over 80 billion dollars per year in the USA and 20 billion euro per year in Europe [4, 5]. Brazil is fifth in the world in terms of prevalence of AA, with approximately 13% of the population affected [6].

Classically, atopic AR and AA are associated with an allergen-specific Th2 immune reaction with the production of high levels of cytokine interleukin (IL)-4, IL-5, and IL-13 [7]. This CD4⁺ T-cell phenotype is differentiated by dendritic cells expressing allergen peptides/MHC class 2 complexes in the presence of IL-4 and IL-25 [2, 3, 8]. Moreover, follicular Th13 cells, by producing IL-21 and IL-13, promote allergen-specific B-cell activation and production of somatic hypermutated IgE [9]. Following allergen re-exposure, memory Th2 and follicular Th13 cells produce high levels of IL-4, IL-5, IL-13, and IL-21 that enhance not only IgE production, but also activate IgE-sensitized mast cells and eosinophils in the respiratory tract of allergic patients [10, 11]. In AR, the symptoms are particularly a result of the biological action of histamine released by mast cells [12]. In AA, large amounts of eosinophil-derived sulphidopeptide leukotrienes (LTC4, LTD4, and LTE4) and platelet-activating factor provoke acute attacks due to their ability to induce local vasodilatation, edema formation, neurogenic stimulation, smooth muscle contraction, and mucus hypersecretion [13, 14]. Therefore, while the control of AR episodes involves the use of antihistamines, the control of AA attacks depends on the use of β_2 agonists (bronchodilators) and inhaled corticoids (ICs) [15, 16]. Nonetheless, the pathogenesis of AA is more complex than imagined, and in some patients, the disease is not adequately controlled, despite high doses of ICs [17]. The great majority of those patients respond to allergen provocation by inducing intense neutrophil infiltration into respiratory airways [7, 18], suggesting the involvement of Th17 cells in severe forms of AA [19]. Indeed, increased levels of IL-17, the signature cytokine of this cell phenotype, and IL-23, necessary for

Th17 cell stabilization, were found in the serum and lungs of patients with severe asthma [20–23]. Moreover, dual IL-17 and IL-4-secreting CD4⁺ T cells have also been detected in bronchial-alveolar lavages (BAL) of some patients with severe asthma [24, 25]. The involvement of IL-17-secreting CD4⁺ T cells should lead to more severe damage due to neutrophil activation and lower ICs responsiveness [26–28]. Indeed, in vitro studies have demonstrated a greater sensitivity of Th2 cells to corticoids when compared to Th17 and IL-4⁺ Th17 cell subsets [29].

Independent of immune endotype, the severity of exacerbation in AR and, mainly, AA should reflect damage to the functioning of regulatory CD4⁺ T cells, such as lower production of anti-inflammatory cytokine IL-10 by CD4⁺ T cells that express (Tregs) or not (Tr-1) the FoxP3 marker [30]. It is probable that, by favoring imbalance between different CD4⁺ T cell subsets, adverse events associated with modern lifestyle, like depressive and anxiety disorders, should contribute to both the elevated prevalence and severity of AA observed in recent decades [31, 32].

Several studies have revealed an association between rheumatoid arthritis (RA) and AA, and major depression disorder (MDD) [33–35]. AA diagnoses were more frequent in patients suffering from recurrent psychiatric disorders [36]. The occurrence of anxiety and depressive symptoms appears to increase the severity of allergic reactions and the failure of therapeutics, leading to exacerbation of the condition and a significantly greater drain on the health-care system [37, 38]. This adverse relationship between allergic diseases and mental disorders might be related to imbalances in the cytokine network [39, 40]. High levels of pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, and tumor necrosis factor (TNF)- α are associated with MDD [41, 42]. This elevated inflammatory status should involve, at least in part, lower availability of serotonin (5-hydroxytryptamine [5-HT]), a neurotransmitter with immunoregulator properties [43]. In different biological systems, 5-HT modulates the production of cytokines by mononuclear cells in a dose-dependent manner [44, 45]. In the context of autoimmune diseases classically mediated by Th17 cells, 5-HT reduced the production of IL-17 and elevated IL-10 release [46]. In the scenario of RA and AA, the impact of MDD on the production of cytokines related to Th1/Th2 and Th17/Treg phenotypes, as well as the effects of 5-HT on in vitro cytokine production are lacking. The main objective of the present study was to address precisely this lacuna.

Table 1. Characteristics of subjects

	Control ^a	RA ^b	AA ^c
Subjects, <i>n</i>	20	20	44
Gender, female/male, <i>n</i>	10/10	15/5	30/14
Age, years, mean $\pm$ SD	31.2 $\pm$ 9.1	30.8 $\pm$ 9.6	33.8 $\pm$ 10.1
MDD, % ^d	0	50	55
BMI, median (range) ^e	25.1 (18.8–32.1)	24.8 (19.6–34)	28.5 (19.1–35.4)

Of note, patients were allowed to use ICs, but not systemic steroids for 1 month prior to the study. MDD, major depressive disorder; AA, allergic asthma; IC, inhaled corticoid; RA, rheumatoid arthritis. ^a Healthy individuals and allergic patient. ^b Rhinitis patient. ^c Asthma patient. ^d MDD. ^e Body mass index is a value derived from the mass (weight in kg) and height (in meters) of an individual (lean: 18.5–24.9, overweight: 25–29.9 and obese class 1: 30–35).

Methodology

Subjects

For our study, 44 patients with persistent AA ($n = 24$ with MDD) and 20 patients with perennial RA ($n = 10$ with MDD) (Table 1) were recruited from March 2017 to March 2020 from the Federal University of the State of Rio de Janeiro Hospital/UNIRIO (Rio de Janeiro, Brazil). None of the patients was using antidepressant or anxiolytic drugs. Among the MDD patients, the severity of both depressive and anxiety symptoms was determined according to the Beck depression inventory (BDI) [47] and Beck anxiety inventory (BAI) [48], respectively. In some studies, the pulmonary functions of 24 AA patients ($n = 12$ with MDD) were assessed by spirometry according to American Thoracic Society standards [49] just before blood sampling, and asthma severity was evaluated on the basis of the Global Initiative for Asthma criteria [50]. In those AA patients, the severity of anxiety and depression symptoms were also assessed using the scales Hamilton Anxiety Rating Scale (HAM-A) [51] and the Hamilton Depression Rating Scale (HAM-D)-17 items [52], respectively. For some experiments, 20 age and sex-matched nonallergic healthy subjects (HS) were also recruited. All subjects included were nonsmokers, with no history of upper or lower airway infectious diseases 4 months prior to recruitment in the study. Among the allergic patients, we excluded those who were taking oral or intravenous steroids, theophylline, long-acting β_2 -agonists, leukotriene antagonists, or antihistamines 1 month prior to the study. Patients receiving ICs were not excluded. For some experiments, nonallergic subjects with ($n = 16$) and without ($n = 16$) MDD were recruited as control. The Ethics Committee for Research on Human Subjects at the Federal University of the State of Rio de Janeiro (UNIRIO) approved the study, and blood was collected only after written informed consent was obtained from each individual (CAAE 44951215.6.0000.5258).

Cell Cultures and Stimuli

Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from subjects were obtained from blood centrifugation on Ficoll-Hypaque gradients. The viable cells, measured by trypan blue exclusion, were adjusted to a concentration of 1×10^6 cells/mL and cultured in 24-well flat bottom microtiter plates in 1 mL RPMI 1640 adding 2 mM L-glutamine, 10% fetal calf serum, 20 U/mL penicillin, 20 μ g/mL streptomycin, and 20 mM HEPES buffer (GIBCO, Carlsbad,

CA, USA). In some experiments, the cell cultures from AR and AA patients were maintained for 72 h in the absence (medium alone) or presence of anti-CD3/anti-CD28 beads (10 μ L/mL) at 37°C and 5% CO₂. The effect of serotonin (5-HT) on cytokine production was evaluated after adding 200 ng/mL of 5-HT at the beginning of the incubation period. The serotonin concentration used here was based on physiological blood concentrations of serotonin [53]. The cell cultures were maintained at 37°C in a humidified 5% CO₂ incubator.

Proliferation Assay

T-cell proliferation (1×10^6 /mL) in AR and AA PBMC cultures in response to anti-CD3/anti-CD28 beads was measured by [³H] thymidine incorporation, added to cultures at 4 μ Ci/well 8 h prior to the conclusion of the 3-day incubation period. The cells were harvested in glass fiber filters in an automatic cell harvester and radioactive incorporation was measured using a liquid-scintillation counter. The results were shown as mean $\pm$ SD of counts per minute.

Quantification of *in vitro* Cytokines

The *in vitro* cytokine production by activated T cells from AR and AA patients was quantified by Luminex using human Th1/Th2/Th17 Cytokine 18-plex Panel (InvitroGen, San Diego, CA, USA) according to manufacturer's instructions. This multiplex bead-based enzyme-linked immunosorbent assay was used to measure IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, IL-17A (IL-17), IFN- γ , TNF- α , and granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) in the supernatants from cell cultures.

Flow Cytometry Analysis

To identify different CD4⁺ T-cell subsets according to the cytokine profile, PBMC cultures (1×10^6 /mL) from 20 HS to 24 AA patients (12 with MDD) were cultured in 24-well flat-bottomed microplates with 2 mL of complete RPMI (ThermoFisher Scientific Inc.) in the presence of phorbol myristate acetate (20 ng/mL; Sigma-Aldrich) plus ionomycin (600 ng/mL; Sigma-Aldrich) and brefeldin A (10 μ g/mL) (BD Biosciences, San Diego, CA, USA). The cell cultures were maintained at 37°C in a humidified 5% CO₂ incubator. After 4 h, PBMC were stained with mouse antihuman monoclonal antibodies (mAbs) to CD3-PE-Cy5.5, CD14-APC, CD4-FITC, IL-4-APC, IL-17-PE-Cy7, IFN- γ -PE, and IL-10-APC.

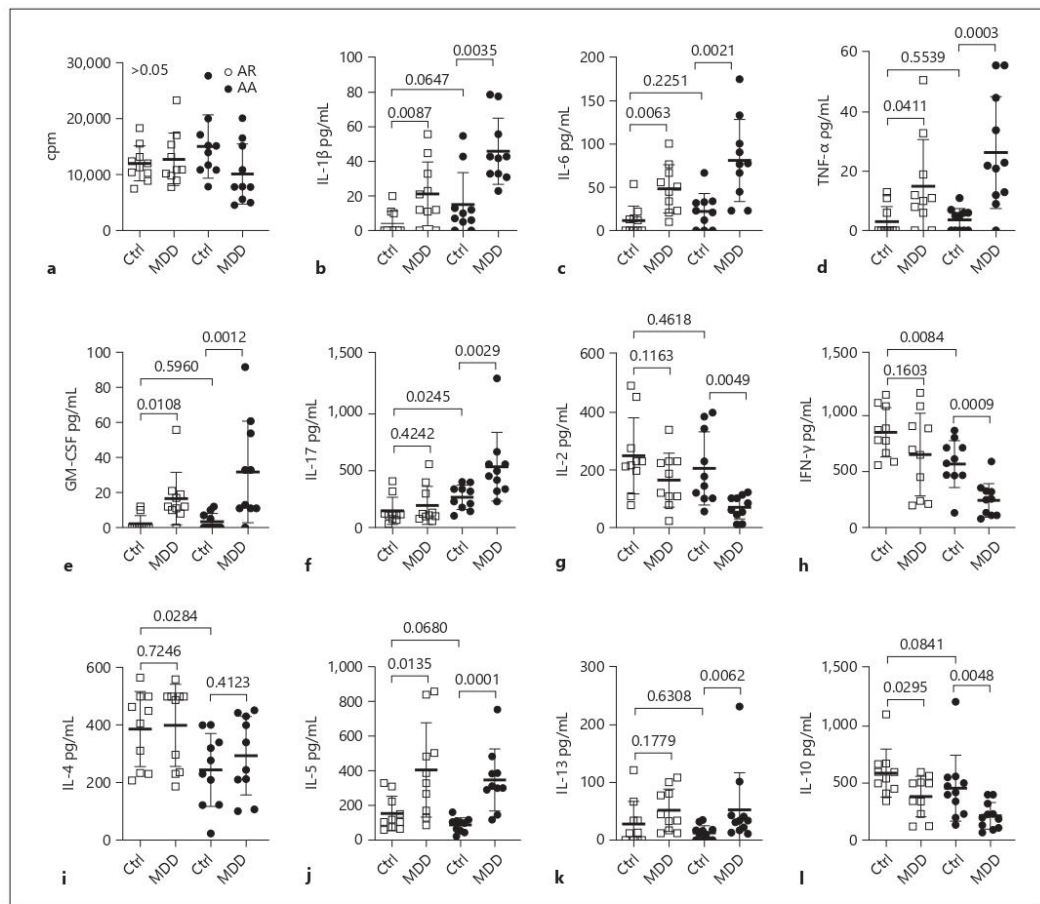


Fig. 1. The impact of MDD on T-cell proliferation and cytokine production in atopic patients. PBMC cultures (1×10^6 /mL) from 20 patients with AR (10 with MDD) and 20 with AA (10 with MDD) were activated with anti-CD3/anti-CD28 beads (10 μ L/mL) for 3 days. In (a), the cell proliferation (cpm) was determined by capturing the [3 H] TdR (1 μ Ci/mL) added to the cultures 8 h before the end of the incubation time. From (b–l), the levels of dif-

ferent cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α , GM-CSF, IL-17, IL-2, IFN- γ , IL-4, IL-5, IL-13, and IL-10) were quantified by Luminex. The mean values were compared and the *p* value shown in the figures. MDD, major depressive disorder; AA, allergic asthma; TNF, tumor necrosis factor; PBMC, peripheral blood mononuclear cell; cpm, counts per minute; GM-CSF, granulocyte macrophage colony-stimulating factor.

These mAbs and all isotype control antibodies were purchased from BD Biosciences (San Diego, CA, USA). Briefly, whole blood cells were incubated with mAbs for CD3 and CD4 for 30 min at room temperature in the dark, according to manufacturer's instructions. The cells were washed with PBS + 2% FBS, then the whole blood cells were lysed with Fix/Lyse solution (eBiosciences) for 10 min at room temperature before cell permeabilization, which was performed by incubating cells with Cytofix/Cytoperm

solution (BD Pharmingen, San Diego, CA, USA) at 4°C for 20 min. After washing, the mAbs for intracellular staining (anti-IL-4-APC, anti-IL-17-PE-Cy7, anti-IFN- γ -PE, and anti-IL-10-APC) were added and incubated for 30 min at 4°C. The cells were acquired on Accuri C6 (Accuri™, Ann Arbor, MI, USA) and analyzed using Cflow (Accuri™, Ann Arbor, MI, USA). Isotype control antibodies and single-stained samples were used to periodically check the settings and gates on the flow cytometer. After acquisition of 200,000–

300,000 events, lymphocytes were gated based on forward and side scatter properties after the exclusion of dead cells, by using propidium iodide, and doublets. Additionally, gated cells were negative for CD14 marker.

Statistical Analyses

All statistical analyses were conducted using the Prism 8.0 program (GraphPad Software). One-way ANOVA, Student's *t*, or Mann-Whitney tests were used to assess variables in different experimental groups. The analysis of correlations between immunological events and the severity of depression and anxiety symptoms was conducted using Spearman's correlation. Significance in all experiments was defined as $p < 0.05$.

Results

MDD Upregulates the Production of Th2- and Th17-Related Cytokines in AR and AA Patients

For the first stage of this study, PBMCs from 20 AR (RA [15 women and 5 men, 30.8 ± 9.6 years old]) and 20 allergic asthma (AA [15 women and 5 men, 31.6 ± 8.9 years old]) (Table 1) were cultured with anti-CD3/anti-CD28 beads. Among patients, 50% of each patient group had a diagnosis of recurrent MDD. As demonstrated in Figure 1a, no difference was observed with regard to T-cell proliferation between the AR and AA patients (Fig. 1a). Also, the occurrence of MDD in AR and AA did not impact T-cell proliferation. However, in those cell cultures, higher production of IL-1 β (Fig. 1b), IL-6 (Fig. 1c), TNF- α (Fig. 1d), IL-5 (Fig. 1j) and GM-CSF (Fig. 1e) was observed in AR and AA patients with MDD. Only in AA-derived cell cultures, the occurrence of MDD elevated the production of IL-17 (Fig. 1f) and IL-13 (Fig. 1k). In contrast, the occurrence of MDD in AA patients, but not in the AR group, diminished the capacity of activated T cells to produce Th1-related cytokines, IL-2 (Fig. 1g) and IFN- γ (Fig. 1h). MDD did not impact the release of IL-4 (Fig. 1i) in allergic patients, but reduced IL-10 production in both cell cultures (Fig. 1l). Finally, as compared with the AR group, higher levels of IL-17 (Fig. 1f) and lower amounts of IFN- γ (Fig. 1h), were produced by activated T cells from AA patients. In the experiments performed in nonallergic subjects, the occurrence of MDD also altered the production of cytokines by activated T cells. Higher production of IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-17, and IL-17, associated with lower IFN- γ secretion, was identified in the supernatants of cell cultures from MDD individuals as compared with healthy ones (see online suppl. Fig. 2; for all online suppl. material, see www.karger.com/doi/10.1159/000517478). No difference was observed regarding the IL-2, IL-10, and Th2-

Table 2. Correlation coefficient (*r*) between the BDI and BAI score and the in vitro cytokine production T cells from AR and AA patients

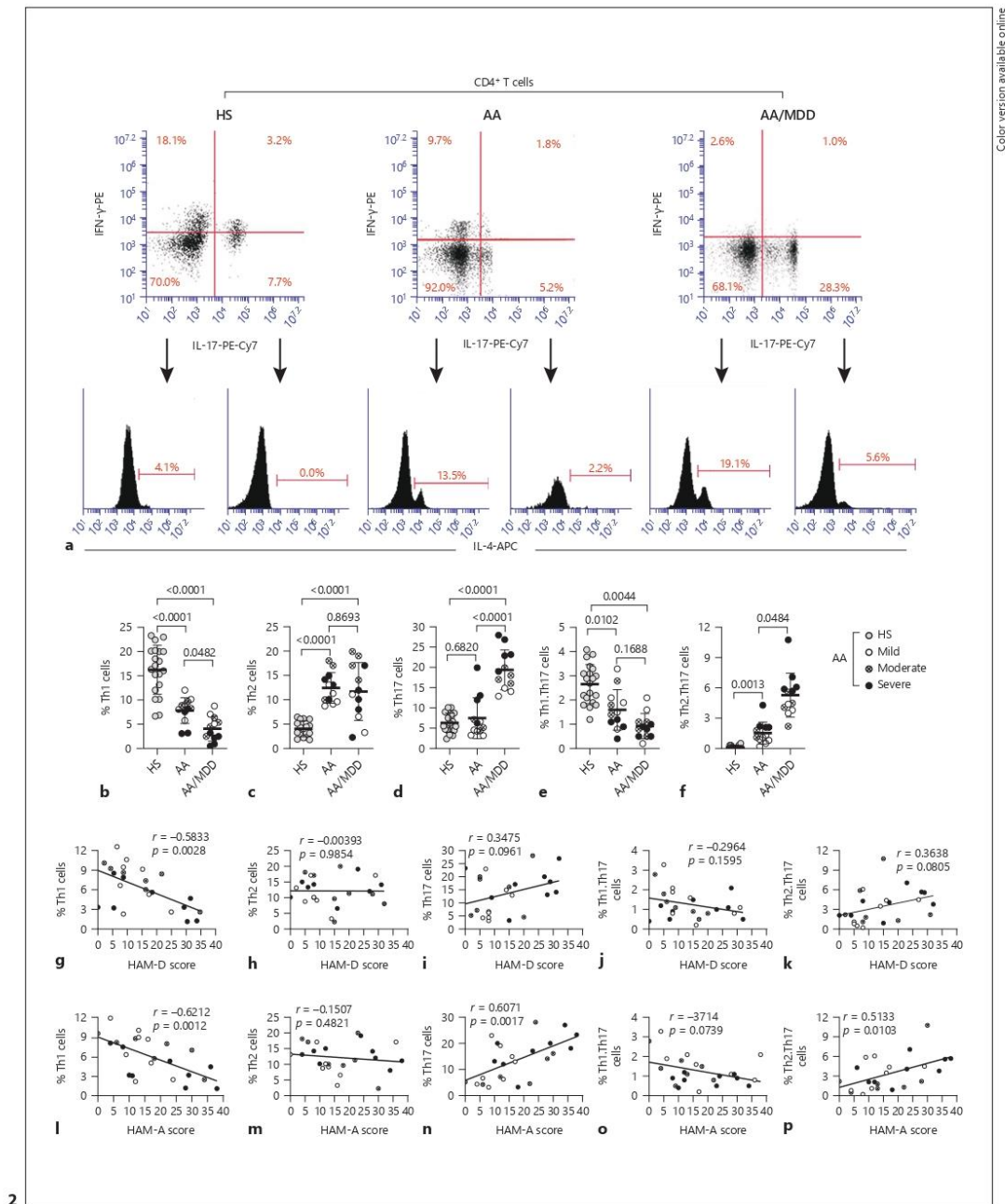
Cytokine, pg/mL	BDI		BAI	
	<i>r</i>	<i>p</i> value	<i>r</i>	<i>p</i> value
IL-1 β	0.6568	0.0069	0.2310	0.346
IL-2	-0.4598	0.0731	-0.0930	0.7319
IL-4	0.1940	0.4715	0.0569	0.8340
IL-5	0.4099	0.1151	0.6225	0.0116
IL-6	0.5840	0.0175	0.3102	0.2422
IL-10	0.2413	0.3679	0.0506	0.8521
IL-13	0.3701	0.1574	0.4407	0.0888
IL-17	0.4006	0.1242	0.5778	0.0191
IL-21	0.4253	0.1005	0.2466	0.3573
IL-22	0.4685	0.0672	0.2356	0.3797
TNF- α	0.6396	0.0091	0.6454	0.0084
GM-CSF	0.4559	0.0771	0.4904	0.0517
IFN- γ	0.1432	0.5968	0.4272	0.0988

AR, allergic rhinitis; AA, allergic asthma; BDI, Beck depression inventory; BAI, Beck anxiety inventory; GM-CSF, granulocyte macrophage colony-stimulating factor.

related cytokines (IL-4, IL-5, and IL-13) (online suppl. Fig. S2). Of note, cytokine levels were undetectable in cell cultures maintained with medium alone. Interestingly, among MDD allergic patients, the levels of IL-1 β , IL-6, and TNF- α , and the production of IL-5, IL-17, and TNF- α were directly correlated with the severity of depression (BDI score) and anxiety (BAI score) symptoms, respectively (Table 2). Similarly, the same correlations were observed in the levels of TNF- α , IL-6, and IL-17 with BDI and BAI score in nonallergic individuals suffering from MDD (data not shown).

Impact of MDD on CD4⁺ T-Cell Phenotypes in AA Patients

For the second stage of our study, the lung function of 24 AA patients (12 with MDD, 15 women and 9 men, 33.7 ± 11.3) was determined prior to sampling blood. Those patients were stratified into mild ($n = 8$), moderate ($n = 7$), and severe ($n = 9$) AA. As control, blood samples were also obtained from HS ($n = 20$; 10 women and 10 men, 31.2 ± 9.1). Different CD4⁺ T-cell subsets were analyzed by flow cytometry after activating PBMCs for 4 h with phorbol myristate acetate plus ionomycin. By using the gating strategy shown in Figure 2a, we identified Th1-like (IFN- γ ⁺IL-4⁻IL-17⁻), Th2-like (IFN- γ ⁻IL-4⁺IL-17⁻), and Th17-like (IFN- γ ⁻IL-4⁻IL-17⁺) cells, as well as hybrid Th1/Th17 and Th2/Th17 cell phenotypes. As com-



(Figure continued on next page.)

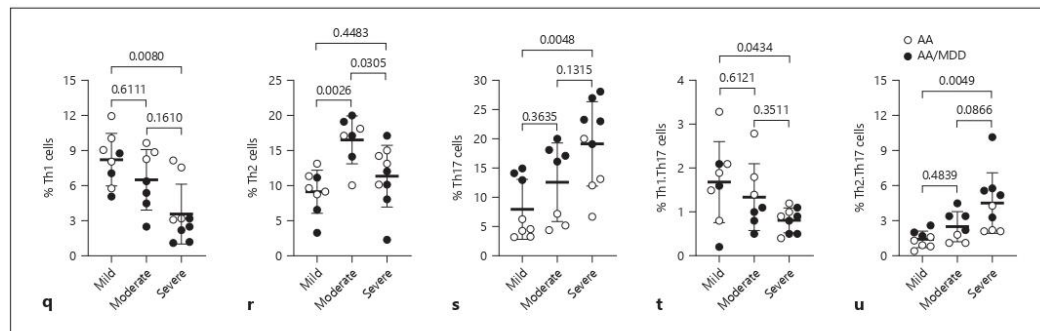


Fig. 2. The frequency of different CD4⁺ T-cell phenotypes in cell cultures from AA patients with or without MDD and its relationship with disease severity and depression and anxiety symptoms. PBMC cultures (1×10^6 /mL) from HS ($n = 20$) and AA patients with ($n = 12$ [3 mild, 4 moderate, and 5 severe]) or without ($n = 12$ [5 mild, 3 moderate, and 4 severe]) MDD were activated with PMA and ionomycin for 4 h and the percentage of CD4⁺ T cells able to produce IL-4, IL-17, and IFN- γ was determined by cytometry. Taking into consideration the gating strategy shown in the panel (a), the percentage of (b) Th1-like (IL-4⁺IL-17⁻IFN- γ ⁺), (c) Th2-like (IL-4⁺IL-17⁺IFN- γ ⁻), (d) Th17-like (IL-4⁻IL-17⁺IFN- γ ⁻) and hybrid (e) Th1/Th17 (IL-4⁺IL-17⁺IFN- γ ⁺), and (f) Th2/Th17 (IL-4⁺IL-17⁺IFN- γ ⁺) phenotypes were identified by cytometry. The mean values were compared and analyzed between the different groups using the one-way ANOVA and the p value shown in the figures (b–f). In (g–p), the proportion of different CD4⁺ T-cell subsets were correlated with depression (HAM-D) and anxiety (HAM-A) symptoms, respectively. From (m–u), the frequency of different CD4⁺ T cells is shown as a function of AA severity. The mean values were compared and the p value shown in (g–u). MDD, major depressive disorder; AA, allergic asthma; HS, healthy subject; PMA, phorbol myristate acetate; PBMC, peripheral blood mononuclear cell.

pared with HS, the frequency of Th1-like (Fig. 2b) and Th1/Th17 phenotype (Fig. 2e) was significantly lower in AA patients from both subgroups, with or without MDD. On the other hand, an elevated proportion of Th2-like cells (Fig. 2c) and hybrid Th2/Th17 phenotype (Fig. 2f) was detected in cell cultures from AA patients as compared with HS. Concerning Th17-like cells (Fig. 2d), no difference was observed in HS and AA patients without MDD, but the proportion of this cell phenotype was significantly higher in AA/MDD-derived cell cultures. In addition to Th17-like cells, the occurrence of MDD in AA also elevated the percentage of Th2/Th17 phenotype (Fig. 2f). No difference was detected in the frequency of Th2-like (Fig. 2c) and Th1/Th17 (Fig. 2e) among the 2 patient subgroups. The severity of depressive symptoms, determined by HAM-D score, was negatively correlated with the proportion of Th1-like cells (Fig. 2g), without difference with regard to frequency of other cell phenotypes. Also, the severity of anxiety symptoms (HAM-A score) was inversely correlated with Th1-like cells (Fig. 2l), but directly correlated with Th17-like cells (Fig. 2n) and Th2/Th17 phenotype (Fig. 2p). Finally, taking into consideration the pulmonary function assessed by spirometry, lower levels of Th1-like cells were observed in severe AA as compared with the mild form (Fig. 2q). Notably,

higher Th2-like cell levels were detected among AA patients with a moderate form of the disease (Fig. 2r). On the other hand, severe AA appears to favor the expansion of Th17-like cells (Fig. 2s) and Th2/Th17 cell phenotype (Fig. 2u), but negatively affects the percentage of Th1/Th17 cell phenotype (Fig. 2t). With regard to IL-10-secreting CD4⁺ T cells, we observed a lower frequency of these lymphocytes in AA patients as compared with HS, mainly among AA/MDD ones (Fig. 3a, b). No relationship between this cell phenotype was observed with HAM-D score (Fig. 3c), but a lower frequency was observed in depressed patients that presented severe anxiety symptoms (HAM-A score) (Fig. 3d). Despite the small sample size, the lowest percentage of IL-10⁺CD4⁺ T cells was observed in severe AA patients as compared with the mild form of the disease (Fig. 3e).

Exogenous Serotonin Modulates *in vitro* Cytokine Production by Activated T Cells from AR and AA Patients

MDD pathology is associated with a reduction in monoamine production, particularly 5-HT [54, 55], a neurotransmitter with known immunoregulatory properties [45]. Our last objective was to evaluate the capacity of serotonin in regulating *in vitro* cytokine production

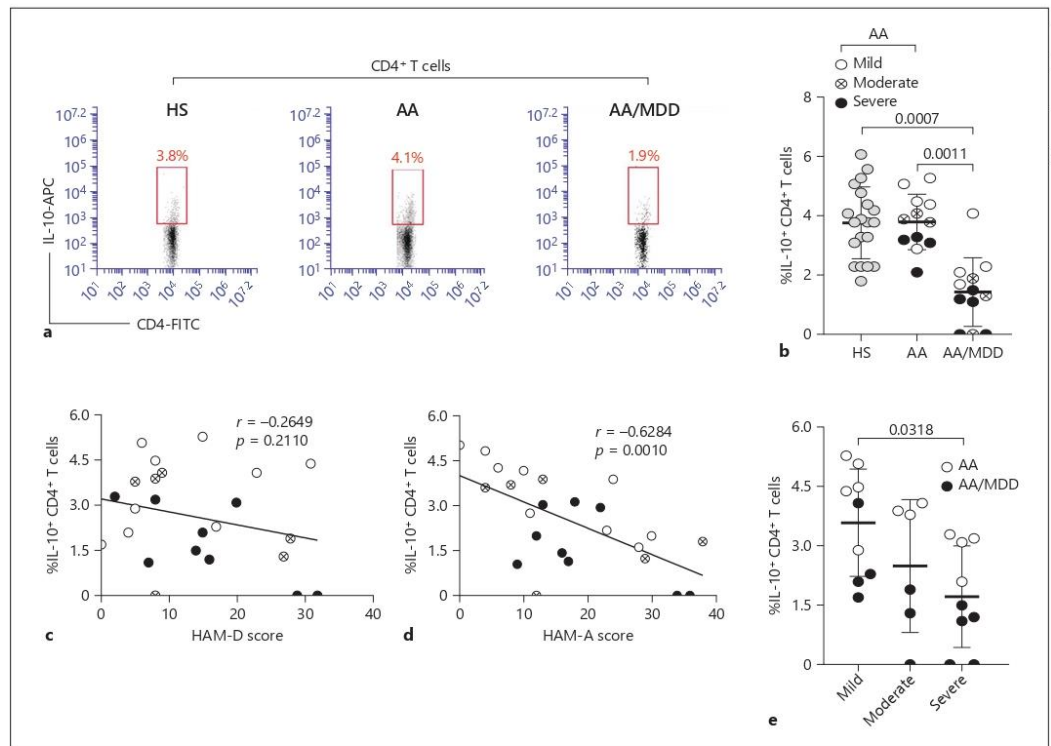


Fig. 3. The frequency of IL-10⁺ CD4⁺ T cells in cell cultures from AA patients with or without MDD and its relationship with disease severity and depression and anxiety symptoms. PBMC cultures (1×10^6 /mL) from HS ($n = 20$) and AA patients with ($n = 12$ [3 mild, 4 moderate, and 5 severe]) or without ($n = 12$ [5 mild, 3 moderate, and 4 severe]) MDD were activated with PMA and ionomycin for 4 h and the percentage of CD4⁺ T cells able to produce IL-10 was determined by cytometry. Panel (a), representative dot-plot showing the percentage of CD4⁺ T-cell positive for IL-10 in control group (HS) and AA patients, with (AA/MDD) or without (AA)

depression. In (b), the mean percentage of IL-10⁺ CD4⁺ T cells for each group of individuals. In (c, d), the percentage of IL-10⁺ CD4⁺ T cells are correlated with severity of depression and anxiety symptoms, respectively. In (e), IL-10⁺ CD4⁺ T cells are shown as a function of AA severity. In (b, d), the mean values were compared and analyzed between the different groups using the one-way ANOVA and the p value shown in the figure. MDD, major depressive disorder; AA, allergic asthma; HS, healthy subjects; PMA, phorbol myristate acetate; PBMC, peripheral blood mononuclear cell.

by activated T cells from 10 AA (07 with MDD) and 10 AR (05 with MDD) patients. Among the cytokines assayed, the addition of physiological concentration of 5-HT (200 ng/mL) reduced the production of IL-1 β (Fig. 4a), IL-6 (Fig. 4b), IL-17 (Fig. 4d), IL-4 (Fig. 4g), and IL-5 (Fig. 4h), but elevated IL-10 secretion (Fig. 4j) in cell cultures from both AR and AA patients. 5-HT significantly reduced TNF- α (Fig. 4c) and IL-13 (Fig. 4i) only in AA cell cultures, while no difference was observed for IL-2 (Fig. 4e) and IFN- γ (Fig. 4f) levels.

Discussion

Both prevalence and severity of respiratory allergic diseases have been increasing in the last decades [55, 56]. Although this phenomenon has been associated with reduced contact with environmental microbiota [57, 58], other adverse events might impact allergic diseases, such as MDD. Approximately 322 million individuals worldwide suffer from MDD [59], and severity of allergic symptoms has been associated with psychiatric disorders [37,

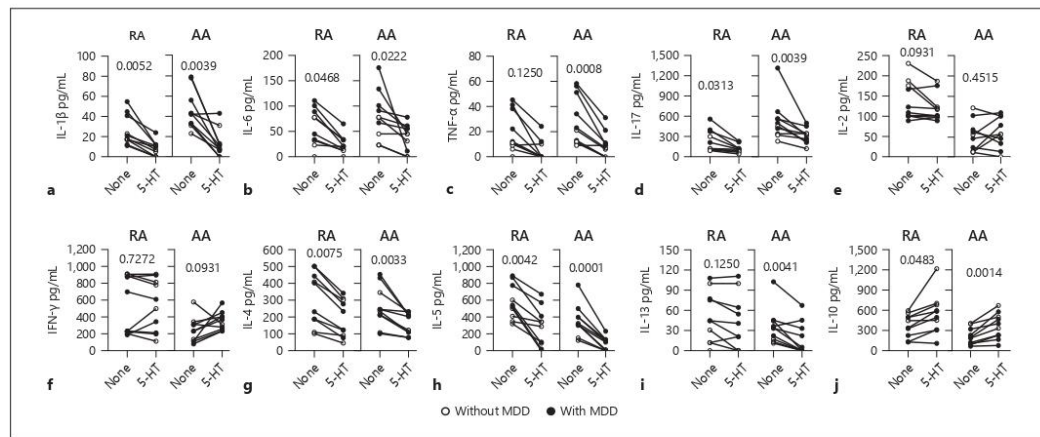


Fig. 4. The role of serotonin in modulating the production of cytokines related to the Th1, Th2, Th17, and Treg phenotypes in allergic patients with or without MDD. PBMC cultures (1×10^6 /mL) from 10 patients with AA (7 with MDD) and 10 AR patients (5 with MDD) were activated for 2 days with anti-CD3/anti-CD28 beads (10 μ L/mL) in the presence or absence of serotonin (5-HT, 200 ng/mL). The cytokine content was quantified by Luminex. IL-1 β (a), IL-6 (b), TNF- α (c), IL-17 (d), IL-2 (e), IFN- γ (f), IL-4 (g), IL-5 (h), IL-13 (i), and IL-10 (j) were dosed. The mean values were compared and the *p* value shown in a–j. MDD, major depressive disorder; AA, allergic asthma; TNF, tumor necrosis factor; 5-HT, 5-hydroxytryptamine; PBMC, peripheral blood mononuclear cell; Treg, T cells that express.

38]. In the present study, we demonstrated that recurrent MDD induces an imbalance in the cytokine network through activated T cells from AR and AA patients, which was attenuated by serotonin (5-HT).

First, of all patient subgroup, a higher proportion of women was identified in our cohort, which agrees with studies showing that adult women are most affected by both MDD and allergic diseases, particularly asthma [59–63]. Here, although the occurrence of MDD did not alter the extent of T-cell proliferation in AR and AA subjects, cell cultures from depressed patients presented different cytokine profiles. The occurrence of MDD elevated the ability of AR- and AA-derived T cells to release of IL-1 β , IL-6, TNF- α , GM-CSF, and IL-5. Further, only in cell cultures from AA patients, MDD elevated IL-13 production. With regard to IL-4, no significant difference was observed. Moreover, among the cytokines assayed, IL-1 β , IL-6, and TNF- α levels, in both experimental groups, were associated with severity of MDD. In nonallergic individuals, MDD has been associated with elevated levels of IL-1 β , IL-6 [41], and TNF- α [42], many of them correlated with severity of MDD [64, 65]. Keaton et al. [66] revealed that high IL-6 levels are linked to greater risk of suicide. In line with these findings, the production of

these pro-inflammatory cytokines, as well as IL-17 and GM-CSF, was quantified in cell cultures containing activated T cells from nonallergic subjects with MDD and compared with healthy individuals. These results suggested that MDD favors expansion of Th17-like cells, a CD4 $^+$ T-cell subset implicated in autoimmune diseases, such as RA. In RA patients, depression was associated with elevated IL-6 production and disease severity [67–69].

According to Wu and Fang [70], the majority of MDD patients also presents anxiety disorders, and, after applying the BAI scale, >80% of our AR and AA patients presented symptoms of anxiety, with the highest scores being seen in patients whose T cells produced the highest IL-5 and TNF- α levels. This phenomenon can help to explain the correlation between occurrence of anxiety and depressive symptoms and severity of allergic reactions and failure of therapeutics, leading to greater exacerbation of the conditions and significantly higher use of health-care resources [37, 38].

Classically, both AR and AA are mediated by allergen-specific Th2 cells [71], and, although no difference had been observed in the production of IL-4, the increase in IL-5 and IL-13 production in depressed AR and AA pa-

tients should lead to worse outcomes during allergic attacks. With regard to nonallergic subjects, the occurrence of MDD did not change the production of Th2-like cytokines (IL-4, IL-5, and IL-13), suggesting that depression should enhance the release of IL-5 and IL-13 only among patients with genetic background to atopic diseases.

In addition to helping IL-4 in the production of IgE [72], IL-13 increases mucus secretion and airway hyper-responsiveness in AA patients [73]. IL-5, in turn, increases the production and survival of eosinophils, a cell involved in the late reactions of atopies [74]. Particularly in AA, high production of LTC₄, LTD₄, and LTE₄, as well platelet-activating factor by allergen/IgE-activated eosinophils mediate many of the symptoms in allergic asthma, such as bronchoconstriction, local edema, and mucus overproduction [7, 13, 14]. Beyond IL-5 and IL-13, elevated release of IL-1 β , IL-6, TNF- α , GM-CSF quantified in supernatants of MDD-derived cell cultures should also contribute to allergic pathogenesis. A study by Han et al. [75] demonstrated elevated plasma levels of IL-1 β in severe persistent AR that was directly correlated with nasal fluid of CCL24, a chemokine for eosinophils [76]. Several studies supporting a crucial role for IL-1 β and inflammatory components in a variety of allergy-related disorders have been published [77]. Also, cultures of alveolar macrophages from AA patients presented high TNF- α and IL-6 levels in an IgE-dependent manner [78]. In addition to TNF α , elevated levels of GM-CSF were detected in the nasal secretion of AR patients, and it was positively correlated with allergen-specific IgE titers to the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* [79]. In AA, a study by Nobs et al. [80], realized with an experimental model of AA, demonstrated the role of endogenous GM-CSF in promoting lung eosinophil accumulation. Human GM-CSF is a small glycoprotein that primarily stimulates the production and functioning not only eosinophils but also monocytes and neutrophils [81]. Due to limited financial resources, it was not possible to evaluate IL-9, another cytokine involved in Th2-mediated allergic processes [82]. Altogether, our findings suggest that MDD occurrence might negatively impact AR and AA outcomes by increasing IL-1 β , TNF- α , and GM-CSF production in addition to that of classical Th2-related cytokines.

Although atopies are classically mediated by the Th2 phenotype, more recent studies have demonstrated the involvement of Th17 cells in serious forms of allergic diseases, especially asthma [19, 21, 83]. In the present study, IL-17 production was not only significantly higher in AA cell cultures than in the RA group, but their levels were higher in AA/MDD patients. In addition, IL-17 levels

were positively associated with severity of anxiety symptoms. Also, the same pattern was observed for IL-5 production. The AA endotype involving IL-17 is associated with persistent pulmonary infiltration of neutrophils over eosinophils [19, 84]. The presence of neutrophils can cause damage to local tissue through the production of free radicals derived from oxygen, nitrogen, and the release of enzymes [85]. Furthermore, extracellular neutrophil trap networks, identified in the BAL fluid of AA patients, have been related to lesion processes in the respiratory epithelium of AA patients [86, 87]. Moreover, dual IL-17 and IL-4-secreting CD4⁺ T cells have also been described in patients with severe asthma [24, 25]. Both endotypes have been associated with a worse response to asthma treatment with corticosteroids [88] and β_2 adrenergic agonists [26]. Indeed, in vitro studies have demonstrated a greater sensitivity of classical Th2 cells to corticoids when compared to Th17 and IL-4⁺ Th17 cell subsets [29]. Although some authors have documented an elevated percentage of circulating Th17 cells and serum IL-17A in RA as compared with healthy individuals [89, 90], different from AA, the infiltration of neutrophils appears to be a transient event [91].

Since different endotypes have been well described in AA, we investigated the impact of MDD on Th2-like and Th17-like cells subsets in patients with mild, moderate, and severe AA. As expected, a higher percentage of Th2-like and Th2/Th17 cell phenotype was observed in the AA patients, with or without depression, than in HS. Interestingly, the highest Th2-like cell frequency was seen in moderate AA patients. On the other hand, in line with other studies [21, 24, 25], the proportion of both Th17-like cells and Th2/Th17 cell phenotype was significantly higher among patients with severe AA. However, there is a possibility that, during acute exacerbation, the frequency of those different CD4⁺ T-cell subsets undergoes significant change. In our cohort, depressed patients presented a higher frequency of Th17-like cells and Th2/Th17 cell phenotype, but not Th2-like cells. Interestingly, the proportion of Th17-like cells and Th2/Th17 cell phenotype was directly correlated with anxiety symptoms. A study published by Vieira et al. [92] demonstrated a higher production of IL-17 and TNF- α by T cells in patients with generalized anxiety disorder. These results suggest that occurrence of anxiety appears to potentiate expansion of effector CD4⁺ T-cell phenotypes implicated in worse outcome of AA.

Although Th1 cells are not involved in pathogenesis of atopic diseases, activated T cells from nondepressed AA patients produced less IFN- γ than AR patients, with no dif-

ference in terms of IL-2 production. The occurrence of MDD not only potentiated damage in IFN- γ production, but also compromised IL-2 release by activated T cells in AA, but not AR patients. Moreover, lower frequency of Th1-like cells (IL-4⁻IL-17⁻IFN- γ ⁺), mainly among depressed patients, and hybrid Th1/Th17 cell phenotype was also observed in AA patients as compared with HS. Further, the lowest Th1-like cell percentage was observed in AA patients with impaired lung function, and their frequencies were inversely correlated with severity of depressive and anxiety symptoms. In addition, damage in the IFN- γ production was also seen in nonallergic depressed individuals as compared with HS. Classically, by releasing IFN- γ and IL-2, Th1 cells are fundamental in responding to intracellular pathogens. The IFN- γ elevates microbicidal power of phagocytes and the cytotoxic function of both NK, while IL-2 is pivotal to helping CD8⁺ T-cell activation [93, 94]. Further, IFN- γ is important for the production of IgG1 and IgG3 against pathogens [93, 94]. Although preliminary, these findings can help to explain, at least in part, why severe AA elevates susceptibility to infections by intracellular pathogens [95–97]. This lower Th1-related cytokine production is also observed in nonallergic MDD patients [98, 99], and it could be associated with lower antibody production following immunization for measles [100] and meningitis by meningococcus C [101].

In addition to increasing the frequency of different effector CD4⁺ T-cell subtypes, development and severity of allergic diseases are also favored by a reduction in IL-10 production by regulatory CD4⁺T-cell subsets, such as FoxP3⁺IL-10⁺Tregs [71, 102, 103]. Here, the occurrence of MDD reduced the ability of activated T cells from AR and AA patients to release IL-10. Although we did not analyze the expression of FoxP3 marker, the frequency of IL-10⁺CD4⁺ T cells among our AA patients was lower than HS, particularly in those suffering from MDD and those with severe disease. Yet, the proportion of these cells was directly associated with the severity of anxiety, but not depressive, symptoms. Although we have not investigated the mechanisms behind this reduction in IL-10 production, it could be associated with a decrease in the production of IL-2 and an increase in IL-6 release by T cells in patients with MDD. IL-2 is central for the survival and function of FoxP3⁺ IL-10⁺ Tregs [104], while elevated IL-6 levels suppress the function of Tregs [105]. The imbalance in the cytokine network in depressed AR and AA patients may involve lower availability of endogenous serotonin.

MDD pathology is associated with a reduction in monoamine production, particularly 5-HT [106], a

neurotransmitter with known immunoregulatory properties [45]. Here, 5-HT reduced the production of IL-1 β , IL-6, IL-17, IL-4, and IL-5, but elevated IL-10 secretion in cell cultures from both AR and AA patients. Only in AA cell cultures, this neurotransmitter significantly reduced TNF- α and IL-13. No difference was observed for the IL-2 and IFN- γ levels. In cultures, the effect of serotonin on immune cells depends on the 5-HT receptor subtype. Müller et al. [107] demonstrated that this neurotransmitter, through 5-HT₄ and 5-HT₇ receptors, increases the production of IL-6 and IL-10 through mononuclear cells from HS. Furthermore, in this system, 5-HT₄ receptor agonists decreased IFN- γ production [107]. Snir et al. [108] showed that 5-HT_{2A} agonist reduced TNF- α production by LPS-activated mononuclear cells. Also, Chabbi-Achengli et al. [109], using an experimental rheumatoid arthritis model, demonstrated the ability of serotonin, via the 5-HT_{2A} receptor, to reduce the severity of collagen-induced arthritis in mice. In these animals, serotonin, as well as 5-HT_{2A} receptor agonists, diminished the frequency of type 2 collagen-specific-Th17 cells. Altogether, these findings suggest that MDD treatment with selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) could play an adjuvant role in the treatment of inflammatory disorders, such as allergies. In this sense, several studies have described the anti-inflammatory effects of SSRIs [110]. In nonallergic MDD patients, treatment with SSRIs decreased plasma levels of IL-6, TNF- α , IL-1 β , and anti-inflammatory marker IL-10, without effect on IL-2, IL-4, or IFN- γ release [111]. In an experimental model of AA induced by ovalbumin, the treatment with SSRIs attenuated lung inflammatory response, and this beneficial effect was associated with a reduced number of macrophages, lymphocytes, neutrophils, and eosinophils in BAL. Also, in those animals, SSRIs inhibited the release of TNF- α and activity of nuclear factor- κ B and activator protein-1 by local macrophages after challenge with ovalbumin [112].

Although the study has some weaknesses, such as our small sample size and the need for a prospective study, the events described here reveal not only the adverse impact of MDD but also the severity of anxiety symptoms, on imbalance of T-cell cytokines implicated in the AR and AA pathogenesis. The ability of serotonin to attenuate the production of Th2- and Th17-related cytokines and increase IL-10 secretion, suggests that lower availability of this neurotransmitter in patients with MDD may, at least in part, account for the dysregulation in the cytokine network by T cells from those allergic patients.

Statement of Ethics

This study was approved by Ethics Committee for Research on Human Subjects at the Federal University of the State of Rio de Janeiro (UNIRIO) (CAAE 44951215.6.0000.5258), and blood samples were collected only after written informed consent was obtained from each individual.

Conflict of Interest Statement

The authors have no conflicts of interest to declare.

Funding Sources

This work was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa Carlos Chagas Filho (FAPERJ, grant number: E-26/202.940/2017).

Author Contributions

Patient monitoring and sample collection by U.C.L., M.S.C., and P.M.S. C.A.M.B., T.M.K., and H.A.A.O. designed and performed research, and wrote the paper. H.A.A.O., C.M.V., M.O.S.D.C., F.A., and L.M.L. performed the experiments. C.A.M.B. and C.C. analyzed the data. C.A.M.B. contributed with vital reagents. All the authors participated in critical revision of the manuscript, provided important intellectual input, and approved the final version. All the authors read and approved the final manuscript.

Data Availability Statement

All data generated or analyzed during this study are included in this article and its online suppl. material files. Further enquiries can be directed to the corresponding author.

References

- Schatz M, Rosenwasser L. The allergic asthma phenotype. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2014 Nov-Dec;2(6):645–9.
- Colice GL. Categorizing asthma severity: an overview of national guidelines. *Clin Med Res.* 2004;2(3):155–63.
- Quirt J, Hildebrandt KJ, Mazza J, Noya F, Kim H. Asthma. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2018;14(Suppl 2):50.
- Nurmamagambetov T, Kuwahara R, Garbe P. The economic burden of asthma in the United States, 2008–2013. *Ann Am Thorac Soc.* 2018;15:348–56.
- Nunes C, Pereira AM, Morais-Almeida M. Asthma costs and social impact. *Asthma Res Pract.* 2017;3:1.
- To T, Stanojevic S, Moores G, Gershon AS, Bateman ED, Cruz AA, et al. Global asthma prevalence in adults: findings from the cross-sectional world health survey. *BMC Public Health.* 2012;12:204.
- Lambrecht BN, Hammad H. The immunology of asthma. *Nat Immunol.* 2015;16:45–56.
- Walker JA, McKenzie ANJ. TH2 cell development and function. *Nat Rev Immunol.* 2018;18:121–33.
- Gowthaman U, Chen JS, Zhang B, Flynn WF, Lu Y, Song W, et al. Identification of a T follicular helper cell subset that drives anaphylactic IgE. *Science.* 2019;365:eaaw6433.
- Sutton BJ, Davies AM, Bax HJ, Karagiannis SN. IgE antibodies: from structure to function and clinical translation. *Antibodies.* 2019;8:19.
- Siebenhaar F, Redegeld FA, Bischoff SC, Gibbs BF, Maurer M. Mast cells as drivers of disease and therapeutic targets. *Trends Immunol.* 2018;39:151–62.
- Méndez-Enriquez E, Hallgren J. Mast cells and their progenitors in allergic asthma. *Front Immunol.* 2019;10:821.
- Kasperska-Zajac A, Brzoza Z, Rogala B. Platelet-activating factor (PAF): a review of its role in asthma and clinical efficacy of PAF antagonists in the disease therapy. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2008;2:72–6.
- Liu M, Yokomizo T. The role of leukotrienes in allergic diseases. *Allergol Int.* 2015;64:17–26.
- Soleilhac G, Charpin D. Management of allergic rhinitis. *F1000Prime Rep.* 2014;6:94.
- Ferguson JE, Patel SS, Lockey RF. Acute asthma, prognosis, and treatment. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;139:438–47.
- Adcock IM, Marwick J, Casolari P, Contoli M, Fan Chung K, Kirkham P, et al. Mechanisms of corticosteroid resistance in severe asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Curr Pharm Des.* 2010;16:3554–73.
- Ray A, Kolls JK. Neutrophilic inflammation in asthma and association with disease severity. *Trends Immunol.* 2017;38:942–54.
- Newcomb DC, Peebles RS. Th17-mediated inflammation in asthma. *Curr Opin Immunol.* 2013;25:755–60.
- Morishima Y, Ano S, Ishii Y, Ohtsuka S, Matsuyama M, Kawaguchi M, et al. Th17-associated cytokines as a therapeutic target for steroid-insensitive asthma. *Clin Dev Immunol.* 2013;2013:609395–9.
- Sun Y, Xu W. Peripheral blood Th17 and Th17/Th2 cells and their association with lung function and biomarkers in asthma-COPD overlap syndrome. In: *Airway Cell Biology and Immunopathology.* European Respiratory Society; 2017. p. PA1006.
- Hynes GM, Hinks TSC. The role of interleukin-17 in asthma: a protective response? *ERJ Open Res.* 2020;6.
- Östling J, van Geest M, Schofield JPR, Jevnikar Z, Wilson S, Ward J, et al. IL-17-high asthma with features of a psoriasis immunophenotype. *J Allergy Clin Immunol.* 2019;144:1198–213.
- Irvin C, Zafar I, Good J, Rollins D, Christianson C, Gorska MM, et al. Increased frequency of dual-positive TH2/TH17 cells in bronchoalveolar lavage fluid characterizes a population of patients with severe asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;134:1175–86.e7.
- Wang YH, Voo KS, Liu B, Chen CY, Uygungil B, Spode W, et al. A novel subset of CD4(+) T(H)2 memory/effector cells that produce inflammatory IL-17 cytokine and promote the exacerbation of chronic allergic asthma. *J Exp Med.* 2010;207:2479–91.
- Chang HS, Lee TH, Jun JA, Baek AR, Park JS, Koo SM, et al. Neutrophilic inflammation in asthma: mechanisms and therapeutic considerations. *Expert Rev Respir Med.* 2017;11:29–40.
- Hirose K, Iwata A, Tamachi T, Nakajima H. Allergic airway inflammation: key players beyond the Th2 cell pathway. *Immunol Rev.* 2017;278:145–61.
- Al-Ramli W, Préfontaine D, Chouiali F, Martin JG, Olivenstein R, Lemièrre C, et al. TH17-associated cytokines (IL-17A and IL-17F) in severe asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123:1185–7.
- Mukherjee M, Svenningsen S, Nair P. Glucocorticosteroid subsensitivity and asthma severity. *Curr Opin Pulm Med.* 2017;23:78–88.
- Zhao ST, Wang CZ. Regulatory T cells and asthma. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2018;19:663–73.
- Yonas MA, Lange NE, Celedón JC. Psychosocial stress and asthma morbidity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2012;12:202–10.
- Mohanan S, Tapp H, McWilliams A, Dulin M. Obesity and asthma: pathophysiology and implications for diagnosis and management in primary care. *Exp Biol Med.* 2014;239:1531–40.

- 33 Choi HG, Kim JH, Park JY, Hwang YI, Jang SH, Jung KS. Association between asthma and depression: a national cohort study. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019;7:1239–45.e1.
- 34 Amritwar AU, Lowry CA, Brenner LA, Hoisington AJ, Hamilton R, Stiller JW, et al. Mental health in allergic rhinitis: depression and suicidal behavior. *Curr Treat Options Allergy*. 2017;4:71–97.
- 35 Bedolla-Barajas M, Morales-Romero J, Pulido-Guillén NA, Robles-Figueroa M, Plasencia-Dominguez BR. Rhinitis as an associated factor for anxiety and depression amongst adults. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2017;83:432–8.
- 36 Akula M, Kulikova A, Khan DA, Brown ES. The relationship between asthma and depression in a community-based sample. *J Asthma*. 2018;55:1271–97.
- 37 Sastre J, Crespo A, Fernandez-Sanchez A, Rial M, Plaza V, González FC, et al. Anxiety, depression, and asthma control: changes after standardized treatment. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2018;6:1953–9.
- 38 Grosso A, Pesce G, Marcon A, Piloni D, Albicini F, Gini E, et al. Depression is associated with poor control of symptoms in asthma and rhinitis: a population-based study. *Respir Med*. 2019;155:6–12.
- 39 Leonard BE. Inflammation and depression: a causal or coincidental link to the pathophysiology? *Acta Neuropsychiatr*. 2018;30:1–16.
- 40 Liu CS, Adibfar A, Herrmann N, Gallagher D, Lantôt KL. Evidence for inflammation-associated depression. *Curr Top Behav Neurosci*. 2016;31:3–30.
- 41 Howren MB, Lamkin DM, Suls J. Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis. *Psychosom Med*. 2009;71:171–86.
- 42 Halaris A, Meresh E, Fareed J, Hoppensteadt D, Kimmons S, Sinacore J. 2. Tumor necrosis factor alpha as a biomarker in major depressive disorder. *Brain Behav Immun*. 2012;26: S1.
- 43 Arreola R, Becerril-Villanueva E, Cruz-Fuentes C, Velasco-Velázquez MA, Garcés-Alvarez ME, Hurtado-Alvarado G, et al. Immunomodulatory effects mediated by serotonin. *J Immunol Res*. 2015;2015:1–21.
- 44 Shajib MS, Khan WI. The role of serotonin and its receptors in activation of immune responses and inflammation. *Acta Physiol*. 2015;213:561–74.
- 45 Herr N, Bode C, Duerschmied D. The effects of serotonin in immune cells. *Front Cardiovasc Med*. 2017;4:48.
- 46 Sacramento PM, Monteiro C, Dias ASO, Kasahara TM, Ferreira TB, Hygino J, et al. Serotonin decreases the production of Th1/Th17 cytokines and elevates the frequency of regulatory CD4⁺ T-cell subsets in multiple sclerosis patients. *Eur J Immunol*. 2018;48: 1376–88.
- 47 Gomes-Oliveira MH, Gorenstein C, Lotufo Neto F, Andrade LH, Wang YP. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Beck depression inventory-II in a community sample. *Braz J Psychiatry*. 2012;34:389–94.
- 48 Quintão S, Delgado AR, Prieto G. Validity study of the Beck anxiety inventory (Portuguese version) by the Rasch Rating Scale model. *Psicol Reflex Crit*. 2013;26(2):305–10.
- 49 Gjevre JA, Hurst TS, Taylor-Gjevre RM, Cockcroft DW. The American Thoracic Society's spirometric criteria alone is inadequate in asthma diagnosis. *Can Respir J*. 2006;13: 433–7.
- 50 Ayuk AC, Ubesie A, Odimegwu CL, Iloh K. Use of global initiative for asthma (GINA) guidelines in asthma management among paediatric residents in a Sub Saharan African country: a cross-sectional descriptive study. *Pan Afr Med J*. 2017;27:120.
- 51 Maier W, Buller R, Philipp M, Heuser I. The Hamilton Anxiety Scale: reliability, validity and sensitivity to change in anxiety and depressive disorders. *J Affect Disord*. 1988;14: 61–8.
- 52 Mottram P, Wilson K, Copeland J. Validation of the Hamilton Depression Rating Scale and Montgomery and Asberg Rating Scales in terms of AGE-CAT depression cases. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2000;15:1113–9.
- 53 Flachaire E, Beney C, Berthier A, Salandre J, Quincy C, Renaud B. Determination of reference values for serotonin concentration in platelets of healthy newborns, children, adults, and elderly subjects by HPLC with electrochemical detection. *Clin Chem*. 1990; 36(12):2117–20.
- 54 Lin SH, Lee LT, Yang YK. Serotonin and mental disorders: a concise review on molecular neuroimaging evidence. *Clin Psychopharmacol Neurosci*. 2014;12:196–202.
- 55 Passali D, Cingi C, Staffa P, Passali F, Muluk NB, Bellussi ML. The International Study of the Allergic Rhinitis Survey: outcomes from 4 geographical regions. *Asia Pac Allergy*. 2018; 8:e7.
- 56 Sears MR. Trends in the prevalence of asthma. *Chest*. 2014;145(2):219–25.
- 57 Ege MJ, Mayer M, Normand AC, Genuneit J, Cookson WO, Braun-Fahrlander C, et al. Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N Engl J Med*. 2011; 364:701–9.
- 58 Haahela T, Laatikainen T, Alenius H, Auvinen P, Fyhrquist N, Hanski I, et al. Hunt for the origin of allergy: comparing the Finnish and Russian Karelia. *Clin Exp Allergy*. 2015;45: 891–901.
- 59 World Health Organization. *World Health Organization report: depression and other common mental disorders: global health estimates*. Geneva: World Health Organization; 2017.
- 60 American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. 5th ed. Arlington, VA: American Psychiatric Association; 2013.
- 61 Acker WW, Plasek JM, Blumenthal KG, Lai KH, Topaz M, Seger DL, et al. Prevalence of food allergies and intolerances documented in electronic health records. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;140:1587–91.e1.
- 62 Leynaert B, Sunyer J, Garcia-Esteban R, Svane C, Jarvis D, Cerveri I, et al. Gender differences in prevalence, diagnosis and incidence of allergic and non-allergic asthma: a population-based cohort. *Thorax*. 2012;67: 625–31.
- 63 Osman M, Hansell AL, Simpson CR, Hollowell J, Helms PJ. Gender-specific presentations for asthma, allergic rhinitis and eczema in primary care. *Prim Care Respir J*. 2007;16: 28–35.
- 64 Zou W, Feng R, Yang Y. Changes in the serum levels of inflammatory cytokines in antidepressant drug-naïve patients with major depression. *PLoS One*. 2018;13:e0197267.
- 65 Ting EY, Yang AC, Tsai SJ. Role of interleukin-6 in depressive disorder. *Int J Mol Sci*. 2020;21:2194.
- 66 Keaton SA, Madaj ZB, Heilman P, Smart L, Grit J, Gibbons R, et al. An inflammatory profile linked to increased suicide risk. *J Affect Disord*. 2019;247:57–65.
- 67 Vos T, Abajobir AA, Abate KH, Abbafati C, Abbas KM, Abd-Allah F, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*. 2017;390:1211–59.
- 68 Sambamoorthi U, Shah D, Zhao X. Healthcare burden of depression in adults with arthritis. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res*. 2017;17:53–65.
- 69 Li Y-C, Chou Y-C, Chen H-C, Lu C-C, Chang D-M. Interleukin-6 and interleukin-17 are related to depression in patients with rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*. 2019;22(6):980–5.
- 70 Wu Z, Fang Y. Comorbidity of depressive and anxiety disorders: challenges in diagnosis and assessment. *Shanghai Arch Psychiatry*. 2014; 26:227–31.
- 71 Calzada D, Baos S, Cremades-Jimeno L, Cárdena B. Immunological mechanisms in allergic diseases and allergen tolerance: the role of Treg cells. *J Immunol Res*. 2018;2018:6012053.
- 72 Eckl-Dorna J, Villazala-Merino S, Campion NJ, Byazrova M, Filatov A, Kudlay D, et al. Tracing IgE-producing cells in allergic patients. *Cells*. 2019;8:994.
- 73 Doran E, Cai F, Holweg CTJ, Wong K, Brumm J, Arron JR. Interleukin-13 in asthma and other eosinophilic disorders. *Front Med*. 2017;4:139.
- 74 Roufosse F. Targeting the interleukin-5 pathway for treatment of eosinophilic conditions other than asthma. *Front Med*. 2018;5:49.
- 75 Han MW, Kim SH, Oh I, Kim YH, Lee J. Serum IL-1 β can be a biomarker in children with severe persistent allergic rhinitis. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2019;15:58.
- 76 De Corso E, Baroni S, Battista M, Romanello M, Penitente R, Di Nardo W, et al. Nasal fluid release of eotaxin-3 and eotaxin-2 in persistent sinonasal eosinophilic inflammation. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2014;4:617–24.

- 77 Krause K, Metz M, Makris M, Zuberbier T, Maurer M. The role of interleukin-1 in allergy-related disorders. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2012;12:477–84.
- 78 Gosset P, Tscopoulos A, Wallaert B, Joseph M, Capron A, Tonnel AB. Tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 production by human mononuclear phagocytes from allergic asthmatics after IgE-dependent stimulation. *Am Rev Respir Dis*. 1992;146:768–74.
- 79 Tyurin YA, Lissovskaya SA, Fassahov RS, Mustafin IG, Shamsutdinov AF, Shilova MA, et al. Cytokine profile of patients with allergic rhinitis caused by pollen, mite, and microbial allergen sensitization. *J Immunol Res*. 2017;2017:3054217.
- 80 Nobs SP, Kayhan M, Kopf M. GM-CSF intrinsically controls eosinophil accumulation in the setting of allergic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2019;143:1513–24.e2.
- 81 Fleetwood AJ, Cook AD, Hamilton JA. Functions of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Crit Rev Immunol*. 2005;25(5):405–28.
- 82 Soroosh P, Doherty TA. Th9 and allergic disease. *Immunology*. 2009;127:450–8.
- 83 Zhou T, Huang X, Zhou Y, Ma J, Zhou M, Liu Y, et al. Associations between Th17-related inflammatory cytokines and asthma in adults: a case-control study. *Sci Rep*. 2017;7:15502.
- 84 Fahy JV. Eosinophilic and neutrophilic inflammation in asthma: insights from clinical studies. *Proc Am Thorac Soc*. 2009;6(3):256–9.
- 85 Wang J. Neutrophils in tissue injury and repair. *Cell Tissue Res*. 2018;371:531–9.
- 86 Granger V, Taillé C, Roach D, Letuvé S, Dupin C, Hamidi F, et al. Circulating neutrophil and eosinophil extracellular traps are markers of severe asthma. *Allergy*. 2020;75:699–702.
- 87 Han XA, Jie HY, Wang JH, Zhang XM, Wang J, Yu CX, et al. Necrostatin-1 ameliorates neutrophilic inflammation in asthma by suppressing MLKL phosphorylation to inhibiting NETs release. *Front Immunol*. 2020;11:666.
- 88 Zijlstra GJ, ten Hacken NH, Hoffmann RF, van Oosterhout AJ, Heijink IH. Interleukin-17A induces glucocorticoid insensitivity in human bronchial epithelial cells. *Eur Respir J*. 2012;39:439–45.
- 89 Fairbairn SM, Page CP, Lees P, Cunningham FM. Early neutrophil but not eosinophil or platelet recruitment to the lungs of allergic horses following antigen exposure. *Clin Exp Allergy*. 1993;23:821–8.
- 90 Schneider T, van Velzen D, Moqbel R, Issekutz AC. Kinetics and quantitation of eosinophil and neutrophil recruitment to allergic lung inflammation in a Brown Norway rat model. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1997;17:702–12.
- 91 Taube C, Dakhama A, Rha YH, Takeda K, Joetham A, Park JW, et al. Transient neutrophil infiltration after allergen challenge is dependent on specific antibodies and Fc gamma III receptors. *J Immunol*. 2003;170:4301–9.
- 92 Vieira MM, Ferreira TB, Pacheco PA, Barros PO, Almeida CR, Araújo-Lima CF, et al. Enhanced Th17 phenotype in individuals with generalized anxiety disorder. *J Neuroimmunol*. 2010;229:212–8.
- 93 Kak G, Raza M, Tiwari BK. Interferon-gamma (IFN- γ): exploring its implications in infectious diseases. *Biomol Concepts*. 2018;9:64–79.
- 94 D'Souza WN, Lefrançois L. IL-2 is not required for the initiation of CD8 T cell cycling but sustains expansion. *J Immunol*. 2003;171:5727–35.
- 95 Kawano Y, Noma T. Role of interleukin-2 and interferon-gamma in inducing production of IgG subclasses in lymphocytes of human newborns. *Immunology*. 1996;88:40–8.
- 96 Andersson NW, Goodwin RD, Okkels N, Gustafsson LN, Taha F, Cole SW, et al. Depression and the risk of severe infections: prospective analyses on a nationwide representative sample. *Int J Epidemiol*. 2016;45:131–9.
- 97 Carr TF, Kraft M. Chronic infection and severe asthma. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2016;36:483–502.
- 98 Pavón L, Sandoval-López G, Eugenia Hernández M, Loria F, Estrada I, Pérez M, et al. Th2 cytokine response in major depressive disorder patients before treatment. *J Neuroimmunol*. 2006;172:156–65.
- 99 Kim YK, Na KS, Shin KH, Jung HY, Choi SH, Kim JB. Cytokine imbalance in the pathophysiology of major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007;31:1044–53.
- 100 Ford BN, Yolken RH, Dickerson FB, Teague TK, Irwin MR, Paulus MP, et al. Reduced immunity to measles in adults with major depressive disorder. *Psychol Med*. 2019;49:243–9.
- 101 Burns VE, Drayson M, Ring C, Carroll D. Perceived stress and psychological well-being are associated with antibody status after meningitis C conjugate vaccination. *Psychosom Med*. 2002;64:963–70.
- 102 Li Y, Xiao B, Qiu W, Yang L, Hu B, Tian X, et al. Altered expression of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells and its 5-HT(1a) receptor in patients with major depression disorder. *J Affect Disord*. 2010;124:68–75.
- 103 Noval Rivas M, Chatila TA. Regulatory T cells in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138:639–52.
- 104 Waters RS, Perry JS, Han S, Bielekova B, Gedeon T. The effects of interleukin-2 on immune response regulation. *Math Med Biol*. 2018;35:79–119.
- 105 Kimura A, Kishimoto T. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. *Eur J Immunol*. 2010;40:1830–5.
- 106 Hasler G. Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicians? *World Psychiatry*. 2010;9:155–61.
- 107 Müller T, Dürk T, Blumenthal B, Grimm M, Cicko S, Panther E, et al. 5-hydroxytryptamine modulates migration, cytokine and chemokine release and t-cell priming capacity of dendritic cells in vitro and in vivo. *PLoS One*. 2009;4:e6453.
- 108 Snir O, Hesselberg E, Amoudruz P, Klarekog L, Zarea-Ganji I, Catrina AI, et al. Genetic variation in the serotonin receptor gene affects immune responses in rheumatoid arthritis. *Genes Immun*. 2013;14:83–9.
- 109 Chabbi-Achengli Y, Coman T, Collet C, Callebert J, Corcelli M, Lin H, et al. Serotonin is involved in autoimmune arthritis through Th17 immunity and bone resorption. *Am J Pathol*. 2016;186:927–37.
- 110 Galecki P, Mossakowska-Wójcik J, Tal-awowska M. The anti-inflammatory mechanism of antidepressants: SSRIs, SNRIs. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2018;80:291–4.
- 111 Wang L, Wang R, Liu L, Qiao D, Baldwin DS, Hou R. Effects of SSRIs on peripheral inflammatory markers in patients with major depressive disorder: a systematic review and meta-analysis. *Brain Behav Immun*. 2019;79:24–38.
- 112 Roumestan C, Michel A, Bichon F, Portet K, Detoc M, Henriquet C, et al. Anti-inflammatory properties of desipramine and fluoxetine. *Respir Res*. 2007;8:35.

CONCLUSÕES

- a) Não foi observada diferença na capacidade proliferativa das células T entre pacientes alérgicos com ou sem depressão. Em contrapartida, no grupo com TDM, a produção de citocinas associadas aos perfis celulares Th2 e Th17 foi aumentada enquanto a secreção de citocinas associadas relacionadas aos fenótipos Th1 e Treg foi diminuída, quando comparadas a indivíduos sem depressão;
- b) Nas culturas de células T ativadas, a gravidade dos sintomas depressivos foi correlacionada positivamente com os níveis de IL-1 β , IL-6 e TNF- α . Já os sintomas ansiosos apresentaram correlação positiva com a produção de TNF- α , IL-5 e IL-17;
- c) Em pacientes asmáticos, a ocorrência de TDM favoreceu uma expansão dos fenótipos celulares Th17 e Th2/Th17 com detrimento na frequência de células Th1.
- d) A gravidade dos sintomas depressivos e dos sintomas de ansiedade foi correlacionada negativamente com as porcentagens de células Th1;
- e) Nos pacientes com TDM, a gravidade dos sintomas de ansiedade foi positivamente correlacionada com as porcentagens de células Th17 e Th2/Th17, mas foi inversamente correlacionada com as porcentagens de células Th1;
- f) Quanto ao status clínico da asma alérgica, uma relação positiva foi observada entre gravidade da doença com expansão de células T CD4⁺ do tipo Th17 e Th2/Th17. Por outro lado, as frequências de células Th1, Th1/Th17 e células Th2 clássicas foram menores nos pacientes com asma alérgica grave;
- g) A ocorrência de TDM, assim como a sua gravidade dos sintomas relacionados à ansiedade, foi associada a detrimento na frequência de células T produtoras de IL-10;
- h) A adição de serotonina às culturas de células T policlonalmente ativadas foi capaz de reduzir a produção de citocinas associadas aos perfis celulares Th2 e Th17 de pacientes com asma ou com rinite alérgica, assim como aumentou a produção de IL-10;
- i) Apesar de preliminar, os nossos resultados indicam que o transtorno depressivo maior, assim como a ocorrência de sintomas de ansiedade, são capazes de

impactar negativamente a produção de citocinas pelas células T favorecendo mediadores implicados na patogênese tanto da asma alérgica, quanto da rinite alérgica. A capacidade da serotonina em modular a produção dessas citocinas pode explicar, ao menos em parte, como o TDM pode indiretamente desregular o *status* funcional das células T. Finalmente, é provável que drogas inibidoras seletivas de receptação de serotonina possam ajudar no manejo clínico dos pacientes alérgicos deprimidos.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. World Health Organization Report - Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates [Internet]. Geneva; 2017. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254610/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf;jsessionid=4FF29DAD6B4F47CAD1E699440E15D059?sequence=1%0Ahttp://apps.who.int/iris/bitstream/10665/254610/1/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf>
2. Wu Z, Fang Y. Comorbidity of depressive and anxiety disorders: challenges in diagnosis and assessment. *Shanghai Arch psychiatry* [Internet]. 2014 Aug;26(4):227–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25317009>
3. Groen RN, Ryan O, Wigman JT, Riese H, Penninx BWJH, Giltay EJ, et al. Comorbidity between depression and anxiety: assessing the role of bridge mental states in dynamic psychological networks. *BMC Med* [Internet]. 2020 Dec 29;18(1):308. Available from: <https://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12916-020-01738-z>
4. American Psychiatric Association. Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5. 5th ed. Porto Alegre: Artmed; 2014. 992 p.
5. Arranz L, Guayerbas N, De la Fuente M. Impairment of several immune functions in anxious women. *J Psychosom Res* [Internet]. 2007 Jan;62(1):1–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022399906003825>
6. Besedovsky HO, Rey A del. Physiology of psychoneuroimmunology: A personal view. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2007 Jan;21(1):34–44. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159106003308>
7. Miyasaka T, Dobashi-Okuyama K, Takahashi T, Takayanagi M, Ohno I. The interplay between neuroendocrine activity and psychological stress-induced exacerbation of allergic asthma. *Allergol Int* [Internet]. 2018 Jan;67(1):32–42. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1323893017300540>
8. Dahl J, Ormstad H, Aass HCD, Malt UF, Bendz LT, Sandvik L, et al. The plasma levels of various cytokines are increased during ongoing depression and are reduced to normal levels after recovery. *Psychoneuroendocrinology* [Internet]. 2014 Jul;45:77–86. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453014001152>
9. Keaton SA, Madaj ZB, Heilman P, Smart L, Grit J, Gibbons R, et al. An inflammatory profile linked to increased suicide risk. *J Affect Disord* [Internet]. 2019 Mar;247:57–65. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165032718320512>
10. Briones-Buixassa L, Milà R, M^a Aragonès J, Buñill E, Olaya B, Arrufat FX. Stress and multiple sclerosis: A systematic review considering potential moderating and mediating factors and methods of assessing stress. *Heal Psychol Open* [Internet]. 2015 Nov 3;2(2):205510291561227. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2055102915612271>
11. Amritwar AU, Lowry CA, Brenner LA, Hoisington AJ, Stiller JW, Hamilton R, et al. Mental Health in Allergic Rhinitis: Depression and Suicidal Behavior. *Curr Treat Options Allergy* [Internet]. 2017 Mar 25;4(1):71–97. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s40521-017-0110-z>
12. Chan A, Yip A, Tay CK, Lapperre T, Tan LL, Yeoh F, et al. The impact of anxiety and depression on asthma-related health outcomes: A prospective study. In: *53 Allergy and Immunology* [Internet]. European Respiratory Society; 2015. p. PA5097. Available from: <http://erj.ersjournals.com/lookup/doi/10.1183/13993003.congress-2015.PA5097>
13. Tzeng N-S, Chang H-A, Chung C-H, Kao Y-C, Chang C-C, Yeh H-W, et al. Increased Risk of Psychiatric Disorders in Allergic Diseases: A Nationwide, Population-Based,

- Cohort Study. *Front Psychiatry* [Internet]. 2018 Apr 24;9. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpsy.2018.00133/full>
14. Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CK, Strachan DP, Weiland SK, et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet* [Internet]. 2006 Aug;368(9537):733–43. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673606692830>
 15. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia celular e molecular*. 8th ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2015. 552 p.
 16. Turvey SE, Broide DH. Innate immunity. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2010 Feb;125(2):S24–32. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674909010835>
 17. Saravia J, Chapman NM, Chi H. Helper T cell differentiation. *Cell Mol Immunol* [Internet]. 2019 Jul 12;16(7):634–43. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41423-019-0220-6>
 18. Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS. T Cell Activation. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 2009 Apr 1;27(1):591–619. Available from: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.immunol.021908.132706>
 19. Brubaker SW, Bonham KS, Zanoni I, Kagan JC. Innate Immune Pattern Recognition: A Cell Biological Perspective. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 2015 Mar 21;33(1):257–90. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-immunol-032414-112240>
 20. Muñoz-Wolf N, Lavelle EC. Innate Immune Receptors. *Methods Mol Biol* [Internet]. 2016;1417:1–43. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-3566-6_1
 21. Roh JS, Sohn DH. Damage-Associated Molecular Patterns in Inflammatory Diseases. *Immune Netw* [Internet]. 2018;18(4). Available from: <https://synapse.koreamed.org/DOIX.php?id=10.4110/in.2018.18.e27>
 22. Salvador B, Arranz A, Francisco S, Córdoba L, Punzón C, Llamas MÁ, et al. Modulation of endothelial function by Toll like receptors. *Pharmacol Res* [Internet]. 2016 Jun;108:46–56. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043661816301347>
 23. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget* [Internet]. 2018 Jan 23;9(6):7204–18. Available from: <https://www.oncotarget.com/lookup/doi/10.18632/oncotarget.23208>
 24. Gasteiger G, D’Osualdo A, Schubert DA, Weber A, Bruscia EM, Hartl D. Cellular Innate Immunity: An Old Game with New Players. *J Innate Immun* [Internet]. 2017;9(2):111–25. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/453397>
 25. Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS. T Cell Activation. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 2009 Apr;27(1):591–619. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.immunol.021908.132706>
 26. Cabeza-Cabrerizo M, Cardoso A, Minutti CM, Pereira da Costa M, Reis e Sousa C. Dendritic Cells Revisited. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 2021 Apr 26;39(1):131–66. Available from: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-immunol-061020-053707>
 27. Patente TA, Pinho MP, Oliveira AA, Evangelista GCM, Bergami-Santos PC, Barbuto JAM. Human Dendritic Cells: Their Heterogeneity and Clinical Application Potential in Cancer Immunotherapy. *Front Immunol* [Internet]. 2019 Jan 21;9. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2018.03176/full>

28. Koch U, Radtke F. Mechanisms of T Cell Development and Transformation. *Annu Rev Cell Dev Biol* [Internet]. 2011 Nov 10;27(1):539–62. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-cellbio-092910-154008>
29. Cantrell D. Signaling in Lymphocyte Activation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. 2015 Jun 1;7(6):a018788. Available from: <http://cshperspectives.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/cshperspect.a018788>
30. Marshall JS, Warrington R, Watson W, Kim HL. An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, Asthma Clin Immunol* [Internet]. 2018 Sep 12;14(S2):49. Available from: <https://aacijournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13223-018-0278-1>
31. FAZILLEAU N, MCHEYZERWILLIAMS L, MCHEYZERWILLIAMS M. Local development of effector and memory T helper cells. *Curr Opin Immunol* [Internet]. 2007 Jun;19(3):259–67. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0952791507000556>
32. HENRICKSON S, VONANDRIAN U. Single-cell dynamics of T-cell priming. *Curr Opin Immunol* [Internet]. 2007 Jun;19(3):249–58. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0952791507000659>
33. Zhu J, Yamane H, Paul WE. Differentiation of Effector CD4 T Cell Populations. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 2010 Mar;28(1):445–89. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-immunol-030409-101212>
34. Vivier E, Artis D, Colonna M, Diefenbach A, Di Santo JP, Eberl G, et al. Innate Lymphoid Cells: 10 Years On. *Cell* [Internet]. 2018 Aug;174(5):1054–66. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867418309115>
35. McKinstry KK, Strutt TM, Swain SL. The potential of CD4 T-cell memory. *Immunology* [Internet]. 2010 May;130(1):1–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2567.2010.03259.x>
36. Schmitt N, Bentebibel S-E, Ueno H. Phenotype and functions of memory Tfh cells in human blood. *Trends Immunol* [Internet]. 2014 Sep;35(9):436–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24998903>
37. Makani S, Jen K, Finn P. New Costimulatory Families: Signaling Lymphocytic Activation Molecule in Adaptive Allergic Responses. *Curr Mol Med* [Internet]. 2008 Aug 1;8(5):359–64. Available from: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1566-5240&volume=8&issue=5&spage=359>
38. Qin H, Wang L, Feng T, Elson CO, Niyongere SA, Lee SJ, et al. TGF- β Promotes Th17 Cell Development through Inhibition of SOCS3. *J Immunol* [Internet]. 2009 Jul 1;183(1):97–105. Available from: <http://www.jimmunol.org/lookup/doi/10.4049/jimmunol.0801986>
39. Gutcher I, Becher B. APC-derived cytokines and T cell polarization in autoimmune inflammation. *J Clin Invest* [Internet]. 2007 May 1;117(5):1119–27. Available from: <http://www.jci.org/cgi/doi/10.1172/JCI31720>
40. Bhaumik S, Basu R. Cellular and Molecular Dynamics of Th17 Differentiation and its Developmental Plasticity in the Intestinal Immune Response. *Front Immunol* [Internet]. 2017 Mar 31;8. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2017.00254/full>
41. Castro G, Liu X, Ngo K, De Leon-Tabaldo A, Zhao S, Luna-Roman R, et al. ROR γ t and ROR α signature genes in human Th17 cells. Chung Y, editor. *PLoS One* [Internet]. 2017 Aug 1;12(8):e0181868. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0181868>
42. Revu S, Wu J, Henkel M, Rittenhouse N, Menk A, Delgoffe GM, et al. IL-23 and IL-

- 1 β Drive Human Th17 Cell Differentiation and Metabolic Reprogramming in Absence of CD28 Costimulation. *Cell Rep* [Internet]. 2018 Mar;22(10):2642–53. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211124718302250>
43. Russo RC, Garcia CC, Teixeira MM, Amaral FA. The CXCL8/IL-8 chemokine family and its receptors in inflammatory diseases. *Expert Rev Clin Immunol* [Internet]. 2014 May 29;10(5):593–619. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/1744666X.2014.894886>
 44. Mitsdoerffer M, Lee Y, Jager A, Kim H-J, Korn T, Kolls JK, et al. Proinflammatory T helper type 17 cells are effective B-cell helpers. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2010 Aug 10;107(32):14292–7. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1009234107>
 45. Lee Y, Awasthi A, Yosef N, Quintana FJ, Xiao S, Peters A, et al. Induction and molecular signature of pathogenic TH17 cells. *Nat Immunol* [Internet]. 2012 Oct 9;13(10):991–9. Available from: <http://www.nature.com/articles/ni.2416>
 46. Kaufmann U, Kahlfuss S, Yang J, Ivanova E, Koralov SB, Feske S. Calcium Signaling Controls Pathogenic Th17 Cell-Mediated Inflammation by Regulating Mitochondrial Function. *Cell Metab* [Internet]. 2019 May;29(5):1104–1118.e6. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550413119300191>
 47. Azizi G, Yazdani R, Mirshafiey A. Th22 cells in autoimmunity: a review of current knowledge. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2015 Jul;47(4):108–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26159476>
 48. Eyerich K, Eyerich S. Th22 cells in allergic disease. *Allergo J Int* [Internet]. 2015 Feb 9;24(1):1–7. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s40629-015-0039-3>
 49. Xu H. Th17 Cells Coordinate with Th22 Cells in Maintaining Homeostasis of Intestinal Tissues and both are Depleted in SIV-Infected Macaques. *J AIDS Clin Res* [Internet]. 2014;05(05). Available from: <https://www.omicsonline.org/open-access/th-cells-coordinate-with-th-cells-in-maintaining-homeostasis-of-intestinal-tissues-and-both-are-depleted-in-sivinfectd-macaques-2155-6113.1000302.php?aid=26771>
 50. Fernandes SM, Pires AR, Ferreira C, Foxall RB, Rino J, Santos C, et al. Enteric Mucosa Integrity in the Presence of a Preserved Innate Interleukin 22 Compartment in HIV Type 1–Treated Individuals. *J Infect Dis* [Internet]. 2014 Aug 15;210(4):630–40. Available from: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1093/infdis/jiu126>
 51. Zhang N, Pan H-F, Ye D-Q. Th22 in inflammatory and autoimmune disease: prospects for therapeutic intervention. *Mol Cell Biochem* [Internet]. 2011 Jul 8;353(1–2):41–6. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11010-011-0772-y>
 52. Rolla S, Bardina V, De Mercanti S, Quaglino P, De Palma R, Gned D, et al. Th22 cells are expanded in multiple sclerosis and are resistant to IFN- β . *J Leukoc Biol* [Internet]. 2014 Dec;96(6):1155–64. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1189/jlb.5A0813-463RR>
 53. Akdis M, Palomares O, van de Veen W, van Splunter M, Akdis CA. TH17 and TH22 cells: A confusion of antimicrobial response with tissue inflammation versus protection. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012 Jun;129(6):1438–49. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674912007221>
 54. Ito H, Seishima M. Regulation of the Induction and Function of Cytotoxic T Lymphocytes by Natural Killer T Cell. *J Biomed Biotechnol* [Internet]. 2010;2010:1–8. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2010/641757/>
 55. Mittrücker H-W, Visekruna A, Huber M. Heterogeneity in the Differentiation and Function of CD8⁺ T Cells. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* [Internet]. 2014 Dec 31;62(6):449–58. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00005-014-0293-y>
 56. Annunziato F, Romagnani C, Romagnani S. The 3 major types of innate and adaptive

- cell-mediated effector immunity. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2015 Mar;135(3):626–35. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674914015851>
57. Yu Y, Ma X, Gong R, Zhu J, Wei L, Yao J. Recent advances in CD8⁺ regulatory T_H1/2 cell research (Review). *Oncol Lett* [Internet]. 2018 Mar 29; Available from: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2018.8378>
 58. Res PCM, Piskin G, de Boer OJ, van der Loos CM, Teeling P, Bos JD, et al. Overrepresentation of IL-17A and IL-22 Producing CD8 T Cells in Lesional Skin Suggests Their Involvement in the Pathogenesis of Psoriasis. Unutmaz D, editor. *PLoS One* [Internet]. 2010 Nov 24;5(11):e14108. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0014108>
 59. Luan L, Ding Y, Han S, Zhang Z, Liu X. An increased proportion of circulating Th22 and Tc22 cells in psoriasis. *Cell Immunol* [Internet]. 2014 Aug;290(2):196–200. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0008874914001075>
 60. Costantino CM, Baecher-Allan CM, Hafler DA. Human regulatory T cells and autoimmunity. *Eur J Immunol* [Internet]. 2008 Apr;38(4):921–4. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/eji.200738104>
 61. Zhao H, Liao X, Kang Y. Tregs: Where We Are and What Comes Next? *Front Immunol* [Internet]. 2017 Nov 24;8. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2017.01578/full>
 62. Josefowicz SZ, Lu L-F, Rudensky AY. Regulatory T Cells: Mechanisms of Differentiation and Function. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 2012 Apr 23;30(1):531–64. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.immunol.25.022106.141623>
 63. Shevach EM. From Vanilla to 28 Flavors: Multiple Varieties of T Regulatory Cells. *Immunity* [Internet]. 2006 Aug;25(2):195–201. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1074761306003578>
 64. Liu W, Putnam AL, Xu-yu Z, Szot GL, Lee MR, Zhu S, et al. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4⁺ T reg cells. *J Exp Med* [Internet]. 2006 Jul 10;203(7):1701–11. Available from: <http://www.jem.org/lookup/doi/10.1084/jem.20060772>
 65. Fantini MC, Becker C, Monteleone G, Pallone F, Galle PR, Neurath MF. Cutting Edge: TGF- β Induces a Regulatory Phenotype in CD4⁺ CD25[–] T Cells through Foxp3 Induction and Down-Regulation of Smad7. *J Immunol* [Internet]. 2004 May 1;172(9):5149–53. Available from: <http://www.jimmunol.org/lookup/doi/10.4049/jimmunol.172.9.5149>
 66. Curotto de Lafaille MA, Lafaille JJ. Natural and Adaptive Foxp3⁺ Regulatory T Cells: More of the Same or a Division of Labor? *Immunity* [Internet]. 2009 May;30(5):626–35. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S107476130900199X>
 67. Schmitt EG, Williams CB. Generation and Function of Induced Regulatory T Cells. *Front Immunol* [Internet]. 2013;4. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2013.00152/abstract>
 68. Travis MA, Sheppard D. TGF- β Activation and Function in Immunity. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 2014 Mar 21;32(1):51–82. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-immunol-032713-120257>
 69. Olson BM, Sullivan JA, Burlingham WJ. Interleukin 35: A Key Mediator of Suppression and the Propagation of Infectious Tolerance. *Front Immunol* [Internet]. 2013;4. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2013.00315/abstract>
 70. Ouyang W, Rutz S, Crellin NK, Valdez PA, Hymowitz SG. Regulation and Functions

- of the IL-10 Family of Cytokines in Inflammation and Disease. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 2011 Apr 23;29(1):71–109. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-immunol-031210-101312>
71. Borsellino G, Kleinewietfeld M, Di Mitri D, Sternjak A, Diamantini A, Giometto R, et al. Expression of ectonucleotidase CD39 by Foxp3⁺ Treg cells: hydrolysis of extracellular ATP and immune suppression. *Blood* [Internet]. 2007 Aug 15;110(4):1225–32. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/110/4/1225/23166/Expression-of-ectonucleotidase-CD39-by-Foxp3-Treg>
 72. Gandhi R, Kumar D, Burns EJ, Nadeau M, Dake B, Laroni A, et al. Activation of the aryl hydrocarbon receptor induces human type 1 regulatory T cell–like and Foxp3⁺ regulatory T cells. *Nat Immunol* [Internet]. 2010 Sep 1;11(9):846–53. Available from: <http://www.nature.com/articles/ni.1915>
 73. Gregori S, Bacchetta R, Battaglia M, Roncarolo MG. Type 1 regulatory T (Tr1) cells: from the bench to the bedside. *J Transl Med* [Internet]. 2012 Nov 28;10(S3):I7. Available from: <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/1479-5876-10-S3-I7>
 74. Zeng H, Zhang R, Jin B, Chen L. Type 1 regulatory T cells: a new mechanism of peripheral immune tolerance. *Cell Mol Immunol* [Internet]. 2015 Sep 8;12(5):566–71. Available from: <http://www.nature.com/articles/cmi201544>
 75. Gagliani N, Magnani CF, Huber S, Gianolini ME, Pala M, Licona-Limon P, et al. Coexpression of CD49b and LAG-3 identifies human and mouse T regulatory type 1 cells. *Nat Med* [Internet]. 2013 Jun 28;19(6):739–46. Available from: <http://www.nature.com/articles/nm.3179>
 76. Smith TRF, Kumar V. Revival of CD8⁺ Treg–mediated suppression. *Trends Immunol* [Internet]. 2008 Jul;29(7):337–42. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471490608001282>
 77. Jiang H, Canfield SM, Gallagher MP, Jiang HH, Jiang Y, Zheng Z, et al. HLA-E–restricted regulatory CD8⁺ T cells are involved in development and control of human autoimmune type 1 diabetes. *J Clin Invest* [Internet]. 2010 Oct 1;120(10):3641–50. Available from: <http://www.jci.org/articles/view/43522>
 78. Calzada D, Baos S, Cremades-Jimeno L, Cárdena B. Immunological Mechanisms in Allergic Diseases and Allergen Tolerance: The Role of Treg Cells. *J Immunol Res* [Internet]. 2018 Jun 14;2018:1–10. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jir/2018/6012053/>
 79. Williams M, Mildner A, Yona S. Developmental and Functional Heterogeneity of Monocytes. *Immunity* [Internet]. 2018 Oct;49(4):595–613. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1074761318304461>
 80. Palomares O, Akdis M, Martín-Fontecha M, Akdis CA. Mechanisms of immune regulation in allergic diseases: the role of regulatory T and B cells. *Immunol Rev* [Internet]. 2017 Jul;278(1):219–36. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/imr.12555>
 81. Yang S-H, Gao C, Li L, Chang C, Leung PSC, Gershwin ME, et al. The molecular basis of immune regulation in autoimmunity. *Clin Sci* [Internet]. 2018 Jan 16;132(1):43–67. Available from: <https://portlandpress.com/clinsci/article/132/1/43/71684/The-molecular-basis-of-immune-regulation-in>
 82. Eckl-Dorna J, Villazala-Merino S, Champion NJ, Byazrova M, Filatov A, Kudlay D, et al. Tracing IgE-Producing Cells in Allergic Patients. *Cells* [Internet]. 2019 Aug 28;8(9):994. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4409/8/9/994>

83. Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens WJ, Togias A, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008. *Allergy* [Internet]. 2008 Apr;63(7):8–160. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1398-9995.2007.01620.x>
84. Strózek J, Samoliński B, Kłak A, Gawińska - Družba E, Izdebski R, Krzych- Fałta E, et al. The indirect costs of allergic diseases. *Int J Occup Med Environ Health* [Internet]. 2019 May 30;32(3):281–90. Available from: <http://www.journalssystem.com/ijomeh/The-indirect-costs-of-allergic-diseases,100721,0,2.html>
85. Liva GA, Karatzanis AD, Prokopakis EP. Review of Rhinitis: Classification, Types, Pathophysiology. *J Clin Med* [Internet]. 2021 Jul 19;10(14):3183. Available from: <https://www.mdpi.com/2077-0383/10/14/3183>
86. Lambrecht BN, Hammad H. The immunology of asthma. *Nat Immunol* [Internet]. 2015 Jan 18;16(1):45–56. Available from: <http://www.nature.com/articles/ni.3049>
87. Yang X, Li H, Ma Q, Zhang Q, Wang C. Neutrophilic Asthma Is Associated with Increased Airway Bacterial Burden and Disordered Community Composition. *Biomed Res Int* [Internet]. 2018 Jul 9;2018:1–11. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2018/9230234/>
88. Nunes C, Pereira AM, Morais-Almeida M. Asthma costs and social impact. *Asthma Res Pract* [Internet]. 2017 Dec 6;3(1):1. Available from: <http://asthmarp.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40733-016-0029-3>
89. Sutton B, Davies A, Bax H, Karagiannis S. IgE Antibodies: From Structure to Function and Clinical Translation. *Antibodies* [Internet]. 2019 Feb 22;8(1):19. Available from: <http://www.mdpi.com/2073-4468/8/1/19>
90. Ortiz RA, Barnes KC. Genetics of Allergic Diseases. *Immunol Allergy Clin North Am* [Internet]. 2015 Feb;35(1):19–44. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889856114001143>
91. Foo ACY, Mueller GA. Abundance and Stability as Common Properties of Allergens. *Front Allergy* [Internet]. 2021 Oct 28;2. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/falgy.2021.769728/full>
92. Sahoo A, Wali S, Nurieva R. T helper 2 and T follicular helper cells: Regulation and function of interleukin-4. *Cytokine Growth Factor Rev* [Internet]. 2016 Aug;30:29–37. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359610116300399>
93. Saunders SP, Ma EGM, Aranda CJ, Curotto de Lafaille MA. Non-classical B Cell Memory of Allergic IgE Responses. *Front Immunol* [Internet]. 2019 Apr 26;10. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2019.00715/full>
94. Valenta R. The future of antigen-specific immunotherapy of allergy. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2002 Jun;2(6):446–53. Available from: <http://www.nature.com/articles/nri824>
95. Randall KL, Hawkins CA. Antihistamines and allergy. *Aust Prescr* [Internet]. 2018 Feb 1;41(2):42–5. Available from: <https://www.nps.org.au/australian-prescriber/articles/antihistamines-and-allergy>
96. Doran E, Cai F, Holweg CTJ, Wong K, Brumm J, Arron JR. Interleukin-13 in Asthma and Other Eosinophilic Disorders. *Front Med* [Internet]. 2017 Sep 19;4. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmed.2017.00139/full>
97. Roufousse F. Targeting the Interleukin-5 Pathway for Treatment of Eosinophilic Conditions Other than Asthma. *Front Med* [Internet]. 2018 Apr 6;5. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmed.2018.00049/full>
98. Quirt J, Hildebrand KJ, Mazza J, Noya F, Kim H. Asthma. *Allergy, Asthma Clin Immunol* [Internet]. 2018 Sep 12;14(S2):50. Available from: <https://aacijournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13223-018-0279-0>

99. Koch S, Sopel N, Finotto S. Th9 and other IL-9-producing cells in allergic asthma. *Semin Immunopathol* [Internet]. 2017 Jan 17;39(1):55–68. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00281-016-0601-1>
100. Kaplan MH. Th9 cells: differentiation and disease. *Immunol Rev* [Internet]. 2013 Mar;252(1):104–15. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/imr.12028>
101. Chang H-C, Sehra S, Goswami R, Yao W, Yu Q, Stritesky GL, et al. The transcription factor PU.1 is required for the development of IL-9-producing T cells and allergic inflammation. *Nat Immunol* [Internet]. 2010 Jun 2;11(6):527–34. Available from: <http://www.nature.com/articles/ni.1867>
102. Goswami R, Kaplan MH. Gcn5 Is Required for PU.1-Dependent IL-9 Induction in Th9 Cells. *J Immunol* [Internet]. 2012 Sep 15;189(6):3026–33. Available from: <http://www.jimmunol.org/lookup/doi/10.4049/jimmunol.1201496>
103. Kara EE, Comerford I, Bastow CR, Fenix KA, Litchfield W, Handel TM, et al. Distinct Chemokine Receptor Axes Regulate Th9 Cell Trafficking to Allergic and Autoimmune Inflammatory Sites. *J Immunol* [Internet]. 2013 Aug 1;191(3):1110–7. Available from: <http://www.jimmunol.org/lookup/doi/10.4049/jimmunol.1203089>
104. Jones CP, Gregory LG, Causton B, Campbell GA, Lloyd CM. Activin A and TGF- β promote TH9 cell-mediated pulmonary allergic pathology. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012 Apr;129(4):1000-1010.e3. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674911029344>
105. Corren J, Busse W, Meltzer EO, Mansfield L, Bensch G, Fahrenholz J, et al. A Randomized, Controlled, Phase 2 Study of AMG 317, an IL-4R α Antagonist, in Patients with Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2010 Apr 15;181(8):788–96. Available from: <http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/rccm.200909-1448OC>
106. Wenzel SE. Asthma: defining of the persistent adult phenotypes. *Lancet* [Internet]. 2006 Aug;368(9537):804–13. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673606692908>
107. Leckie MJ, Brinke A ten, Khan J, Diamant Z, O'Connor BJ, Walls CM, et al. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* [Internet]. 2000 Dec;356(9248):2144–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673600034966>
108. Kips JC, O'Connor BJ, Langley SJ, Woodcock A, Kerstjens HAM, Postma DS, et al. Effect of SCH55700, a Humanized Anti-Human Interleukin-5 Antibody, in Severe Persistent Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2003 Jun 15;167(12):1655–9. Available from: <http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/rccm.200206-525OC>
109. Chang HS, Lee T-H, Jun JA, Baek AR, Park J-S, Koo S-M, et al. Neutrophilic inflammation in asthma: mechanisms and therapeutic considerations. *Expert Rev Respir Med* [Internet]. 2017 Jan 2;11(1):29–40. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17476348.2017.1268919>
110. Ray A, Kolls JK. Neutrophilic Inflammation in Asthma and Association with Disease Severity. *Trends Immunol* [Internet]. 2017 Dec;38(12):942–54. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S147149061730128X>
111. Alcorn JF, Crowe CR, Kolls JK. T H 17 Cells in Asthma and COPD. *Annu Rev Physiol* [Internet]. 2010 Mar 17;72(1):495–516. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-physiol-021909-135926>
112. Östling J, van Geest M, Schofield JPR, Jevnikar Z, Wilson S, Ward J, et al. IL-17-high asthma with features of a psoriasis immunophenotype. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2019 Nov;144(5):1198–213. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674919304841>

113. Fahy J V. Eosinophilic and Neutrophilic Inflammation in Asthma: Insights from Clinical Studies. *Proc Am Thorac Soc* [Internet]. 2009 May 1;6(3):256–9. Available from: <http://pats.atsjournals.org/cgi/doi/10.1513/pats.200808-087RM>
114. Newcomb DC, Peebles RS. Th17-mediated inflammation in asthma. *Curr Opin Immunol* [Internet]. 2013 Dec;25(6):755–60. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0952791513001301>
115. Bellini A, Marini MA, Bianchetti L, Barczyk M, Schmidt M, Mattoli S. Interleukin (IL)-4, IL-13, and IL-17A differentially affect the profibrotic and proinflammatory functions of fibrocytes from asthmatic patients. *Mucosal Immunol* [Internet]. 2012 Mar 21;5(2):140–9. Available from: <http://www.nature.com/articles/mi201160>
116. Pichavant M, Goya S, Meyer EH, Johnston RA, Kim HY, Matangkasombut P, et al. Ozone exposure in a mouse model induces airway hyperreactivity that requires the presence of natural killer T cells and IL-17. *J Exp Med* [Internet]. 2008 Feb 18;205(2):385–93. Available from: <http://www.jem.org/lookup/doi/10.1084/jem.20071507>
117. Zijlstra GJ, ten Hacken NHT, Hoffmann RF, van Oosterhout AJM, Heijink IH. Interleukin-17A induces glucocorticoid insensitivity in human bronchial epithelial cells. *Eur Respir J* [Internet]. 2012 Feb 1;39(2):439–45. Available from: <http://erj.ersjournals.com/cgi/doi/10.1183/09031936.00017911>
118. Chen Y, Thai P, Zhao Y-H, Ho Y-S, DeSouza MM, Wu R. Stimulation of Airway Mucin Gene Expression by Interleukin (IL)-17 through IL-6 Paracrine/Autocrine Loop. *J Biol Chem* [Internet]. 2003 May 9;278(19):17036–43. Available from: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M210429200>
119. Cosmi L, Maggi L, Santarlasci V, Capone M, Cardilicchia E, Frosali F, et al. Identification of a novel subset of human circulating memory CD4⁺ T cells that produce both IL-17A and IL-4. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2010 Jan;125(1):222–230.e4. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674909015383>
120. Wang Y-H, Voo KS, Liu B, Chen C-Y, Uygungil B, Spoede W, et al. A novel subset of CD4⁺ TH2 memory/effector cells that produce inflammatory IL-17 cytokine and promote the exacerbation of chronic allergic asthma. *J Exp Med* [Internet]. 2010 Oct 25;207(11):2479–91. Available from: <https://rupress.org/jem/article/207/11/2479/40630/A-novel-subset-of-CD4-TH2-memoryeffector-cells>
121. Bayrak Degirmenci P, Aksun S, Altin Z, Bilgir F, Arslan IB, Colak H, et al. Allergic Rhinitis and Its Relationship with IL-10, IL-17, TGF- β , IFN- γ , IL 22, and IL-35. *Dis Markers* [Internet]. 2018;2018:1–6. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/dm/2018/9131432/>
122. Amin K, Issa SM, Ali KM, Aziz MI, Hama Amieen HM, Bystrom J, et al. Evidence for eosinophil and IL-17 mediated inflammation in allergic rhinitis. *Clin Mol Allergy* [Internet]. 2020 Dec 4;18(1):6. Available from: <https://clinicalmolecularallergy.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12948-020-00117-6>
123. Sheha D, El-Korashi L, AbdAllah AM, El Begermy MM, Elzoghby DM, Elmahdi A. Lipid Profile and IL-17A in Allergic Rhinitis: Correlation With Disease Severity and Quality of Life. *J Asthma Allergy* [Internet]. 2021 Feb;Volume 14:109–17. Available from: <https://www.dovepress.com/lipid-profile-and-il-17a-in-allergic-rhinitis-correlation-with-disease-peer-reviewed-article-JAA>
124. Ciprandi G, De Amici M, Murdaca G, Fenoglio D, Ricciardolo F, Marseglia G, et al. Serum interleukin-17 levels are related to clinical severity in allergic rhinitis. *Allergy*

- [Internet]. 2009 Sep;64(9):1375–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1398-9995.2009.02010.x>
125. Gu ZW, Wang YX, Cao ZW. Neutralization of interleukin-17 suppresses allergic rhinitis symptoms by downregulating Th2 and Th17 responses and upregulating the Treg response. *Oncotarget* [Internet]. 2017 Apr 4;8(14):22361–9. Available from: <https://www.oncotarget.com/lookup/doi/10.18632/oncotarget.15652>
 126. Santomauro DF, Mantilla Herrera AM, Shadid J, Zheng P, Ashbaugh C, Pigott DM, et al. Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic. *Lancet* [Internet]. 2021 Nov;398(10312):1700–12. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673621021437>
 127. Gautam S, Jain A, Gautam M, Vahia V, Grover S. Clinical Practice Guidelines for the management of Depression. *Indian J Psychiatry* [Internet]. 2017;59(5):34. Available from: <http://www.indianjpsychiatry.org/text.asp?2017/59/5/34/196973>
 128. Gautam S, Jain A, Gautam M, Vahia V, Gautam A. Clinical Practice Guidelines for the Management of Generalised Anxiety Disorder (GAD) and Panic Disorder (PD). *Indian J Psychiatry* [Internet]. 2017;59(5):67. Available from: <http://www.indianjpsychiatry.org/text.asp?2017/59/5/67/196975>
 129. Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature* [Internet]. 2008 Oct 15;455(7215):894–902. Available from: <http://www.nature.com/articles/nature07455>
 130. Herr N, Bode C, Duerschmied D. The Effects of Serotonin in Immune Cells. *Front Cardiovasc Med* [Internet]. 2017 Jul 20;4. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcvm.2017.00048/full>
 131. Berger M, Gray JA, Roth BL. The Expanded Biology of Serotonin. *Annu Rev Med* [Internet]. 2009 Feb;60(1):355–66. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.med.60.042307.110802>
 132. Lin S-H, Lee L-T, Yang YK. Serotonin and Mental Disorders: A Concise Review on Molecular Neuroimaging Evidence. *Clin Psychopharmacol Neurosci* [Internet]. 2014 Dec 28;12(3):196–202. Available from: <http://www.cpn.or.kr/journal/view.html?doi=10.9758/cpn.2014.12.3.196>
 133. Renault PF, Hoofnagle JH, Park Y, Mullen KD, Peters M, Jones DB, et al. Psychiatric complications of long-term interferon alfa therapy. *Arch Intern Med* [Internet]. 1987 Sep;147(9):1577–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3307672>
 134. Halaris A, Meresh E, Fareed J, Hoppensteadt D, Kimmons S, Sinacore J. Tumor Necrosis Factor alpha as a biomarker in major depressive disorder. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2012 Sep;26:S1. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159112002097>
 135. Howren MB, Lamkin DM, Suls J. Associations of Depression With C-Reactive Protein, IL-1, and IL-6: A Meta-Analysis. *Psychosom Med* [Internet]. 2009 Feb;71(2):171–86. Available from: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00006842-200902000-00006>
 136. Li Y-C, Chou Y-C, Chen H-C, Lu C-C, Chang D-M. Interleukin-6 and interleukin-17 are related to depression in patients with rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis* [Internet]. 2019 Mar 7; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/1756-185X.13529>
 137. Lee C-H, Giuliani F. The Role of Inflammation in Depression and Fatigue. *Front Immunol* [Internet]. 2019 Jul 19;10. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2019.01696/full>
 138. Elenkov IJ, Chrousos GP. Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory

- cytokines, and autoimmunity. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2002 Jun;966:290–303. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12114286>
139. Chan KL, Cathomas F, Russo SJ. Central and Peripheral Inflammation Link Metabolic Syndrome and Major Depressive Disorder. *Physiology* [Internet]. 2019 Mar;34(2):123–33. Available from: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/physiol.00047.2018>
 140. Ting EY-C, Yang AC, Tsai S-J. Role of Interleukin-6 in Depressive Disorder. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020 Mar 22;21(6):2194. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/6/2194>
 141. Andersson NW, Goodwin RD, Okkels N, Gustafsson LN, Taha F, Cole SW, et al. Depression and the risk of severe infections: prospective analyses on a nationwide representative sample. *Int J Epidemiol* [Internet]. 2016 Feb;45(1):131–9. Available from: <https://academic.oup.com/ije/article-lookup/doi/10.1093/ije/dyv333>
 142. Schuster R, Bornovalova M, Hunt E. The Influence of Depression on the Progression of HIV. *Behav Modif* [Internet]. 2012 Mar 16;36(2):123–45. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0145445511425231>
 143. Rivera Y, Vazquez Santiago FJ. Impact of Depression and Inflammation on the Progression of HIV Disease. *J Clin Cell Immunol* [Internet]. 2016;7(3). Available from: <https://www.omicsonline.org/open-access/impact-of-depression-and-inflammation-on-the-progression-of-hiv-disease-2155-9899-1000423.php?aid=73736>
 144. Morey JN, Boggero IA, Scott AB, Segerstrom SC. Current directions in stress and human immune function. *Curr Opin Psychol* [Internet]. 2015 Oct;5:13–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352250X15001128>
 145. Sokoya T, Steel HC, Nieuwoudt M, Rossouw TM. HIV as a Cause of Immune Activation and Immunosenescence. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2017;2017:1–16. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2017/6825493/>
 146. Deeks SG. HIV Infection, Inflammation, Immunosenescence, and Aging. *Annu Rev Med* [Internet]. 2011 Feb 18;62(1):141–55. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-med-042909-093756>
 147. Sharpe AH, Pauken KE. The diverse functions of the PD1 inhibitory pathway. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2018 Mar 13;18(3):153–67. Available from: <http://www.nature.com/articles/nri.2017.108>
 148. Banerjee H, Kane LP. Immune regulation by Tim-3. *F1000Research* [Internet]. 2018 Mar 14;7:316. Available from: <https://f1000research.com/articles/7-316/v1>
 149. Kared H, Martelli S, Ng TP, Pender SLF, Larbi A. CD57 in human natural killer cells and T-lymphocytes. *Cancer Immunol Immunother* [Internet]. 2016 Apr 5;65(4):441–52. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00262-016-1803-z>
 150. Burgdorf KS, Trabjerg BB, Pedersen MG, Nissen J, Banasik K, Pedersen OB, et al. Large-scale study of Toxoplasma and Cytomegalovirus shows an association between infection and serious psychiatric disorders. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2019 Jan; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159118306998>
 151. Vogelzangs N, de Jonge P, Smit JH, Bahn S, Penninx BW. Cytokine production capacity in depression and anxiety. *Transl Psychiatry* [Internet]. 2016 May 31;6(5):e825–e825. Available from: <http://www.nature.com/articles/tp201692>
 152. Hou R, Garner M, Holmes C, Osmond C, Teeling J, Lau L, et al. Peripheral inflammatory cytokines and immune balance in Generalised Anxiety Disorder: Case-controlled study. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2017 May;62:212–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159117300211>
 153. Vieira MMM, Ferreira TB, Pacheco PAF, Barros PO, Almeida CRM, Araújo-Lima CF, et al. Enhanced Th17 phenotype in individuals with generalized anxiety disorder. *J Neuroimmunol* [Internet]. 2010 Dec 15;229(1–2):212–8. Available from:

- <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165572810003310>
154. Barros PO, Ferreira TB, Vieira MMM, Almeida CRM, Araújo-Lima CF, Silva-Filho RG, et al. Substance P Enhances Th17 Phenotype in Individuals with Generalized Anxiety Disorder: an Event Resistant to Glucocorticoid Inhibition. *J Clin Immunol* [Internet]. 2011 Feb 24;31(1):51–9. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10875-010-9466-6>
 155. Ferreira TB, Kasahara TM, Barros PO, Vieira MMM, Bittencourt VCB, Hygino J, et al. Dopamine up-regulates Th17 phenotype from individuals with generalized anxiety disorder. *J Neuroimmunol* [Internet]. 2011;238(1–2):58–66. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016557281100169X>
 156. Butts CL, Sternberg EM. Neuroendocrine factors alter host defense by modulating immune function. *Cell Immunol* [Internet]. 2008;252(1–2):7–15. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0008874907002638>

ANEXO – Carta de autorização

16/01/2022 01:00

Email – Hugo Oyamada – Outlook

AW: Requested Karger Material

Rights and Permissions <permission@karger.com>

Seg, 20/09/2021 10:39

Para: akirito@hotmail.com <akirito@hotmail.com>

Dear Hugo Oyamada,

Thank you for your email. As to your request, I am pleased to inform you that permission is granted hereby to reprint your article

Oyamada H, A, A, Cafasso M, O, S, D, Vollmer C, M, Alvim F, Lopes L, M, Castro C, Sacramento P, M, Sales M, C, Kasahara T, M, Linhares U, C, Bento C, A, M: Major Depressive Disorder Enhances Th2 and Th17 Cytokines in Patients Suffering from Allergic Rhinitis and Asthma. Int Arch Allergy Immunol 2021. doi: 10.1159/000517478

as a chapter in the printed and electronic version of your **thesis/doctoral dissertation**, provided that proper credit will be given to the original source and that S. Karger AG, Basel will be mentioned.

Please note that this is a non-exclusive permission, hence any further use, edition, translation or distribution, either in print or electronically, requires written permission again as this permission is valid for the above mentioned purpose only.

This permission applies only to copyrighted content that S. Karger AG owns, and not to copyrighted content from other sources. If any material in our work appears with credit to another source, you must also obtain permission from the original source cited in our work. All content reproduced from copyrighted material owned by S. Karger AG remains the sole and exclusive property of S. Karger AG. The right to grant permission to a third party is reserved solely by S. Karger AG.

Thank you for your understanding and cooperation.

Hopefully, I have been of assistance to you with the above.

Kind regards

Samuel Lei

Rights & Permission Manager
ePartner Manager
s.lei@karger.com



S. Karger AG · Allschwilerstrasse 10 · 4009 Basel · Switzerland
+41 61 306 11 11 · karger.com

Follow us on [Facebook](#) · [Twitter](#) · [LinkedIn](#)

Von: permission@karger.com <permission@karger.com>

Gesendet: Sonntag, 19. September 2021 03:07

An: Rights and Permissions <permission@karger.com>

Betreff: Requested Karger Material

<https://outlook.live.com/mail/0/id/AQMkADAwATZiZmYAZC04ZThlLWZiZTAiMDACLTAwCgBGAAADG32HlvvZskGpCUXtILPdwcAAvi7dixNVEGE...> 1/3