

Traian Purnichi - Markeri biologici în tulburarea depresivă

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ**

**MARKERI BIOLOGICI ÎN
TULBURAREA DEPRESIVĂ**

**TEZĂ DE DOCTORAT
-REZUMAT-**

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

Prof. Univ. Dr. Dragoș Marinescu

STUDENT-DOCTORAND:

Traian Purnichi

CRAIOVA

2017

CUPRINS

Capitolul I Introducere și importanța problemei

Capitolul II Tulburarea depresivă: forme clinice și diagnostic

2.1 Definiție, forme clinice, nosologie și diagnostic.

2.2 Terapia TD (Terapia farmacologică și alte mijloace terapeutice)

Capitolul III Tulburarea depresivă: date epidemiologice și etiopatogenice

3.1 Date epidemiologice

3.2 Elemente etiopatogenice în tulburarea depresivă

Capitolul IV Tulburarea depresivă secundară și comorbiditățile somatice

4.1 Depresia secundară și principalele comorbidități somatice

4.2.1 Depresia și diabetul zaharat

4.2.2 Depresia și afecțiunile cardiovasculare

4.2.3 Depresia și bolile neurodegenerative

Capitolul V Ipoteza. Obiective. Material și metodă

5.1 Ipoteza de lucru

5.2 Obiectivele cercetării

5.3 Coordonate metodologice (indicatori, lotul, criteriile de includere și excludere)

5.4 Instrumente de lucru (instrumente psihometrice, analizoare și statistică)

Capitolul VI Rezultate

6.1 Caracteristici socio-demografice ale lotului N=100

6.2 Caracteristici clinice ale lotului N=100

6.3 Comorbiditățile somatice (Dx1 și Dx2)

Capitolul VII Discuții

7.1 Analiza statistică a variabilelor pentru definirea potențialilor markeri

7.2 Indicatori Socio-demografici

7.3 Populația studiului

7.4 Indicatori biologici

7.5 Variabilele statistice

Capitolul VIII Concluzii

8.1 Propuneri de utilizare a potențialilor markeri biologici

Bibliografie și listă abrevieri

Anexe

Cuvinte Cheie: depresie, tulburare depresivă, markeri biologici, inflamație, CRP-hs

PARTE GENERALĂ

CAPITOLUL I: INTRODUCERE ȘI IMPORTANȚA PROBLEMEI

Termenul "marker biologic" poate fi definit comprehensiv ca o modificare a unei constante biologice asociată cu tulburarea depresivă (TD) și care ar putea fi folosită pentru a indica prezența și severitatea afecțiunii, dar și a oferi elemente de predictibilitate [1]. Datele din literatură relevă implicarea nivelului neurobiochimic în apariția și evoluția episodului depresiv major (EDM) la nivel: noradrenergic [2], serotoninergic [3,4], acetilcolinergic [8], prin posibila implicare a acidului gama-aminobutiric -GABA- sau a neurokinelor, în special substanța P, prin legăturile sale cu subfamiliile de receptori (NK1, NK2, NK3) are un rol important în modularea răspunsului adaptativ la psiho-stres, fiind înregistrate niveluri crescute ale acestora la pacienții cu tulburare depresivă [18] și scăzute consecutiv terapiei antidepresive [19]. Alte ipoteze etiopatogenice se referă la rolul melatoninei în TD, evidențiat de implicarea anomaliilor de ritm circadian în EDM[20], precum și de implicarea factorilor neurotrofici precum Brain Derived Neurotrophic Factor -BDNF- și teoria neuroplasticității [9]. Ultimele teorii etiopatogenice în EDM integrează și *teoria inflamatorie* pe care o vom exploata prin conexiunile ei cu ceilalți factori și în proiectul de cercetare [21].

În acest context, proiectul de cercetare *Markeri biologici în tulburarea depresivă*, pleacă de la o temă mai amplă, *Valoarea predictivă a indicatorilor biologici în screeningul, diagnosticul și evaluarea depresiei*, și își propune să stabilească o serie de corelații etiopatogenice, clinice și statistice între elementele clinice și o serie de datele paraclinice, cu potențial de indicator al screeningului, diagnosticului și evoluției TD.

CAPITOLUL II: TULBURAREA DEPRESIVĂ:

Definiție, forme clinice, nosologie și diagnostic

Noțiunea de TD este larg utilizată dar mai precis ar trebui să ne referim specific la episodul depresiv major (EDM - pentru a discuta de o încadrare nozologică mai ușor de definit din punct de vedere al categoriilor), incluzând o fenomenologie variată, de la schimbările de dispoziție compatibile cu o viață relativ normală deoarece afectarea funcționalității poate fi minimă, până la manifestări psihotice, ce evoluează atât cu perturbarea stării afective, cât și cu diminuarea posibilităților cognitive, psihomotorii și cognitive, deci pacientul este aproape nefuncțional în nici o sferă (dacă ne referim la o definiție dimensional evolutivă) [23].

În momentul actual TULBURAREA DEPRESIVĂ (TD) se consideră ca fiind compusă din EPISOADE DEPRESIVE MAJORE (EDM unic/prim sau recurent) iar diagnosticul se pune

conform criteriilor ICD-10 (Clasificarea tulburărilor mentale și de comportament, Organizația Mondială a Sănătății) și DSM-IV-TR (Manualul de Diagnostic și Statistică a Tulburărilor Mentale, editat de Asociația Psihiatrică Americană) [28,29]. **Diagnosticul diferențial** al tulburării depresiei se bazează pe utilizarea corectă a criteriilor diagnostice DSM IV TR sau ICD 10, iar intensitatea tulburării se stabilește prin confirmarea impresiei clinice [30]. **Principalele diagnostice diferențiale se realizează față de următoarele tulburări** [28, 29]: tristețea și starea de doliul patologic; distimia; tulburarea de adaptare cu dispoziție depresivă; tulburarea mixtă anxios-depresivă; tulburarea afectivă bipolară cu episod actual depresiv; tulburarea de personalitate tip „borderline”; tulburarea afectivă datorată unei condiții medicale generale, care la rândul ei trebuie diferențiată de comorbiditățile somatice consecutive tulburării depresive majore, în care episodul depresiv poate fi considerat un element etiopatogenic; depresia mascată; consumul de alcool și droguri însoțite de manifestări depresive.

Terapia tulburării depresive

EDM necesită un diagnostic rapid, corect și un tratament eficient din motive: pacienții depresivi au un risc de 2x mai mare de mortalitate decât populația generală, generat de cauze directe, cum ar fi suicidul, de 30x mai frecvent în populația de persoane cu TD [31]. Necesitatea de a trata un EDM, cât mai curând posibil, pentru a evita depresia cronică și direcționarea în funcție de remisiune completă reprezintă un obiectiv major pentru tratamentul terapeutic eficient al pacienților depresivi[31]. Cele mai bune rezultate pe atingerea și menținerea remisiei de calitate pe termen lung le-au avut terapiile combinate (farmacoterapie și psihoterapie) [32].

În acest model, celor trei faze de evoluție ale bolii îi corespund cele trei perioade de tratament astfel: (1) faza acută corespunde perioadei de la inițierea tratamentului până la remisie, (2) faza de continuare a tratamentului corespunde perioadei în care remisia este stabilizată, și (3) faza de menținere este una profilactică, privind apariția de noi episoade de depresie sau de suicid. Perioada acută durează 6-12 săptămâni, perioada de menținere, cel puțin 6 luni după obținerea remisiunii și are ca obiective prevenirea recăderilor sau a recurenței, reabilitarea și monitorizarea de durată a remisiunii[32]. Vorbim de recuperare după episoade atunci când pacientul a fost asimptomatic pentru aproximativ 6 luni. Termenul de “recuperare” se folosește doar pentru episoade individuale ale bolii și nu implică că pacientul ar fi ferit de recurențe [34]. Opțiunile terapeutice urmează cele trei abordări standard de tratament al depresiei: farmacoterapia, psihoterapia, terapia cu lumină și terapiile neurostimulatoare. În clasificarea WHO, intitulată Anatomical Therapeutic Chemical Classification System (ATC),

pentru clasificarea medicamentelor și altor produse, codul N06 este rezervat psihoanalepticelor. N-ul arată apartenența antidepresivelor la medicația sistemului nervos.

Alte mijloace terapeutice ar fi reprezentate de Psihoterapii și Terapiile de Neurostimulare: Terapia cu electroșocuri (ECT), Stimulare Transcranială Magnetică (TMS), Stimulare cerebral profundă (Deep brain stimulation – DBS) și Stimularea nervului Vag (VNS). Abordările psihoterapeutice actuale s-au dezvoltat și rafinat în funcție de cultura și particularitățile populației-țintă, fiind forțate să facă față altor tipuri de conflicte intrapsihice condiționate de potențialul alienant al vieții moderne [33]. Sunt folosite mai multe tipuri de psihoterapie, fiecare cu ratele de răspuns și limitările metodei [30].

CAPITOLUL III - TULBURAREA DEPRESIVĂ: DATE EPIDEMIOLOGICE ȘI ETIOPATOGENICE

Date epidemiologice

Momentan, EDM este principala cauză de dizabilitate, prezenteism și absenteism la nivel global [25]. Mai mult, TD este considerată în primele 10 cauze de mortalitate în întreaga lume, fiind responsabilă de aproximativ 4 % dintre decesele de cauză medicală [24]. Incidența TD este între 80 și 200/100.000/an la populația de sex masculin și între 250 și 7800/100.000/an la femeii, iar prevalența în țările occidentale este între 1,8 și 3,2% la bărbați și între 2 și 9,3 % la femeii [39].

Elemente etiopatogenice în tulburarea depresivă

Modelele etiopatogenice teoretizate pentru TD susțin o etiopatogenie multifactorială, în care se disting numeroase verigi. Modelul genetic, se bazează pe studiile care au obiectivat riscul pentru depresie prin deficit de sinteză presinaptică (valorile triptofanului liber, transporterii serotoninici) și semnalizare post-sinaptică (receptorii 5HT) pentru serotonină [2], fiind considerați indicatori de risc genetic ai disfuncției serotoninergice din depresie

Abordarea multisistemică a depresiei permite evaluarea corectă a factorilor etiopatogenici multipli angrenați în patologia depresivă, a punctelor nevralgice ce nu sunt rezolvate până în momentul actual din punct de vedere terapeutic (risc neurodegenerativ, disfuncția hematoencefalică, perfuzia vasculară etc.) și căutarea unor markeri valizi de tip biologic ce pot fi utilizați cu ușurință și costuri relativ reduse, care să ofere indicații asupra stadiului evolutiv al bolii (markerii disfuncției endoteliale, markerii hiperactivității proinflamatorii, perturbarea funcției imunitare, hiperactivitatea axei H-H-C-S)[9]. Modelul neurobiochimic, în strânsă corelare cu psihofarmacologia tulburării depresive, medicația antidepresivă având rolul corector pentru una, două sau trei linii de neurotransmițători și reechilibrarea funcționării sinaptice[9]. Neuroprotecția, neuroplasticitatea și neurogeneza au putut fi corelate cu ritmurile

circadiene, nucleul suprachiasmatic și melatonina fiind veritabili cenzori ai acestei activități de tip celular. Modelul tulburării depresive sezoniere a stat la baza studiilor neurobiologice privind corelarea mecanismelor tulburării depresive și influența ritmurilor circadiene asupra dezechilibrării sau echilibrării funcționale a circuitelor cerebrale implicate în etiopatogenia depresiei. În această perspectivă, terapia prin lumină (light therapy) a făcut “istorie”, dar excesul excitării luminoase a determinat activări glutamatergice secundare și a diminuat mecanismele de neuroplasticitate și neurogeneză. Pornind de la aceste observații, se poate susține că echilibrul circuitelor cortico-subcortice ce implică amigdala cerebrală, hipocampul, cortexul cingulat și cortexul frontal pot fi reechilibrate numai printr-o menținere a raportului funcțional între factorii displastici (excitotoxici) și cei proneurogenetici [9, 31].

Conservarea raportului neuroplasticitate – neurogeneză – displasticizare, devine o țintă importantă a strategiilor terapeutice pentru conservarea conectivității între principalele structuri cerebrale implicate în depresie (cortexul prefrontal, cortexul cingulat anterior, amigdala cerebrală și hipocamp). Diminuarea volumului amigdalei cerebrale a putut fi observată atât în neuroimaging, cât și în studiile post-mortem la cazurile diagnosticate drept depresie cu rezistență terapeutică [9].

CAPITOLUL IV: TULBURAREA DEPRESIVĂ SECUNDARĂ ȘI COMORBIDITĂȚILE SOMATICE

Depresia și diabetul zaharat: TD asociază frecvent diabetul zaharat tip II, asociere comorbidă ce influențează semnificativ nivelul de reabilitare al pacienților cu acest diagnostic. Prevalența dizabilităților funcționale cauzate de asocierea între tulburarea depresivă și diabetul zaharat este apreciată la următoarele valori [72]: dizabilități funcționale cauzate de tulburarea depresivă majoră: 51.3%; dizabilități funcționale cauzate de diabet: 58.1%; dizabilități funcționale cauzate de asocierea diabetului cu tulburarea depresivă majoră: 77.8% . Asocierea comorbidă între depresie și diabetul zaharat crește semnificativ rata mortalității pentru toate condițiile patologice medicale sau neurologice [72].

Mecanismele implicate în evaluarea riscului micro- și macrovascular în comorbiditatea depresie – diabet zaharat tip II pot fi corelate cu indicatori biologici: vulnerabilitatea cronică a axei hipotalamo-hipofizo-cortico-suprarenală cu niveluri înalte de cortizol și reducerea sensibilității la insulină; implicarea sistemelor imunitare cu posibili markeri biologici de periferie (creșterea nivelului de lipide, a colesterolului liber și conjugat); factorii proinflamatori (creșterea fibrinogenului și a proteinei C reactive) și a citokinele (IL-6, TNF- α) [74].

Depresia și afecțiunile cardiovasculare: depresia poate fi considerată ca un factor de prognostic nefavorabil la pacienții cu factori de risc pentru boală coronariană sau la cei care au deja o boală coronariană confirmată [75]. Prevalența tulburării depresive la pacienții cu boală cardiovasculară este estimată la aproximativ 20% [76], apreciindu-se că depresia este de trei ori mai frecventă la pacienții care au suferit un infarct miocardic recent, decât în populația generală. EDM este un factor independent de risc pentru evoluția infarctului miocardic, factorii biologici și comportamentali fiind superpozabili într-o mare măsură pentru ambele afecțiuni, interconționându-se. Aceste date sunt valabile și pentru asocierea TD cu accidentele vasculare cerebrale. Mai mult, medicația utilizată în cardiologie poate determina simptome depresive. Totuși trebuie menționat că betablocantele produc accentuarea depresiei, sindromul de fatigabilitate cronică și disfuncție sexuală, diminuând semnificativ complianța și aderența la medicație, totuși nu trebuie uitate beneficiile cardiologice [77, 78].

Depresia în bolile neurodegenerative

Bolile neurodegenerative prezintă frecvent manifestări depresive în perioada prodromală, depresia fiind considerată ca și un factor precipitant al invaziei neurodegenerative. De exemplu în Boala Parkinson se prezintă în faza prodromală simptome depresive evidente, iar după confirmarea diagnosticului, depresia este întâlnită la 20-40% dintre pacienți și are forme rezistente la tratament sau care au simptome reziduale (85).

PARTEA SPECIALĂ

CAPITOLUL V: IPOTEZA. OBIECTIVE. MATERIAL ȘI METODĂ

Devine necesară identificarea unui marker biologic al EDM, care să fie înalt sensibil și specific, care să poată fi efectuat cu un cost rezonabil și care să se poată efectua împreună cu analizele de rutină și astfel să putem identifica persoanele cu simptomatologie depresivă (care nu au critica bolii sau care o au dar nu se prezintă în serviciile de specialitate pentru diagnostic și tratament din cauza stigmei sau a altori factori) sau EDM nedagnosticat pentru a le recomanda un consult psihiatric în urma căruia să avem un diagnostic și un tratament.

Deoarece sistemul imun și sistemul nervos central au o comunicare bidirecțională iar activarea markerilor inflamatori este dovedită în EDM ne-am propus să investigăm această arie de markeri biologici [50]. Acest lucru ar fi posibil deoarece această proteină este secretată de endoteliu vascular iar relația endoteliului cu bariera hemato-encefalică, spațiul perivascular și SNC este mult mai strânsă față de CRP care este secretată hepatic sau de restul interleukinelor sau citokinelor secretate în periferie[50]. Această relație bidirecțională între SNC și sistemul

imun via endoteliu pare să fie confirmată și de rata mare a depresiilor în cadrul bolilor cardiovasculare, acestea fiind și cele mai frecvente comorbidități [80].

Până acum markeri biologici a căror modificare s-au corelat semnificativ cu tulburarea depresivă au fost [90]: Cortizolul (date variabile), TNF α (studii limitate), IL 2, IL 6, IL 10 (date contradictorii), Proteina C reactivă (date contradictorii) și CRP-hs (date limitate).

Proteina C reactivă (CRP) este o proteină ce nu se secretă în condiții normale, ea fiind secretată doar în timpul procesului inflamator. CRP apare în fluxul sanguin ca răspuns la acțiunea citokinelor precum interleukina – 6 (IL6). CRP este teoretic inexistentă în fluxul sanguin al persoanelor sănătoase. CRP este unul dintre cei mai sensibili markeri biologici ai inflamației acute. Totuși CRP nu are o specificitate bună deși este foarte sensibilă [91].

Sunt două modalități de evaluare a CRP. **Prima evaluează CRP la modul general** pentru monitorizarea proceselor inflamatorii, pentru a detecta infecții sau pentru a urmări rejecția transplantului sau a grefei. Valorile raportate sunt între 0.3 și 20mg/dl sau 3 până la 200mg/l. **Cea de a doua metodă este una de înaltă sensibilitate (proteina C reactivă de sensibilitate înaltă sau CRP-hs)** ce poate detecta valori scăzute ale proteinei și care sunt un marker al riscului de evenimente cardiovasculare. Sensibilitatea este de la 0.01mg/Dl (0.10mg/l). CRP-hs este deci utilă pentru evaluarea riscului de a dezvolta un infarct miocardic la pacienții care au sindrom coronarian acut[91]. Asociația Americană de Cardiologie (American Heart Association -AHA) și Centrul pentru Prevenție și Controlul Bolilor (Centers for Disease Control and Prevention-CDC) au formulat următoarele recomandări pentru testarea hs-CRP în scopul estimării riscului cardiac: -La pacienții cu inflamație sistemică,cu semne de infecție sau traumatisme,nu trebuie efectuatătestarea din cauza rezultatelor fals pozitive; -Pentru evaluarea riscului cardiovascular în mod optim, se recomandă a se folosi valoare medie a testării hs-CRP. Această valoare medie se obține din minim 2 valori măsurate la un interval de 2 săptămâni.Dacă la una dintre determinari se depisteaza un nivel> 10 mg/L trebuie suspectată o cauza inflamatorie iar testarea va fi repetata peste alte 2 săptămâni; - Persoanele la care calcularea markerilor standard a estimat un risc moderat (De exemplu: un risc de 10-20% de a dezvolta afecțiuni cardiovasculare in urmatorii 10 ani) iar medicul dorește informații suplimentare pentru a recomanda tratamentul preventiv optim, vor beneficia cel mai mult de această testare; -În prevenția secundară,rolul hs-CRP (De exemplu: la pacienții deja diagnosticați cu afecțiuni cardiovasculare) este limitat. Motivul principal în acest caz este generat de faptul că intervențiile trebuie sa fie agresive,indiferent de valorile hs-CRPdeci evaluarea acestui marker

biologic nu influențează deciziile terapeutice; -Evaluarea hs-CRP nu trebuie să se substituie markerilor deja standardizați ai riscului cardiovascular ci reprezintă un element adițional cu beneficii nete menționate mai sus. Tocmai de aceea nu se recomandă screening-ul întregii populații adulte folosind hs-CRP.

Grupele de risc sunt definite astfel în funcție de CRP-hs [91]:

- ✓ ***risc redus:*** sub 1.0 mg/L
- ✓ ***risc mediu:*** de la 1.0 până la 3.0 mg/L
- ✓ ***risc crescut:*** peste 3.0 mg/L

Obiectivul principal al cercetării este de a stabili nivelul de validitate pe care Proteina C reactivă înalt specifică/sensibilă (PCR-hs/hs-CRP) îl poate avea ca marker biologic prognostic pentru tulburarea depresivă și de a evalua fiabilitatea și precizia sa în această calitate.

Obiectivul secundar al cercetării este de a identifica, dacă este posibil și alți posibili markeri biologici ai tulburării depresive și de a corela posibilele valori cu severitatea simptomatologiei depresive.

Mod de lucru pentru determinare CRP-hs [91]:

Cercetarea de față este reprezentată de un studiu prospectiv și naturalistic asupra unui lot de 100 persoane care s-au prezentat la ambulatoriul INGG Ana Aslan în intervalul de timp desemnat (1 Feb- 30 Iunie 2016). Constituirea lotului de studiu s-a realizat pe baza consimțământului informat, în conformitate cu normele etice de respectare a confidențialității informațiilor și de anonimizare a identității pacientelor în baza de date și după obținerea aprobărilor necesare din partea Comisiilor de Etică ale I.O.S.U.D. U.M.F. din Craiova, precum și a unui protocol de colaborare cu INGG Ana Aslan și Innomedica.

Informare și pregătire pacient cu semnare de consimțământ informat. Proba de sânge va fi recoltată din ***sângele venos conform procedurii standard***. Recipient în care se va face recoltarea va fi în ***vacutainer fara anticoagulant*** cu sau fără gel separator. Volumul ***minim al probei va fi de 0.5 mL*** ser. Prelucrarea necesară după operațiunea de recoltare va fi ***centrifugarea pentru a separa serul***. Cauze posibile de respingere a probei pot fi: specimene intens hemolizate sau intens lipemice. Stabilitatea probei: serul este stabil 3 zile la temperatura camerei; 8 zile la 2-8°C; timp îndelungat (12-24 luni) la -20°C. În cazul studiului de față serurile sau păstrate la -20°C și s-au lucrat la sfârșitul recoltărilor în două loturi. ***Metoda folosită în***

studiul de față a fost latex–imunoturbidimetrie iar limita de detectie a fost de 0.15 mg/L. Pentru valorile > 10 mg/L s-a luat în considerare cauze de origine non-cardiovasculară.

Am luat în calcul și principalele limite și interferențe posibile deoarece creșterile valorilor hs-CRP pot fi nespecifice și de aceea trebuie interpretate numai în contextul clinic al pacienților. Mai mult, în cazul unor valori mari s-a repetat efectuarea determinării. [91, 94, 95].

Scala HADS (scală cu autoadministrare – care va putea fi completată automat pe o tabletă HP grație unui software inovator dezvoltat împreună cu Innomedica și care comunică automat cu baza de date). Au existat și versiuni printate ale acestei scale pentru pacienții care doreau să participe la cercetare dar nu doreau să completeze datele pe o tabletă. Pacienții care au obținut scoruri crescute pe scala HADS pe depresie sau pe anxietate au avut posibilitatea de a se programa la un consult psihiatric gratuit pentru a fi diagnosticați conform criteriilor ICD-10 și/sau DSM IV TR sau pentru a se infirma diagnosticul. Studiul s-a desfășurat în intervalul 1 Februarie 2016 – 30 Iunie 2016 în cadrul policlinicii INGG Ana Aslan din București.

S-au măsurat și următoarele variabile biologice: hemoleucograma, GGT, glicemie, colesterol total, trigliceride, TSH, fibrinogen, VSH, CRP și CRP-hs.

Instrumente psihometrice și analizoare

1. Scala de autoevaluare episodului depresiv major **Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)**. Evaluarea depresiei în studiile clinice necesită o etalonare obiectivă iar scala HADS permite o cuantificare de bună calitate a impresiei clinice conform Zigmond AS și Snaith RP din 1983 fiind recunoscută pentru fidelitatea și validitatea sa conform Bjelland I din 2002 [43, 44].
2. Teste paraclinice: Proteina C reactiva și proteina C reactivă cu sensibilitate înaltă– CRP-HS plus toate analizele uzuale pe care și le efectuează pacienții.
3. Konelab 30i- cu validare de metodă pentru a lucra CRP, CRP-HS și restul analizelor imunologice și Biochimice.
4. Celltac F microsed- pentru lucrul VSH.
5. Cuadata 2001 - pentru lucru fibrinogen.
6. Aia 360 - pentru lucrul hormonilor tiroidieni.
7. Cuvete și pipete automate mono canal cu volum variabil (5-50 μl / 50-200 μl).
8. Reactivi CRP și CRP-HS plus control 2ml pentru CRP-HS validare metodă.

Pentru analiza datelor am folosit programul Microsoft Excel (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA), împreună cu add-on-ul XLSTAT 2014 pentru MS Excel (Addinsoft SARL, Paris, Franța) și programul IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Corporation, Armonk, NY,

USA). Datele obținute inițial le-am înregistrat în fișierele Microsoft Excel, apoi le-am prelucrate statistic, în vederea analizării relațiilor dintre datele clinice și paraclinice ale pacienților.

CAPITOLUL VI: REZULTATE

Vârsta medie a lotului a fost de 67 de ani, medie ridicată față de populația generală dar explicabilă deoarece studiul a avut loc în ambulatoriul Institutului Național de Geriatrie și Gerontologie și tot din această cauză este normal ca majoritatea celor au venit la analize să fie pensionari. Hemoleucograma și gama-glutamiltranspeptidaza (GGT) au fost la 76% din pacienți în limita normalului. Colesterolul și trigliceridele fac parte din evaluarea profilului lipidic iar acesta reprezintă un grup de teste folosite pentru determinarea riscului de boală coronariană au avut valori patologice în 46% din cazuri, respectiv 32% [97]. Hormonul de stimulare tiroidiană (TSH) a fost mai mare de 4,3ng/dl în 11% din cazuri. Markerii inflamatori luați în calcul, înafara bine înțeles de CRP-HS, au mai fost: CRP, fibrinogen și VSH-ul. Majoritatea pacienților, fiind în vârstă avea cel puțin un diagnostic, doar 9% din totalul lotului nu sufereau de nici o patologie. Din cei 91% pacienți care aveau un diagnostic principal 53% nu aveau diagnostic secundar. 38% din pacienți aveau cel puțin două comorbidități somatice. 47% din pacienții lotului sufereau de o boală cardiovasculară, ceea ce este peste media întâlnită în literatura de specialitate dar este explicabil deoarece vârsta medie a lotului a fost una înaintată. Cel mai frecvent diagnostic secundar în lotul de studiu a fost acela de boli metabolice (diabet zaharat și dislipidemii) deoarece 15% din ei aveau acest diagnostic secundar. Asocierea celor două patologii constituie un element agravant din punct de vedere al complicațiilor evolutive, cât și al consecințelor directe asupra managementului afecțiunilor, prin non-aderență terapeutică și comportamente de risc. Mai mult, 10% din pacienții lotului au avut un diagnostic secundar de boală cardiovasculară asociat diagnosticului principal, fiind considerați cu risc crescut de morbi-mortalitate.

CAPITOLUL VII: DISCUȚII

Analiza statistică a variabilelor pentru definirea potențialilor markeri

Rezultatele obținute la testele **Shapiro-Wilk** și **Anderson-Darling** pentru toți parametri măsurați sau înregistrați în această cercetare arată ca majoritatea variabilelor nu prezintă distribuție Gauss, iar din această cauză vom folosi teste neparametrice. Deviația standard pentru parametri generali analizați în raport cu scorurile HADS-A și HADS-D variază în cadrul lotului între un minim de 12.46 pentru vârstă și un maxim de 60.45 pentru nivelul trigliceridelor. Pentru

markeri inflamatori deviația standard cea mai mică este în cadrul valorilor TSH-ului cu 1.48, urmată de valoarea CRP cu 3.16 și de CRP-HS cu 4.48. Se poate observa în cadrul tabelului 23 că cea mai mare valoare a deviației standard este pentru fibrinogen.

Scala HADS este compusă din 14 itemi din care 7 sunt folosiți pentru evaluarea simptomelor depresive și 7 sunt pentru evaluarea simptomelor anxioase. Un punctaj mai mare de 8 pentru fiecare domeniu indică un risc crescut pentru depresie sau anxietate. Variația globală a scorurilor a fost între 2 și 34 de puncte cu o mediană de 17 puncte. Cu riscul de anxietate se corelează semnificativ statistic doar valorile CRP și CRP-HS iar pentru estimarea riscului de depresie, singuri indicatori biologici care se corelează semnificativ statistic sunt CRP, CRP-hs, VSH, fibrinogen și în mod interesant vârsta pacienților (analiza Mann-Whitney). Matricea de corelație (tip rho Spearman) deja ne arată care sunt primii markeri ce se pot corela cu simptomatologia depresivă obiectivată prin scala HADS .

Variabila	Varstă	GGT	Glicemie	Colesterol	Trigliceride	Fibrinogen	VSH	TSH	CRP	CRP HS	HADS- global	HADS-A	HADS-D
Varstă		0.000 (0.997)	0.109 (0.281)	-0.131 (0.195)	-0.174 (0.083)	0.323 (0.001)	0.058 (0.568)	-0.016 (0.871)	0.185 (0.065)	0.296 (0.003)	0.315 (0.001)	0.168 (0.095)	0.461 (0.000)
GGT	0.000 (0.997)		0.420 (< 0.0001)	0.119 (0.240)	0.464 (< 0.0001)	0.110 (0.274)	0.151 (0.133)	0.125 (0.215)	0.079 (0.432)	0.154 (0.125)	0.120 (0.233)	0.061 (0.543)	0.144 (0.153)
Glicemie	0.109 (0.281)	0.420 (< 0.0001)		0.075 (0.455)	0.457 (< 0.0001)	0.116 (0.250)	-0.105 (0.298)	0.010 (0.918)	-0.082 (0.414)	0.006 (0.949)	0.018 (0.860)	0.026 (0.795)	0.017 (0.868)
Colesterol	-0.131 (0.195)	0.119 (0.240)	0.075 (0.455)		0.394 (< 0.0001)	0.082 (0.414)	0.246 (0.014)	0.043 (0.673)	0.044 (0.660)	0.002 (0.987)	-0.014 (0.888)	-0.025 (0.804)	-0.012 (0.904)
Trigliceride	-0.174 (0.083)	0.464 (< 0.0001)	0.457 (< 0.0001)	0.394 (< 0.0001)		0.050 (0.620)	0.165 (0.100)	0.108 (0.283)	-0.049 (0.628)	0.080 (0.426)	-0.100 (0.321)	-0.062 (0.540)	-0.147 (0.143)
Fibrinogen	0.323 (0.001)	0.110 (0.274)	0.116 (0.250)	0.082 (0.414)	0.050 (0.620)		0.514 (< 0.0001)	0.110 (0.276)	0.391 (< 0.0001)	0.381 (0.000)	0.303 (0.002)	0.183 (0.069)	0.360 (0.000)
VSH	0.058 (0.568)	0.151 (0.133)	-0.105 (0.298)	0.246 (0.014)	0.165 (0.100)	0.514 (< 0.0001)		0.139 (0.166)	0.383 (< 0.0001)	0.385 (< 0.0001)	0.251 (0.012)	0.139 (0.167)	0.320 (0.001)
TSH	-0.016 (0.871)	0.125 (0.215)	0.010 (0.918)	0.043 (0.673)	0.108 (0.283)	0.110 (0.276)	0.139 (0.166)		0.036 (0.720)	0.097 (0.337)	0.138 (0.170)	0.172 (0.087)	0.052 (0.608)
CRP	0.185 (0.065)	0.079 (0.432)	-0.082 (0.414)	0.044 (0.660)	-0.049 (0.628)	0.391 (< 0.0001)	0.383 (< 0.0001)	0.036 (0.720)		0.415 (< 0.0001)	0.358 (0.000)	0.228 (0.023)	0.445 (< 0.0001)
CRP HS	0.296 (0.003)	0.154 (0.125)	0.006 (0.949)	0.002 (0.987)	0.080 (0.426)	0.381 (0.000)	0.385 (< 0.0001)	0.097 (0.337)	0.415 (< 0.0001)		0.347 (0.000)	0.228 (0.023)	0.406 (< 0.0001)
HADS- global	0.315 (0.001)	0.120 (0.233)	0.018 (0.860)	-0.014 (0.888)	-0.100 (0.321)	0.303 (0.002)	0.251 (0.012)	0.138 (0.170)	0.358 (0.000)	0.347 (0.000)		0.913 (< 0.0001)	0.802 (< 0.0001)
HADS-A	0.168 (0.095)	0.061 (0.543)	0.026 (0.795)	-0.025 (0.804)	-0.062 (0.540)	0.183 (0.069)	0.139 (0.167)	0.172 (0.087)	0.228 (0.023)	0.228 (0.023)	0.913 (< 0.0001)		0.513 (< 0.0001)
HADS-D	0.461 (< 0.001)	0.144 (0.153)	0.017 (0.868)	-0.012 (0.904)	-0.147 (0.143)	0.360 (0.000)	0.320 (0.001)	0.052 (0.608)	0.445 (< 0.0001)	0.406 (< 0.0001)	0.802 (< 0.0001)	0.513 (< 0.0001)	

Matricea de corelație Spearman

Indicatori biologici

Matricea de corelație ne arată care sunt primii markeri ce se pot corela cu simptomatologia depresivă obiectivată prin scala HADS. *Pentru CRP, valoarea coeficientului de corelație rho*

Spearman a fost 0,2278, ce corespunde unui nivel de semnificatie $p=0,0227 < 0,05$, iar pentru CRP-HS coeficientul rho a fost 0,2281, ceea ce corespunde unei valori $p=0,0228 < 0,05$.

Scorul HADS-D s-a corelat si cu alti markeri ai inflamatiei, cu fibrinogenul si valoarea VSH, valorile coeficientilor de corelatie rho Spearman fiind 0,3600 pentru fibrinogen ($p=0,0023 < 0,05$), respectiv 0,3202 pentru VSH ($p=0,0121 < 0,05$), corelatiile fiind, si in aceste cazuri, direct proportionale, adica *scorul HADS-D este mai mare la pacientii la care identificam valori crescute ale fibrinogenului sau VSH-ului (evident, existand si o corelatie directa intre cei doi markeri inflamatori, $\rho=0,514$, corespunzand unei valori $p<0,001$, inalt semnificativa statistic, cum se poate observa din tabelul 36).*

CRP s-a dovedit un marker inflamator mult mai fiabil pentru evaluarea anxietatii, diferenta dintre pacientii cu scor HADS-A \leq 8 si cei cu scor HADS-A $>$ 8 fiind semnificativa statistic, $p=0,026<0,05$, valorile CRP fiind mai mari pentru cei cu scoruri crescute pe subscala HADS-A.

CRP-HS identifica o diferenta mai clara intre pacientii cu scor HADS-A \leq 8 si cei cu scor HADS-A $>$ 8, rezultatul testului Mann-Whitney fiind semnificativ statistic, $p=0,011<0,05$, valorile CRP-HS fiind mai mari pentru cei cu scoruri crescute pe subscala HADS-A.

Pacientii care au avut valori crescute ale HADS-D sunt mai in varsta decat cei cu valori mai scazute, in medie avand 73,52 ani, fata de 63,93, diferenta fiind inalt semnificativa statistic ($p<0,001$). Acest rezultat este in concordanta cu corelatia observata intre HADS-D si varsta, prin coeficientul rho Spearman= $0,4612$, care corespunde unei valori $p<0,001$, inalt semnificative statistic.

Ca si in cazul subscalei HADS-A, si pentru HADS-D s-a dovedit ca CRP si CRP-HS sunt niste markeri mult mai sensibili, pentru ambele variabile inregistrand diferente inalt semnificative intre pacientii cu scor HADS-D \leq 8 si cei cu scor HADS-D $>$ 8, rezultatul testului Mann-Whitney fiind mai mic decat pragul de 0,001. Totuși, la testul Chi pătrat doar doar ipoteza conform căreia CRP-HS poate evalua riscul de depresie a fost validă (p Chi pătrat a fost 0,004).

Variabilele statistice și discuții

Am analizat relatiile dintre nivelurile scorurilor inregistrate pe subscalele psihometrice utilizate si nivelurile prag propuse in literatura pentru variabilele demografice si constantele biologice inregistrate, pentru a vedea daca acestea sunt relevante in patologia studiata in lucrarea de fata. Pentru aceasta, am efectuat testul Chi patrat pentru tabelele de incidenta generate prin analiza incrucista a HADS-A, respectiv HADS-D, cu fiecare parametru in parte. Din pacate,

acest tip de analiza s-a dovedit mai puțin sensibilă decât cea efectuată prin testul Mann-Whitney, dintre variabilele biologice doar riscul evaluat prin valorile CRP-HS pentru pacienții cu scor HADS-D \leq 8 și cei cu scor HADS-D $>$ 8 având o semnificație statistică (p Chi-pătrat=0,004 $<$ 0,05).

Dacă vorbim despre compararea datelor unor studii pe markeri inflamatori și depresie pe populații cu vârstă înaintată trebuie să menționăm și studiul doamnei doctor Heiki Luukinen ce a avut ca obiectiv studierea relației dintre valoarea CRP-hs și incidența depresiei la 1113 vârstnici din țările scandinave [116]. În acestă valoare mare a CRP-hs se corelează semnificativ cu simptomatologia depresivă evaluată folosind scala Zung (Zung Rating Scale) indiferent de comorbidități sau de sex [116]. Și studiul doamnei doctor Marian L. Valter efectuat pe 390 de pacienți europeni folosind măsurarea CRP-hs și a chestionarului PH-Q8, confirmă CRP-hs ca un biomarker pentru depresie, indiferent de sex [117].

CAPITOLUL VIII: CONCLUZII

1. **Obiectivul primar** al studiului a fost atins deoarece am reușit să demonstrăm faptul că **CRP-HS poate fi utilizat ca biomarker pentru a determina riscul de depresie**. În lotul studiat am determinat următoarele: 26% din pacienți au avut valori CRP-HS normale cu risc cardiovascular minor, 28% au avut risc mediu și 46% risc major. Variația valorilor CRP-HS în lot a fost mare, între 0,01mg/L și 18,57 mg/L. Valoarea p conform analizei Mann-Whitney pentru anxietate a fost de 0,106 și pentru depresie de 0,0001. Valoarea rho Spearman pentru riscul de anxietate a fost de 0,028 și pentru cel de depresie de 0,0001. Totuși la analiza chi-pătrat doar valoarea semnificației statistice a validității teoriei pentru depresie a fost validă (0,004).

2. **Obiectivele secundare** au fost atinse parțial deoarece ceilalți parametri monitorizați din punct de vedere global nu se corelează toți cu depresia dar valoarea CRP, CRP-HS, VSH și fibrinogenului se corelează semnificativ statistic cu severitatea depresiei măsurată prin scala HADS.

Propuneri de utilizare a potențialilor markeri biologici

Datele obținute vor putea fi folosite inițial pentru replicarea studiului pe un lot mai mare și mai divers în scopul validării markerilor biologici ai depresiei identificați în lucrarea de față pentru întreaga populație. Acești markeri, precum CRP HS pentru riscul de depresie, vor putea fi folosiți și în alte cercetări științifice sau chiar în clinică. După efectuarea acestui pas, acești markeri vor putea fi folosiți ca metodă de screening al episodului depresiv major în timpul analizelor de rutină.

BIBLIOGRAFIE

1. Lee HY, Kim YK. Biological Markers and Genetic Factors of Major Depressive Disorder in Mood Disorders, book edited by Nese Kocabasoglu, ISBN 978-953-51-0959-4, Published: January 23, 2013.
2. Stahl SM, Stahl's Essential psychopharmacology 4th edition, ISBN978-1-107-02598-1, Cambridge University press, 2014, 1-52, 237-284.
3. Van Praag HM, de Haan S. Central serotonin metabolism and frequency of depression. *Psychiatry Res.* 1979, 1, 219–224
4. Asberg M, Bertilsson L, Martensson B. CSF monoamine metabolites, depression, and suicide. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* 1984, 39, 87–97.
5. Owens MJ, Nemeroff CB. Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. *Clin Chem*; 1994, 40:288-295.
6. Jumerson DC. Et al, Role of the dopamine mechanism in the affective disorder. In *Psychopharmacology: The third generation of progress.* Raven Press, New York; 1987, 505-511.
7. Drevets WC. Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features. *Curr Opin Neurobiology*; 2001, 1: 240-249.
8. Janowsky DS, Davis JM, Khaled El-Yousef M, Sekerke HJ. A Cholinergic-Adrenergic Hypothesis of Mania and Depression, *The Lancet*, Volume 300, Issue 7778, Pages 632 - 635, 23 September 1972.
9. Marinescu D, Udriștoiu T Ghiduri de terapie farmacologică în tulburările psihiatrice majore, Editura Medicală Universitară, Craiova, 2012.
10. Brambilla P, Perez J, Barale F et al., 2003. GABA-ergic dysfunction in mood disorders. *Mol Psychiatry*;8:712-737.
11. Knable MB, Barci BM, Webster MJ et al, 2003. Molecular abnormalities of the hippocampus in severe psychiatric illness: postmortem abnormalities of the hippocampus in severe psychiatric illness. *Mol Psychiatry*;6:6.
12. Sanacora G, Mason GF, Rothman DL et al., 2002. Increased occipital cortex GABA concentrations in depressed patients after therapy with selective serotonin reuptake inhibitors. *Am J Psychiatry*;159:663-665.
13. Sanacora G, Mason GF, Rothman DL et al., 2003. Increased cortical GABA concentrations in depressed patients receiving ECT. *Am J Psychiatry*;160:577-579.

14. Paul IA, Skolnick P. Glutamate and depression: clinical and preclinical studies. *Ann N Y Acad Sci*, 2003, 1003:250-272.
15. Sanacora G, Gueorguieva R, Epperson CN et al., 2004. Subtype-specific alteration of gamma-aminobutyric acid and glutamate in patients with major depression. *Arch Gen Psychiatry*;61:705-713.
16. Sapolsky RM. The possibility of neurotoxicity in the hippocampus in major depression:a primer on neuron death. *Biol Psychiatry*, 2000 ;48:755–765
17. Li X, Witkin JM, Need AB et al. Enhancement of antidepressant potency by a potentiator of AMPA receptors. *Cell Mol Neurobiol*, 2003; 23:419-430.
18. Berrettini WH, Rubenow DR, Nurnberger JI et al. CSF substance P immunoreactivity in affective disorders. *Biol Psychiatry*; 1985, 20:965-970.
19. Bondy B, Baghai TC, Minov C et al. Substance P serum levels are increased in major depression : preliminary results. *Biol Psychiatry*; 2003, 53:538-542.
20. Martinotti G et al. Anhedonia and major depression: the role of agomelatine. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2012;22 Suppl 3:S505-10.
21. Yekta Dowlati et al, A Meta-Analysis of Cytokines in Major Depression, www.sobp.org/journal, 2012
22. Bjelland, I et al. (2002). "The validity of the Hospital Anxiety and Depression Scale. An updated literature review". *Journal of Psychosomatic Research* 52 (2): 69–77. doi:10.1016/s0022-3999(01)00296-3. PMID 11832252.
23. American Psychiatric Association (APA). (1994). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (4th ed.)*. Washington, DC: American Psychiatric Association.
24. World Health Organization. The global burden of disease: 2004 update. 2004 http://www.who.int/entity/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004update_full.pdf
25. World Health Organization. The global burden of disease: 2009 update. http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GlobalHealthRisks_report_full.pdf
26. Murray CJL, Lopez AD, editors. *The Global Burden of Disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries, and risk factors in 1990 and projected to 2020*. Cambridge (Massachusetts): Harvard School of Public Health on behalf of the World Health Organization & the World Bank, 1996.

27. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading Spijker J, Graaf R, Bijl RV, Beekman AT, Ormel J, Nolen WA: Functional disability and depression in the general population. Results from the Netherlands Mental Health Survey and Incidence Study (NEMESIS). *Acta Psychiatr Scand* 2004, 110(3):208-214.
28. *DSM-IV-TR*. (2003). București: Asociația Psihiatrilor Liberi din România.
29. WHO ICD 10 last acces in September 2016 (2016 10th edition revised version app) <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/en#/F30-F39>
30. Chiriță V., Papari. A., Roxana Chiriță (2009). *Tratat de Psihiatrie, vol.1*. Constanța: Ed. Fundației „Andrei Șaguna”.
31. Kaplan&Sadoc, *Terapie medicamentoasă în psihiatrie*, Editura Calisto 2005, ISBN: 973-98612-6-1.
32. Duval et al, *Treatments in depression. Dialogues in Clinical Neuroscience* 2006 - Vol 8. No. 2.
33. Tudose F et al, *Particularitati farmacologice ale tratamentului depresiei la varstnici*, *Revista Romana de Psihiarie*, 2002, <http://www.romjpsychiat.ro/article/particularit-ti-farmacologice-ale-tratamentului-depresiei-la-v-rstnici>
34. Möller et al. *The World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) Guidelines for the Biological Treatment of Bipolar Disorders, Part I: Treatment of Depression*, 2003
35. Kupfer et al, *The pharmacological management of depression -- Dialogues in Clinical Neuroscience - Vol 7. No. 3*. 2005
36. Fava M. and Davidson K.G. *Psychiatr Clin North Am*. 1996; 19:179-200
37. Gaynes B. *J Clin Psychiatry*. 2009;70(S6):10-15
38. Souery D. et al. *Eur. Neuro Psychopharmacol* 1999; 9: 83-91, Souery D. et al. *J Clin Psychiatry* 2007; 68: 1062-1070
39. HU Wittchen et al., *The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010*, *European NeuroPsychopharmacology* 2011;21: 655-679
40. Rush JA et al., *Handbook of Psychiatric Measures*, 2000 American Psychiatric Association, 113-115.
41. *Guide to assessment scales in major depressive disorder, traducere în limba română*, Traian Purnichi, Editor: FarmaMedia, ISBN 978-606-8215-49-5

42. Hamilton M. A rating scale for depression, *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1960 Feb; 23:56-62.
43. Zigmond, AS; Snaith, RP (1983). "The hospital anxiety and depression scale". *Acta Psychiatrica Scandinavica* 67 (6): 361–370. doi:10.1111/j.1600-0447.1983.tb09716.x. PMID 6880820
44. Beck A.T. (1973). *The diagnosis and management of Depression*. Philadelphia : Univ Pennsylvania Press.
45. Wurz-Justice, *Int Clin Psychopharmacol* 2006; Turek, *Int Clin Psychopharmacol* 2007; McClung, *Pharmacol Ther* 2007
46. Racagni G, Riva M.A., Molteni R., Musazzi L. et al. Mode of action of agomelatine: Synergy between melatonergic and 5-HT 2C receptors. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 2011.
47. Murray G. – *Affect Disord.*2007; 102:47-53.
48. Preliceanu D, *Psihiatrie Clinică*, Editura Medicală 2013, ISBN 978-973-39-0719-0, 39-699.
49. Ustun TB, Ayuso-Mateos JL, Chatterji S, Mathers C, Murray CJ: Global burden of depressive disorders in the year 2000. *Br J Psychiatry* 2004, 184:386-392.
50. Halaris A, Leonard B E, *Inflammation in Psychiatry*, Vol 28-Modern trends in Pharmacopsychiatry, Karger, 2013; 1-48.
51. Wilson EH et al, Trafficking of immune cells in the CNS, *J Clin Invest*, 2010; 120:1368-1379.
52. Greenwood J et al, Lymphocyte adhesion factor and transendotelial migration in the CNS: role of LFA-1, ICAM-1, VLA-4, and VCAM-1, *Immunology* 1995, 86:408-415.
53. Tremblay ME et al, The role of mycroglia in healthy brain, *J Neurosci*, 2011;31: 16067-16069.
54. Rivest S et al, Regulation of inates immune response in the brain. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 429-439.
55. Henry CJ et al, LPS challange promotes mycroglial hyperactivity in aged mice that is associated with exaggerated induction of both pro-inflammatoru IL1 and anti inflammatory IL-10 cytokines, *Brain Behav Immune* 2010; 23:309-317.
56. Godbout JP et al, Ageing exacerbates depressive-like behavoiur in mice in responce to activation of the peripheral immune system, *Neuropsychopharmacology* 2008;33:2341-2351.

57. Bechter K et al, Cerebrospinal fluid analysis in affective and schizophrenic spectrum disorders, *J Psychiatres Res*, 2010; 44:321-330.
58. Chen SK, Hematopetical origin of phatological grooming in HOxB mutant mice, *Cell* 2010; 141:1651-1658.
59. Parker LC et al, Il-1 signaling in glial cells in wildtype and IL-1 R1 deficit mice, *Br J Pharmacol* 2002;136:312-320.
60. Lawrence T et al, The nuclear factor- $\kappa\beta$ pathways and inflammation, *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2009;1: a001651.
61. Ericsson A et al, Evidence of an intramedullary prostaglandin dependent mechanism in the activation of a stress related neuroendocrine circuitry by intravenous IL-1, *J Neurosci* 2009;17:7166-7179.
62. Serrats J et al, Dual role of perivascular macrophages in immune to brain signaling, *Neuron* 2010;65:94-106.
63. El Khourny et al, CCR2 deficiency impair mycroglia acumulation and accelerates progression of Alzheimer-like disease, *Nat Med* 2007; 13:432-438.
64. Myint Am et al, Cytokine-serotonine intertaction throught IDO : neurodegeneration hypotesis of depression, *Med Hypoth* 2003;61:519-525.
65. Stone TW et al, Endogenius kynurenines as target for drug discovery and development, *Nat Rev Drug Discov* 2002;1:606-620.
66. APA 2015, DSM V, <http://www.dsm5.org/Pages/Default.aspx>
67. Greenberg PE, Kessler RC, Birnbaum HG, et al. The economic burden of depression in the U.S.: how did it change between 1990 and 2000? *J Clin Psychiatry* 2003;64(12):1465–75.
68. Osby U, Brandt L, Correia N, Ekblom A, Sparen P. Excess mortality in bipolar and unipolar disorder in Sweden. *Arch Gen Psychiatry*. 2001;58: 844–850.
69. Bostwick JM, Pankratz VS. Affective disorders and suicide risk: a reexamination. *Am J Psychiatry*. 2000; 157:1925–1932.
70. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: American Psychiatry Association Press, Washington D.C. Text revision, 2000.
71. Moret C, Briley M. The importance of norepinephrine in depression, *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2011; 7(Suppl 1): 9–13.

72. Egede Leonard and Charles Ellis, Diabetes and depression: Global perspectives, diabetes research and clinical practice 87 (2010) 302–312 (<https://www.idf.org/webdata/docs/PIIS0168822710000471.pdf>).
73. Brown LC and al, History of depression increases risk of type 2 diabetes in younger adults. *Diabetes Care*. 2005 May;28(5):1063-7.
74. McIntyre, 2003 <https://www.karger.com/Article/Pdf/365529>
75. Joint KE et al, Depression and cardiovascular disease: mechanisms of interaction. *Biol Psychiatry*. 2003 Aug 1;54(3):248.
76. Schulz R, Ariyo AA et al, Association between depression and mortality in older adults: the Cardiovascular Health Study. *Arch Intern Med*. 2000 Jun 26;160(12):1761-8.
77. Ko TD et al, beta-blocker therapy and symptoms of depression, fatigue, and sexual dysfunction. *JAMA*. 2002 Jul 17;288(3):351-7.
78. Sorensen S et al, Influences on Loneliness in Older Adults: A Meta-Analysis. *Basics and applied SP*, 2001;23 issue 4.
79. Spiros Furlanos and Peter Greenberg, Managing drug-induced hyponatraemia in adults, *Aust Prescr*: 2003;26:114-7
80. Lichtman JH et al, Depression and coronary heart disease: recommendations for screening, referral, and treatment: a science advisory from the American Heart Association Prevention Committee of the Council on Cardiovascular Nursing, Council on Clinical Cardiology, Council on Epidemiology and Prevention, and Interdisciplinary Council on Quality of Care and Outcomes Research: endorsed by the American Psychiatric Association. *Circulation*. 2008 Oct 21;118(17):1768-75. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.190769. Epub 2008 Sep 29.
81. Angst Joule, The epidemiology of depressive disorders. *Eur Neuropsychopharmacol*. 1995;5 Suppl:95-8.
82. Tomfohr LM et al, Symptoms of depression and impaired endothelial function in healthy adolescent women. *J Behav Med*. 2008 Apr;31(2):137-43. doi: 10.1007/s10865-007-9141-4.
83. Hadjiev D, Asymptomatic ischemic cerebrovascular disorders and neuroprotection with vinpocetine. *Ideggyogy Sz*. 2003 May 20;56(5-6):166-72.
84. Ify Mordi et al, Is reversal of endothelial dysfunction still an attractive target in modern cardiology. *World J Cardiol*. 2014 Aug 26; 6(8): 824–835. published online 2014 Aug 26. doi: 10.4330/wjc.v6.i8.824.

85. Starkstain SE et al , Cognitive impairments and depression in Parkinson's disease: a follow up study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1990 Jul; 53(7): 597–602.
86. Marinscu V, Purnichi T et al, The Major Depressive Disorder or Anxiety Disorders taht associates cardiovascular disese are a major burden for the health system, *Romanian Journal of Psychiatry*, 2015; 2(XVII):198.
87. Paraschiv GL, Purnichi T, Mihalcea D et al, Treatment adherence- independent predictive factor for functionality in major depressive disorder,
88. Prelipceanu D, Marinscu V, Purnichi T et al, Romanian MDD patient profile and general therapeutical approach in 2014, *Romanian Journal of Psychiatry*, 2015; 2(XVII):197
89. Purnichi T, Marinescu V, Mihalcea D et al, Perceived and unperceived costs of the major depressive episode in Romania, *Romanian Journal of Psychiatry*, 2015; 2(XVII):195
90. Howren, M Bryant MA; Lamkin, Donald M. MA; Suls, Jerry PhD, Associations of Depression With C-Reactive Protein, IL-1, and IL-6: A Meta-Analysis. *Psychosomatic Medicine*: February/March 2009 - Volume 71 - Issue 2 - pp 171-186doi: 10.1097/PSY.0b013e3181907c1b
91. Fischbach F, Dunning III MB, A manual of laboratory and diagnostic tests , Ninth Edition, 2015, p379-382; 624-644.
92. Stenvinkel Peter et al,Serum Albumin, C-Reactive Protein, Interleukin 6, and Fetuin A as Predictors of Malnutrition, Cardiovascular Disease, and Mortality in Patients With ESRD. *AJKD* January 2006Volume 47, Issue 1, Pages 139–148.
93. Guidi, Giani Cesare, *Analize de laborator în evaluarea riscului Cardiometabolic* FarmaMedia 2014, ISBN:978-606-8215-26-6.
94. Zigmond AS; Snaith RP (1983). "The hospital anxiety and depression scale". *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 67 (6): 361–370. doi:10.1111/j.1600-0447.1983.tb09716.x. PMID 6880820.
95. Bjelland I; et al. (2002). "The validity of the Hospital Anxiety and Depression Scale. An updated literature review". *Journal of Psychosomatic Research*. 52 (2): 69–77. doi:10.1016/s0022-3999(01)00296-3. PMID 11832252.
96. Badea P., Georgescu D., *Introducere in biostatistica*. Ed. Med. Univ., Craiova, 2003
97. Cleeman JI. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. In *JAMA* 285:2486-97. 2001. Ref Type: Journal (Full).

98. U.S.Department of Health and Human Services. Detection, Evaluation and Treatment of High Cholesterol in Adults. In NIH Pub # 93-3036. 1993. Ref Type: Report.
99. Frances Fischbach. Effects of the Drugs on Laboratory Tests. In A Manual of Laboratory and Diagnostic Tests. Lippincott Williams & Wilkins, USA, 8 ed., 2009, 1232-1233.
100. Henry John Bernard. Evaluation of endocrine function. In Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. ASM Press, USA, 20 Ed., 1998, 310-311.
101. Jacques Wallach. Afectiuni endocrine. In Interpretarea testelor de diagnostic. Editura Stiintelor Medicale, Romania, Ed. 7, 2001; 760-763.
102. Ion Teodorescu Exarcu. Adenohipofiza. In Fiziologia si fiziopatologia sistemului endocrin. Editura Medicala, Romania, Ed. 1989, 216-236.
103. Ion Teodorescu Exarcu. Fiziopatologia tirostimulinei. In Fiziologia si fiziopatologia sistemului endocrin. Editura Medicala, Romania, Ed. 1989; 311-314.
104. Hantgan R, Lord S, „Fibrinogen Structure and Physiology”, Hemostasis and Thrombosis. Basic Principles and Clinical Practice, Colman R, Marder V, Clowes A, George J, Goldheber S, 5th Ed, Lippincott Williams & Wilkins, 2006, 306-7
105. Dati F, Wagner C. „Hemostasis”, Lothar Thomas' Clinical Laboratory Diagnostics, 1st ed, Frankfurt, Germany, 1998, 609-612.
106. Fischbach F, Dunning III M. Blood Studies: Hematology and Coagulation. In A Manual of Laboratory and Diagnostic Tests, Philadelphia, 8 Ed, 2009, 110-111, 1237.
107. Thomas L. Tests for the Diagnosis of Inflammation. In Clinical Laboratory Diagnostics, First Edition, Frankfurt/Main, 1998, 698-699
108. Chernecky CC, Berger JB. Laboratory Tests and Diagnostic Procedures. Sixth Edition, 2013. Elsevier Saunders.
109. Yungshen Ma et al, Association between depression and CRP. Cardiology Research and Practice, Vol 2011. Article ip 286509. DOI: 10.4061/2011/286509
110. Julie A. Pasco et al, Association of the hs-CRp with the de -novo major depression. BJ Psych, 2010; 197:72-377. DOI: 10.1192/bjp.bp.109. 076430
111. Annerose Barros et al, Depression, quality of life and body composition in patients with end stage renal disease: a cohort study; Revista Brasileira de Psiquiatria: 2008, 38: 301-306. DOI: 10.1590/1516-4446-2015-1681
112. Marianne Lafitte et al, HS-CRP, fibrinogen levels and the on set of major depressive episode in post-acute coronary syndrome; BMC Cardiovascular Disease, 2015;15:23. DOI: 10.1186/s12872-015-0015-3

113. Andreea Danse et al, Elevated inflammation levels in depressed adults with a history of childhood maltreatment; Arch Gen Psychiatry; 2008, Vol 65(4):409-416
114. Mohammad Taraz et al, Relationship between a pro- and anti- inflammatory cytokine; Netw, 2012, vol 23, no 4:179-182
115. Yasuki Hayashino et al, Elevated levels of hs-CRP are associated with high prevalence of depression in Japanese patients with type two diabetes; Diabetes Care, 2014, 37:2459-2465. DOI: 10.2337/dc13-2312
116. Heikki Luukinen et al, The relationship between hs-CRP and incidence of depressed mood among older adults; Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation; 2010, 70:75-79.
117. Marion L. Valter et al, Gender differences in relationship between symptoms of depression and hs-CRP; Int J Obes, 2013, Aug, 37(01): 38-43. DOI: 10.1038/ijo.2013.95
118. Marie Kim Wium et al, Elevated CRP levels, psychological distress and depression in 73131 individuals; JAMA Psychiatry, vol 70(2), feb 2013: 176-184
119. Rui-rui Yang et al, The relationship between hs-CRP at admission and post stroke depression: a 6 months follow-up study; Geriatric Psychiatry Int Journal, 2016, 31: 231-239. DOI: 10.1002/gps.4315
120. Daniela Zahn et al, New pathways of increased cardiovascular risk in depression: A pilot study on the association of hs-CRP with pro atherosclerotic markers in patients with depression; Journal of Affective Disorders, 2013, 146: 420-425.
121. Daniela Zahn et al, HS-CRP predicts improvement in depression of type one diabetes patients and depression undergoing depression treatment: Results from DAD study; Diabetes Care, 2016, e1-e3, DOI: 10.2337/dc16-0710
122. Traian Purnichi , Ileana Marinescu et al, Cardiovascular comorbidities in affective disorders, Current Health Science Journal, 2016, vol 42 (supp 1):44-47.
123. Traian Purnichi , Ileana Marinescu et al, Clinical comparison between unipolar depression and bipolar depression, Current Health Science Journal, 2016, vol 42 (supp 1):47-50.
124. Matei VP, Mihaescu A, Purnichi Traian, Weight gain and antipsychotics, 2016, Vol 12, issue 2: 177-184. DOI: 10.4183/aeb.2016:177.
125. Traian Purnichi, Ruxandra Grigoraș, Ileana Marinescu et al, Implicațiile proceselor inflamatorii în episodul depresiv major; Romanian Journal of Psychiatry, 2017, vol XIX no1: 7-13.

126. Traian Purnichi, Ileana Marinescu, M C Pârlog et al, Proteina C reactivă un biomarker posibil in episodul depresiv major; Romanian Journal of Psychiatry, 2017, vol XIX no1: 22-26.
127. Ileana Marinescu, Ion Udriștoiu, Neurobiological aspects of depressive disorder at women, Romanian Journal of Psychopharmacology, 2011, 11:118-123.
128. Ion Udriștoiu, Ileana Marinescu, An updated approach of the vascular factor in depression, Romanian Journal of Psychopharmacology, 2010, 10:195-203.
129. Anca Chiriță, Andreea Paraliiov, Oana Panait, Affective disorders in endocrine phatology, Romanian Journal of Psychopharmacology, 2010, 10:173-181.
130. Florin Dan Popescu, Ion Udristoiu et al, Genetic predidposition of the severe cutaneous adverse drug reactions induced by anticonvulsivants used as mood stabilizers, Romanian Journal of Psychopharmacology, 2010, 10:164-172.
131. Tim Hahn et al, Integrating Neurobiological Markers of depression, Arch Gen Psych, 2011,vol 68 (4): 361-368.
132. Yekta Dowlati et al, A meta-Analuisis of cytokines in Major Depression, Biol Psychiatry, 2009, 67:446-457. DOI: 10.1016/j.biopsych.2009.09.033
133. Michael Maes, Depression is an inflammatory disease, but cell-mediated immune activation is the key component of depression, Progress in Neuro-Psychopharmacology& BiologicalPsychiatry, 2011, 35:664-675. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2010,06.014