

*Uniwersytet Medyczny w Łodzi*

*Wydział Lekarski*

**Ewa Gromniak – Haniecka**

**Neuroplastyczność a zaburzenia depresyjne.**

**Znaczenie genów: ELAVL4, REST, HOMER, MKL1 i MKL2.**

Praca na stopień  
doktora nauk medycznych

Promotor:

**Prof. dr hab. n. med. Piotr Galecki**

Łódź, 2022

## I. STRESZCZENIE

Zaburzenia depresyjne należą do jednych z najpoważniejszych chorób psychicznych, o heterogennym modelu dziedziczenia i zwiększającym się corocznie odsetku zachorowań. Etiologia zaburzeń depresyjnych wciąż pozostaje nie do końca poznana, przyjmuje się, iż jest uwarunkowana wieloczynnikowo. Nadal prowadzone są badania identyfikujące wpływ ekspresji różnych genów na powstawanie i rozwój zaburzeń depresyjnych. Coraz częściej podnosi się rolę zjawiska neuroplastyczności w zaburzeniach depresyjnych. Wciąż badany jest wpływ czynników genetycznych na rozwój mózgu, różnicowanie neuronów i na ich związek z depresją.

Celem podjętej pracy badawczej jest ocena ekspresji na poziomie mRNA i na poziomie białka dla genów ELAVL4, HOMER, REST, MKL1, MKL2 w grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi, grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi ze współchorobowością i w grupie osób zdrowych. Kolejnym celem jest ocena związku między ekspresją na poziomie mRNA i na poziomie białka dla genów ELAVL4, HOMER, REST, MKL1, MKL2 a zmiennymi klinicznymi i socjodemograficznymi w tych samych grupach osób.

W badaniu wzięły udział 184 osoby, w tym w grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi 68 osób, w grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi ze współchorobowością 67 osób. Osoby zakwalifikowane do grup z zaburzeniami depresyjnymi spełniały kryteria diagnostyczne według obowiązującej klasyfikacji zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania ICD-10 dla epizodu depresyjnego, zaburzeń depresyjnych nawracających lub organicznych zaburzeń depresyjnych. Grupę kontrolną stanowiło 49 osób z negatywnym wywiadem w kierunku epizodu depresyjnego, zaburzeń depresyjnych nawracających, organicznych zaburzeń nastroju czy innych chorób psychicznych.

U wszystkich osób w dniu włączenia do badania przeprowadzono ankietę służącą uzyskaniu danych demograficznych a dodatkowo u osób z zaburzeniami depresyjnymi zebrano informacje dotyczące przebiegu choroby i jej leczenia. W grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi przeprowadzono ocenę nasilenia objawów depresyjnych za pomocą 17 punktowej Skali Depresji Hamiltona dwukrotnie: w dniu włączenia do badania i w dniu zakończenia badania, po uzyskaniu odpowiedzi na leczenie. Kryterium wykluczającym z badania u wszystkich osób biorących udział w badaniu było rozpoznanie choroby nowotworowej, poważnej choroby neurologicznej lub przewlekłej choroby

o podłożu zapalnym. U wszystkich osób z zaburzeniami depresyjnymi pobrano krew dwukrotnie: w dniu włączenia do badania i w dniu zakończenia badania, natomiast w grupie osób zdrowych jednokrotnie, celem oceny ekspresji na poziomie białka i na poziomie mRNA badanych genów. Substratem w badaniu była pełna krew, z której wyizolowano całkowite RNA. Następnie dokonano analizy jakościowej wyizolowanego RNA, przeprowadzono reakcję Real-Time PCR, dokonano obliczenia względnej ekspresji badanych genów. Do oznaczenia stężenia białek ELAVL4, REST, HOMER, ML1, MKL2 wykorzystano test immunoenzymatyczny ELISA.

W celu pomiaru istotności statystycznej pomiędzy badanymi grupami wykonano analizę statystyczną przy użyciu nieparametrycznego testu U Manna – Whitneya oraz Anova rang Kruskala-Wallisa i test Dunna. Analizę statystyczną badanych cech zmiennych, niemierzalnych wykonano w oparciu o nieparametryczny test  $\chi^2$  Pearsona. W pracy ze względu na rozkład i charakter badanych cech zastosowano współczynnik korelacji kolejnościowej rang Spearmana. Za najniższy poziom istotności statystycznej przyjęto  $p < 0,05$ .

W przeprowadzonym badaniu uzyskano istotne statystycznie różnice ekspresji badanych genów wśród osób z zaburzeniami depresyjnymi w obu grupach w porównaniu do osób zdrowych. Analiza statystyczna wykazała dodatnią korelację dla genu HOMER i wieku oraz istotny statystycznie wpływ na ekspresję genu MKL1 na poziomie białka w grupie osób zdrowych dla struktury płci.

## II. SUMMARY

Depressive disorders belong to one of the most serious mental illnesses with a heterogeneous pattern of inheritance and an annually increasing incidence rate. The etiology of depressive disorders still remains incompletely understood, it is assumed to be multifactorially determined. There is still research to be done identifying the influence of the expression of various genes on the onset and development of depressive disorders. More and more, the role of the phenomenon of neuroplasticity in depressive disorders is being raised. The influence of genetic factors on brain development, neuronal differentiation and their relation to depression is still under investigation.

The purpose of the undertaken study is to evaluate the expression at mRNA and protein level of ELAVL4, HOMER, REST, MKL1, MKL2 genes in a group of people with depressive disorders, a group of people with depressive disorders with comorbidity and a group of healthy people. The next objective is to evaluate the relationship between mRNA level and protein level expression for ELAVL4, HOMER, REST, MKL1, MKL2 genes and clinical and sociodemographic variables in the same groups of individuals.

In the study participated 184 people, including 68 people in the group of depressive disorders and 67 people in the group of depressive disorders with comorbidity. Individuals classified into the groups with depressive disorders met the diagnostic criteria according to the current ICD-10 classification of mental and behavioural disorders for a depressive episode, recurrent depressive disorders or organic depressive disorders. The control group consisted of 49 individuals with a negative history of depressive episode, recurrent depressive disorder, organic mood disorder or other mental illnesses.

In all the individuals, a questionnaire was conducted on the day of inclusion in the study which was used to obtain demographic data and, in addition, in the individuals with depressive disorders, information was collected on the course of the disease and its treatment. In the group of individuals with depressive disorders, the assessment of the severity of depressive symptoms using the 17-item Hamilton Depression Rating Scale was conducted twice: on the day of inclusion in the study and on the day of completion of the study, after obtaining a response to the treatment. The criterion for exclusion from the study for all the individuals was a diagnosis of cancer, serious neurological disease or chronic inflammatory disease. In all the individuals with depressive disorders, blood was taken twice: on the day of inclusion in the study and on the day of completion of the study, while in the group

of healthy individuals, blood was taken once to assess the expression at protein level and at mRNA level of the genes studied. The substrate in the study was whole blood from which total RNA was isolated. Then, the qualitative analysis of the isolated RNA was conducted, the Real-Time PCR reaction was conducted, and the relative expression of the studied genes was calculated. The immunoenzymatic ELISA test was used to determine the concentration of ELAVL4, REST, HOMER, ML1, MKL2 proteins.

In order to measure the statistical significance between the studied groups, the statistical analysis was carried out with the use of the non-parametric Mann-Whitney U test and the Kruskal-Wallis rank Anova and Dunn's test. The statistical analysis of non-measurable characteristics was conducted with the use of Pearson's non-parametric Chi<sup>2</sup> test. In this study, due to the distribution and nature of the characteristics studied, the Spearman rank order correlation coefficient was used. The lowest level of statistical significance was assumed to be  $p < 0.05$ .

In the conducted study, the statistically significant differences in the expression of the studied genes were obtained among the individuals with depressive disorders in both the groups compared to healthy individuals. The statistical analysis showed a positive correlation for the Homer gene and age, and a statistically significant effect on the expression of the MKL1 gene at the protein level in the group of healthy individuals for the sex structure.