

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

“VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA

FACULTATEA DE MEDICINĂ

Departamentul IV – Biochimie și Farmacologie

HOMOROGAN CLAUDIA-ROXANA



TEZĂ DE DOCTORAT

**MARKERI MOLECULARI PENTRU DIAGNOSTICUL ȘI
TRATAMENTUL TULBURĂRII DEPRESIVE MAJORE**

R E Z U M A T

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. MARIAN CĂTĂLIN-VALER

Timișoara

2023

REZUMAT

Dintre toate tipurile de patologii psihiatrice există o preocupare deosebită pentru depresie, având o incidență tot mai mare în rândul populației generale. Se estimează că 3,8% din populația generală suferă de depresie, inclusiv 5,7% dintre persoanele de peste 60 de ani și 5% dintre adulți (4% dintre bărbați și 6% dintre femei) (1). Femeile au cu aproximativ 50% mai multe șanse decât bărbații să sufere de depresie. Mai mult de 10% dintre femeile însărcinate și cele care au născut recent suferă de depresie la nivel global (2). În fiecare an, aproximativ 700.000 de persoane se sinucid și este a patra cea mai frecventă cauză de deces la tinerii cu vârsta între 15 și 29 de ani (1).

Tulburarea depresivă (depresia, așa cum este cunoscută) se caracterizează printr-o tristețe persistentă sau o dispoziție depresivă, pierderea plăcerii (anhedonie) sau a entuziasmului în activități, pentru o perioadă considerabilă de timp. Depresia este diferită de schimbările obișnuite de dispoziție și de sentimentele de zi cu zi, având un impact major asupra tuturor fațetelor vieții, inclusiv a interacțiunilor sociale și a funcționării globale (3).

Pacienții cu depresie majoră au cu 40% până la 60% mai multe șanse decât populația medie de a muri prematur (4), fie din cauza sinuciderii (5), fie din cauza problemelor de sănătate fizică care sunt frecvent ignorate (patologie neoplazică, boli cardiovasculare (6), diabet zaharat, infecția cu virusul HIV etc.).

Cauzele care stau la baza bolilor mintale, în mod specific la baza tulburării depresive, sunt adesea necunoscute. Descoperirile din multe domenii diferite pot fi încorporate în teorii. Tulburările mintale sunt de obicei identificate prin comportamentul, sentimentele, percepțiile sau gândurile unei persoane. Acest lucru poate fi legat de anumite zone ale creierului sau activități, frecvent într-un context social. Atunci când se elaborează un diagnostic, pe lângă partea biologică, trebuie luate în considerare normele societale, credințele culturale, religioase și practicile (7).

În plus, acest tip de patologie duce lipsă de metode adecvate de diagnostic specific și de un tratament curativ, eficient, ducând adesea la episoade recurente ale bolii care reduc semnificativ calitatea vieții acestor pacienți și o scurtează considerabil (8).

Datorită incidenței crescute a patologiei depresive și a riscului ridicat pentru sănătatea publică, cercetările în acest domeniu se desfășoară astăzi intens, reprezentând o temă de cercetare importantă la nivel global. Depresia și autovătămarea/sinuciderea se află printre condițiile prioritare acoperite de programele OMS (1).

Metodele de diagnostic actuale se bazează pe interviul clinic, care ghidează criteriile de diagnostic, bazate pe două sisteme principale de clasificare: DSM-5 (7) și ICD-10 (3). De asemenea, sunt folosite inventare și chestionare, teste de laborator și investigații imagistice, însă nu există metode specifice de diagnosticare.

În acest context, am ales să studiez în cadrul cercetării doctorale această boală, în speranța că voi putea aduce o contribuție care va fi inclusă în arhiva vastă și internațională a cercetării medicale pentru tulburarea depresivă majoră și că datele obținute ar putea fi coroborate cu rezultatele globale, aducând și mai aproape de soluție această problemă importantă, pentru a crește calitatea vieții acestor pacienți, pentru a stabili un diagnostic clar, pentru a preveni și reduce apariția complicațiilor, pentru a reduce nivelul global de morbiditate și mortalitate cauzate de depresia majoră.

În acest sens, am încercat să identificăm noi biomarkeri de diagnostic și tratament din compartimentele sanguine de la pacienți diagnosticați anterior cu tulburare depresivă majoră, utilizând în toate părțile experimentale ale acestui proiect și probe de la indivizi fără depresie majoră sau alte tulburări psihiatrice, pe care am efectuat aceleași analize de cercetare fundamentală, fiind utile pentru comparație (ca martori).

Analizele au fost efectuate într-o manieră multidisciplinară, în sensul că nu s-au limitat la utilizarea unor tehnologii unice, iar speciile moleculare investigate nu aparțineau unor singure clase de molecule, ci au fost studiate specii provenind din material genetic (în special necodante) cum ar fi microARN, care nu este implicat în traducerea proteinelor, prin tehnici de reacție în lanț de polimerizare în timp real (RT-PCR) și microarray, precum și toți metaboliții (din toate clasele - aminoacizi, fosfolipide, amine etc.) din plasmă, exozomi și plasma fără exozomi, prin tehnici moderne de cromatografie lichidă de înaltă performanță cuplată cu spectrometrie de masă (UHPLC/MS). Rezultatele obținute au fost coroborate în paralel cu cele din literatura de specialitate existentă.

Activitatea de cercetare a început cu un review al literaturii de specialitate cu scopul de a revizui în mod critic și sistematic diferențele dintre nivelurile de miARN ale pacienților cu MDD în comparație cu martorii sănătoși, la momentul inițial, înainte și după tratamentul antidepresiv, precum și potențiala relevanță diagnostică și terapeutică a acestora în contextul dezvoltării de noi biomarkeri. Revizuirea literaturii de specialitate a coroborat datele existente în literatură și a confirmat statistic că miR-urile au o acuratețe diagnostică satisfăcătoare în diferențierea pacienților cu tulburare depresivă de indivizii sănătoși. De asemenea, miR-urile au arătat diferențe semnificative statistic înainte și după tratamentul antidepresiv, toate acestea ducând la o mai bună caracterizare și diagnosticare fiabilă a MDD, care ar putea deschide noi orizonturi în domeniul neuropsihiatriei (9).

Cel de-al doilea studiu a avut ca obiectiv principal să investigheze distribuția miR-26a, miR-30c, miR-93, miR-101 și miR-494 între compartimentele sanguine intracelulare și extracelulare care au fost exprimate și distribuite diferențiat în diferite fluide biologice, cum ar fi plasmă, ser, PNBC, exozomi, plasma fără exozomi, la pacienții diagnosticați cu MDD comparativ cu cei sănătoși, și înainte și după tratamentul antidepresiv. Abundența lor relativă a fost evaluată în plasmă, celule mononucleare din sânge periferic, exozomi derivați din plasmă și plasmă fără exozomi ale pacienților cu tulburare depresivă și în aceleași compartimente sanguine ale martorilor sănătoși, și înainte și după tratamentul antidepresiv al pacienților diagnosticați cu tulburare depresivă. Aceste rezultate au fost comparate cu bazele de date existente, precum și cu alte articole publicate în literatura de specialitate pe acest subiect, în vederea evaluării miARN-urilor care pot fi clasificate ca posibili biomarkeri pentru depistarea precoce a tulburării depresive (10).

În cel de-al treilea studiu, cromatografia de lichide de ultra-înaltă performanță în combinație cu spectrometrie de masă [UHPLC-QTOF-[ESI+]-MS] a fost utilizată pentru a efectua profiluri metabolomice nețintite pe probe de plasmă de la pacienții cu tulburare depresivă înainte și după tratamentul cu escitalopram, precum și din probe de plasmă de la voluntari sănătoși, în scopul evaluării funcției lor potențiale de biomarkeri de diagnostic și terapeutici pentru tulburarea depresivă. Metabolomica reprezintă o tehnică emergentă pentru descoperirea simultană a metaboliților circulanți cu niveluri semnificativ modificate în tulburarea depresivă. În acest sens, am observat o scădere a diferitelor clase de molecule precum aminoacizi (triptofan,

prolină), amine (spermină), lizofosfatidilcolină și acetilcarnitină, în probele pacienților diagnosticați cu depresie comparativ cu martorii sănătoși (11).

Toate tehnicile utilizate în acest proiect de cercetare (RT-PCR, UHPLC-QTOF-[ESI+]-MS) se încadrează în categoria tehnicilor moderne de diagnostic, care nu sunt destinate doar a fi minim invazive pentru pacient (necesită doar colectare a probelor biologice), dar și să înlăture dogma universală „one size fits all” prin analiza personalizată a profilului genetic și metabolic, pentru fiecare pacient în parte, care poate deschide noi orizonturi către o înțelegere mai profundă a diagnosticului și tratamentului tulburării depresive majore.

Prezenta teză de doctorat demonstrează că cercetarea într-o manieră multidisciplinară, folosind diverse tehnici și ținând molecule din diverse clase biochimice, având ca scop descoperirea unor biomarkeri specifici pentru tulburarea depresivă, reprezintă un pas înainte spre medicina modernă, personalizată și bazată pe dovezi. Investigarea materialului genetic din fluidul biologic circulant și a diferiților metaboliți ar putea ajuta la înțelegerea mai profundă a mecanismelor tulburării depresive și ar putea reprezenta, de asemenea, noi biomarkeri de precizie pentru diagnosticul precoce și specific, care ar putea duce apoi la un tratament ținut al acestei boli.

REFERINȚE

1. Depressive disorder (depression) [Internet]. [cited 2023 Jun 5]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>
2. Woody CA, Ferrari AJ, Siskind DJ, Whiteford HA, Harris MG. A systematic review and meta-regression of the prevalence and incidence of perinatal depression. *J Affect Disord* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2023 Jun 5];219:86–92. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28531848/>
3. ICD-10 Version:2016 [Internet]. [cited 2022 Jul 15]. Available from: <https://icd.who.int/browse10/2016/en#/V>
4. Pocketbook of Mental Health - Patricia Barkway, Debra Nizette - Google Cărți [Internet]. [cited 2023 Jun 11]. Available from: <https://books.google.ro/books?id=qtvWDwAAQBAJ&pg=PA113&lpg=PA113&dq=major+depression+and+schizophrenia+are+40%25+to+60%25+malignancies,+cardiovascular+diseases,+diabetes&source=bl&ots=0DSDHTnAOX&sig=ACfU3U0VhGDteu0y3-wxuyu26EPcalCbBA&hl=ro&sa=X&ved=2ahUKE>
5. Frank P, Batty GD, Pentti J, Jokela M, Poole L, Ervasti J, et al. Association Between Depression and Physical Conditions Requiring Hospitalization. *JAMA Psychiatry* [Internet]. 2023 May 3 [cited 2023 Jun 11]; Available from: [/pmc/articles/PMC10157511/](https://pmc/articles/PMC10157511/)
6. Ringen PA, Engh JA, Birkenaes AB, Dieset I, Andreassen OA. Increased Mortality in Schizophrenia Due to Cardiovascular Disease – A Non-Systematic Review of Epidemiology, Possible Causes, and Interventions. *Front Psychiatry* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jun 11];5(SEP). Available from: [/pmc/articles/PMC4175996/](https://pmc/articles/PMC4175996/)
7. Diagnostic and statistical manual of mental disorders : DSM-5 : Free Download, Borrow, and Streaming : Internet Archive [Internet]. [cited 2023 Jun 11]. Available from: <https://archive.org/details/diagnosticstatis0005unse/page/100/mode/2up>
8. Smith KM, Renshaw PF, Bilello J. The diagnosis of depression: current and emerging methods. *Compr Psychiatry* [Internet]. 2013 Jan [cited 2023 Jun 11];54(1):1. Available from: [/pmc/articles/PMC5502713/](https://pmc/articles/PMC5502713/)
9. Homorogan C, Nitusca D, Seclaman E, Enatescu V MC. Uncovering the Roles of MicroRNAs in Major Depressive Disorder: From Candidate Diagnostic Biomarkers to Treatment Response Indicators. *Life*. 11((10)):1073.
10. Homorogan C, Enatescu VR, Nitusca D, Marcu A, Seclaman E, Marian C. Distribution of microRNAs associated with major depressive disorder among blood compartments. *J Int Med Res* [Internet]. 2021 [cited 2022 Jul 3];49(4):1–10. Available from: [/pmc/articles/PMC8040584/](https://pmc/articles/PMC8040584/)
11. Homorogan C, Nitusca D, Enatescu V, Schubart P, Moraru C, Socaciu C MC. Untargeted Plasma Metabolomic Profiling in Patients with Major Depressive Disorder Using Ultra-High Performance Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry. *Metabolites*. 11((7)):466.